### Tisztelt Előfizetők és Olvasók!

A 2004 óta negyedévenként megjelenő *Magyar Kémiai Folyóirat* 109.-110. kötettel indult új folyama tízéves jubileumához érkezett, és immár megalapozottan gondolhatjuk, hogy megújulva életképesnek bizonyult a kémiai tudomány hazai művelőinek és kutatási eredményeiknek ez a több, mint százéves múltú egyetlen fóruma.

A szerkesztőségnek továbbra is legfőbb célja a lap szakmai színvonalának fenntartása, sőt lehetőség szerinti növelése, a magyar kémiai szaknyelv folyamatos korszerűsítése és közvetítése a szakmai utánpótlás felé és a magyar nyelven is publikáló, előadó vegyész kollégáink számára, akik a környező országokban más nyelven tanulják és oktatják a kémiát, más nyelvet használnak mindennapi szakmai tevékenységükhöz, illetve más nyelven olvassák a szakirodalmat.

A 118. évfolyam számaiban is folytattuk a megújult lapban elindított sorozatainkat, közöttük az akadémiai székfoglalók közlését. Ez évben Hudecz Ferenc levelező tag előadása látott napvilágot a 118. kötet első számában. Három éve indított rovatunkban, amelyben külföldön élt/élő, s jelentős tudományos eredményeket elért kiváló magyar kémikusok ismertetik szakmai pályafutásukat, legjelentősebb kutatási eredményeiket, Pavláth Attila írását tettük közzé. Megemlékeztünk elhunyt kollegánkról, Kucsmann Árpád professzorról, a hazai elméleti szerves és szintetikus kémiai kutatások és e tudományterületek egyetemi oktatásának az elmúlt évtizedekben egyik legkiválóbb szaktekintélyéről. Folytattuk a kiemelkedő hazai kutatóműhelyek eredményeit bemutató sorozatunkat, s ebben az évben a budapesti Eötvös Loránd Tudományegyetem Kémiai Intézete és doktori iskolája adott áttekintést fontosabb tudományos eredményeiről a 2012/2-4 lapszámokban. A kiadvány vendégszerkesztője Turányi Tamás professzor, akinek közreműködéséért e helyen is köszönetet mondunk.

Mint az elmúlt években is, szeretnék köszönetet mondani a benyújtott kéziratokat elbíráló valamennyi kollegánknak önzetlen és felelősségteljes munkájáért, felsorolva a 118. évfolyamban közzétett dolgozatok lektorait:

Batta Gyula, Bazsa György, Csámpai Antal, Csonka Gábor, Czugler Mátyás, Dura Gyula, Fekete Jenő, Felinger Attila, Fülöp Ferenc, Galbács Gábor, Jedlovszky Pál, Kállai Tamás, Kardos Júlia, Keresztúri Gábor, Kotschy András, Kovács Attila, Kövér Katalin, Kőműves József, Kubinyi Miklós, Kurtán Tibor, Lendvay György, Lengyel Béla, Lente Gábor, Márki Edit, Marton Aurél, Nemes László, Noszticzius Zoltán, Notheisz Ferenc, Nyulászi László, Pajkossy Tamás, Patonay Tamás, Penke Botond, Pusztay László, Sinkó Katalin, Szalay Viktor, Veszprémi Tamás, Vidóczy Tamás, Wölfling János.

A szerkesztőség nevében köszönöm a Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Tudományok Osztálya anyagi támogatását, a közlemények szerzőinek és a lap előfizetőinek a *Magyar Kémiai Folyóirat* iránti bizalmukat és elkötelezettségüket. Kiemelten köszönöm a külföldi magyar pályatársaink számára kettős előfizetést vállaló, sajnos alig néhány kollegáink áldozatkészségét. Kérem és buzdítom valamennyi magyar kémikust, hogy vállaljanak kettős előfizetést annak érdekében, hogy minél több határainkon kívül a kémia területén tevékenykedő magyar kutatóhoz, magyarul kémiát tanító és tanuló honfitársunkhoz eljuthassanak a lap számai.

Sohár Pál főszerkesztő

### Előszó

Az ELTE TTK Kémiai Intézet megjelenése az Magyar Kémiai Folyóirat jelenlegi különszámában számunkra nagy megtiszteltetés. Bár tevékenységünk nemzetközileg is ismert és elismert, a hazai szakmai közösség számára való ezen "üzenet" azt jelképezi, hogy Intézetünkben jelentős számú elkötelezett kutató és oktató dolgozik azzal az elszántsággal és meggyőződéssel, hogy hazai forrásokból, hazai infrastruktúra mellett is lehet és érdemes tudományos kutatásokat folytatni.

Az Intézet bár kutatóhely is, egy oktatási intézmény része vagyunk, így munkatársaink elsöprő többsége ideje jelentős részét áldozza oktatási feladatok ellátására. Ez szerencsére, amilyen mértékben néha visszahúzó erő az erre szánt idő és energia miatt, ugyanúgy megtermékenyítő és inspiratív is lehet, hiszen különösen a kutatásban a fiatal kollegák frissessége, lelkesedése, ambíciója meghatározó lehet egy-egy jelentős tudományos eredmény megszületésében.

Az általunk gondozott szakok: kémia alapszak, vegyész mesterszak, tanári mesterszak kémia modul, osztatlan kémiatanári szak (2013. szeptemberében indul). Más intézetekkel vagy egységekkel közösen meghirdetett szakok: környezettan alapszak, környezettudomány mesterszak, anyagtudomány mesterszak, tudománykommunikáció a természettudományban mesterszak. Jelentős hozzájárulásunk van szerződéses alapon a SE gyógyszerészoktatásához.

Az oktatási és kutatási feladatok leginkább a doktori képzésben fednek át. 1993-ban alakult meg az ELTE Kémiai Doktori Iskola, amely PhD tudományos fokozat adományozására kapott jogosultságot. Az Iskola programja három alprogramra oszlik: 1. Szintetikus kémia, anyagtudomány, biomolekuláris kémia, 2. Elméleti és fizikai kémia, anyagszerkezeti kutatás, valamint 3. Analitikai, kolloid- és környezetkémia, elektrokémia.

Intézetünk szerkezete viszonylag egyedi abban az értelemben, hogy az erős kutatásorientált jelleget az intézetvezetés alá közvetlenül rendelt kutatólaboratóriumok hálózata fejezi ki. Az oktatás szervezését végző tanszéki szerkezet ezzel párhuzamosan létezik, bár e szerkezet erősebb abban az értelemben, hogy a tanszékek (ún. intézeti tanszékek) tényleges szervezeti egységek.

Az Intézet kialakulásának csírái akkor jelentek meg először, amikor 1983-ban hat – még jelentős önállósággal rendelkező – kémiai tanszék, három laboratórium és két MTA-ELTE tanszéki kutatócsoport egy laza szervezetté, a Kémiai Tanszékcsoporttá egyesült. A Lágymányosra való költözés 1990-ben – ami egyetlen épület közös infrastruktúrájának birtokba vételét jelentette – szinte kínálta a további integrációt és 2006-ban meg is alakult a Kémiai Intézet, amelynek első igazgatója Szalay Péter lett, majd őt követte Surján Péter.

Az ELTE a közelmúltban elnyerte a kutatóegyetemi címet, ami részben annak is köszönhető, hogy a TTK Kémiai Intézet a hazai kémiai kutatások egyik legjelentősebb centruma. Az Intézet valamennyi hazai kémiai kutatóintézettel, továbbá több mint 400 külföldi kutatóhellyel tart fent kapcsolatot. Szoros együttműködést építettünk ki a hazai vegyipari vállalatokkal és részt veszünk ipari kutatásokban és fejlesztésekben is. Munkatársaink és hallgatóink kutatómunkája kiterjed a kémia és a kémiához kapcsolódó valamennyi területre. Fontos alap és alkalmazott kémiai kutatások folynak az analitikai-, bio-, elméleti-, fizikai-, mag-, szervetlen-, és szerves kémia, valamint a molekulaszerkezetvizsgálat és anyagtudomány területén. Hogy mi-mindennel foglalkozunk, leginkább az említett kutatólaboratóriumok felsorolása tükrözi:

- Elektrokémiai és Elektroanalitikai Laboratórium (EEL)
- Elméleti Kémiai Laboratórium (EKL)
- Elválasztástechnikai Kutató és Oktató Laboratórium (EKOL)
- Fémorganikus és Instabil Vegyületek Laboratóriuma (FIVL)
- Határfelületek és Nanorendszerek Laboratóriuma (HNL)
- Kémiai Informatikai Laboratórium (KIL)
- Kiroptikai Szerkezetvizsgáló Laboratórium (KSZL)
- Magkémiai Laboratórium (MKL)
- Molekulaszerkezet és Dinamika Laboratórium (MSzDL)
- Molekulaspektroszkópiai Laboratórium (MSL)
- Nemlineáris Kémiai Dinamika Laboratórium (NKDL)
- Reakciókinetikai Laboratórium (RKL)
- Szerves Szintézisek Laboratórium (SzSzL)

A fentiek mellett szintén laboratóriumként működik a következő két MTA-kutatócsoport:

- MTA-ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoport
- MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport.

A laboratóriumok tevékenységének felsorolása helyett illusztrálják azt az elkövetkező cikkek!

Budapest, 2012. december 15.

Homonnay Zoltán intézetigazgató

45

# A "nemlineáris kémiai dinamikai jelenségek" kutatása az ELTE Analitikai Kémiai Tanszékén

### CSÖRGEINÉ KURIN Krisztina, SZALAI István és ORBÁN Miklós\*

TE, TTK, Kémiai Intézet, Analitikai Kémiai Tanszék, Pázmány Péter sétány 1/A, 1117 Budapest, Magyarország

### Bevezetés

A "nemlineáris kémiai dinamika" témakörében az ELTE Kémiai Intézet Analitikai Kémiai Tanszékén (korábban Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék) 1971 óta folyik kutatómunka, amelynek fő célja a kémiai rendszerekben – bizonyos feltételek teljesülésekor – fellépő különleges dinamikai viselkedési formák, az időben és térben megvalósuló koncentráció eloszlás (az oszcilláló kémiai reakciók és mintázatképződés), valamint kapcsolt jelenségek (multistabilitás, gerjeszthetőség, kémiai káosz) tanulmányozása, a jelenségek kialakulását eredményező feltételek tisztázása, a jelenségek laboratóriumi előállítása, kémiai hátterük (mechanizmusuk) feltárása és számítógépes szimulációja.

Kutatásaink motivációja az a várakozás, ill. feltételezés, hogy az anyagi világ valamennyi szerveződési szintjén megjelenő időben és térben periodikus jelenségekről molekuláris szinten, azaz kémiai rendszerekben nyerhető egzakt összefüggések, szabályok, törvényszerűségek felhasználhatók az élő és élettelen természetben gyakran megnyilvánuló – sokkal bonyolultabb – ritmikus jelenségek és önszerveződések eredetének és mechanizmusának értelmezésében.

Kutatási témánk Tanszékünkön történt bevezetése Kőrös Endre professzor nevéhez fűződik, aki amerikai tanulmányútja során (Eugene, 1971), R.M. Noyes és R.J. Field társaságában dolgozva megismerte és tanulmányozta a csak rövid idővel korábban A.M. Zhabotinsky által kísérleti és elméleti vonatkozásban is jelentősen továbbfejlesztett Belousov-féle oszcilláló kémiai reakciót.<sup>1</sup> A Field-Kőrös-Noyes által 1972-ben javasolt, a Belousov-Zhabotinskyreakció (BZ-reakció) mechanizmusát (FKN mechanizmus) leíró közleményt a "citation classic" cikkek sorában tartják számon.<sup>2</sup>

Az oszcilláló kémiai reakciók területén végzett korai munkáink a BZ-reakció kémiai részleteinek pontosabb megismerésére, továbbá az oszcillációt követő hőváltozások meghatározására irányult. Analitikai és kalorimetriás módszerekkel megmértük az egy oszcillációs ciklus alatt bekövetkezett anyagátalakulásokat és az azt kísérő hőmennyiség változásokat. Figyelmet keltett az a kísérletünk, amelyben kimértük, hogy a BZ-reakcióban a hőmérséklet periódusonként lépcsőzetesen emelkedik, azaz a hőmérséklet nem oszcillál, a hőmérséklet időbeni változásának sebessége periodikus.<sup>3</sup>

A "Nemlineáris kémiai dinamika laboratórium" (NKDL) mai kutatási profilja már az 1970-es évek végén kialakult.

Az azóta eltelt időszakban a nemlineáris kémiai dinamika alábbi 3 részterületén végeztünk kutatómunkát és értünk el nemzetközileg is elismert eredményeket: 1. Időben periodikus, vagy oszcilláló kémiai reakciók előállítása; 2. Az általunk előállított oszcilláló kémiai rendszerek mechanisztikus tanulmányozása; 3. Térben periodikus dinamikai szerkezetek (kémiai hullámok) és stacionárius struktúrák (Turing-szerkezetek) előállítása. Közleményünkben legfontosabb munkáinkat és eredményeinket foglaljuk össze.

# 1. Időben periodikus (oszcilláló) kémiai reakciók előállítása

Az 1970-es évek végéig csak két - a kémiájukban alapvetően különböző – oszcilláló kémiai reakció, a Brayreakció (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-IO<sub>2</sub><sup>-</sup>rendszer) és a BZ-reakció (BrO<sub>2</sub><sup>-</sup>-malon sav-katalizátor) volt ismert. A nemlineáris kémiai dinamikai jelenségek kémiai hátterének és a rendszerek viselkedési formáinak tanulmányozására kizárólag a BZ-reakció szolgált. Különböző laboratóriumok az egyik legfontosabb célként tűzték ki új oszcilláló kémiai rendszerek előállítását. Érdekes fejlemény volt egy egyetemi hallgató megfigyelése R.J. Field laboratóriumában (1978), aki a szulfidion és oxigén közötti metilénkék által katalizált reakcióban színoszcillációt észlelt. Az oxigén-kén-metilénkék (O<sub>2</sub>-S<sup>2-</sup>-Mblue) oszcillátor kísérleti jellemzésében és későbbi leírásában kutatócsoportunk egyik tagjának (Burger M.) jelentős szerepe volt.4

Az új oszcilláló kémiai rendszerek keresésére irányuló kísérleteink 1978-ban kezdődtek. A témakörben elért sikereinket mutatja az a tény, hogy az 1978-tól napjainkig tartó időszakban felfedezett és előállított oszcilláló kémiai reakciók – 8 oszcillátor család, ezekben számtalan variáns – túlnyomó többsége a budapesti laboratóriumban és kooperációs partnerünk I.R. Epstein (Brandeis University, Waltham, MA, USA) csoportjában NSF–MTA projektek keretében dolgozó ösztöndíjas magyar kutatók munkájának eredménye. Az új rendszereket – felfedezésük időbeni sorrendjében – az alábbiakban mutatjuk be.

# 1.1. "Nem-katalizált" bromát oszcillátorok és új katalizált rendszerek

BZ-reakció alatt a malonsav bromáttal, katalizátor ( $Ce^{4+}$ ,  $Mn^{2+}$ , ferroin) jelenlétében történő oxidációját értjük, amelyben a komponensek elegyítése után, zárt rendszerben, különböző köztitermékek koncentrációja ill. az ezekkel kapcsolatos válaszjelek (pl. az oldat színe, a bromidszelektív elektród és a Pt elektród potenciálja) időben

<sup>\*</sup>Tel.: +36-1-3722542 ; fax: +36-1-3722592; e-mail: orbanm@chem.elte.hu

sorozatos minimum és maximum értéket vesznek fel, azaz oszcillálnak. Az már Zhabotinsky munkájából, de még pontosabban az FKN mechanizmus alapján ismert volt, hogy az oszcillációs viselkedésért elsősorban a bromátion kémiája felelős. Malonsavval történő redukciója tartalmazza mind a pozitív (a HBrO<sub>2</sub> autokatalitikus keletkezése), mind a késleltetett negatív (Br<sup>-</sup> inhibitor keletkezése) visszacsatolást, amely a BrO<sub>3</sub><sup>-</sup> és malonsav között lejátszódó bruttó folyamat részreakcióinak optimális sebessége esetén a rendszer oszcilláló viselkedését eredményezi.

1978-ban közöltük azt az eredményünket,<sup>5,6</sup> amely bizonyította, hogy a BZ-oszcillátorban a bromát szerepével korábban egyenrangúnak gondolt malonsav funkcióit számos redukálószer képes ellátni. Ezek többsége – elsősorban a fenol- és anilin-származékok – katalizátor alkalmazása nélkül is oszcillációs kinetikával oxidálhatók savas bromáttal. A katalizátor nélkül is működő bromát oszcillátorokat az idevonatkozó irodalom "UBOrendszerek" (uncatalyzed bromate oscillators) néven tartja nyilván. Eredeti közleményünkben 23 olyan szerves anyagot említünk, amely a malonsav helyettesítésére alkalmas. Az 1. ábrán példaként a BrO<sub>3</sub><sup>–</sup>–fenol reakcióban, zárt rendszerben mért potenciál oszcillációt mutatjuk be.



**1. Ábra.** Redoxipotenciál oszcillációk a BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-fenol rendszerben. Kísérleti körülmények: Pt *vs.* Hg/Hg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> elektród, [KBrO<sub>3</sub>] = 0,025 M, [fenol] = 0,003 M, [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] = 1,0 M, hőmérséklet: 25 °C.

Később szervetlen redukálószerek egész soráról (Sn<sup>2+</sup>, N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, AsO<sub>3</sub><sup>3-</sup>, I<sup>-</sup>...) kimutattuk, hogy a bromáttal történő reakciójuk oszcilláló jellegű, de csak akkor ha a reakció nyílt rendszerben (ún. CSTR-ban\*) és katalizátor jelentétében játszódik le.<sup>7,8</sup> Előállítottuk a bromát oszcillátorok legegyszerűbb változatát, a BrO<sub>3</sub><sup>--</sup>Br<sup>--</sup>katalizátor rendszert is, amely az irodalomban a "minimal bromate oscillator" nevet kapta.<sup>9</sup> Összességében a bromát oszcillátor családot mintegy 40 variánssal bővítettük.

### 1.2. Klorit oszcillátorok

Az első klorit-alapú oszcillátort Epstein professzor ötlete [két, bistabilitást mutató rendszer a  $IO_3^-$ -As $O_3^{3-}$  és  $CIO_2^-$ -I<sup>-</sup> összekapcsolása közös intermedier (I<sub>2</sub>) közvetítésével]

\*A reaktánsok állandó sebességgel történő folyamatos bevezetését, a reakcióelegy intenzív keverését és a termékek elvezetését lehetővé tevő állandó térfogatú és konstans hőmérsékleten tartott reaktor (edény), angolul: continuously stirred tank reactor. alapján a Brandeis Egyetemen állították elő.<sup>10</sup> Az összetételében bonyolult 4-komponensű rendszerben az oszcillációs mag felderítése, a  $CIO_2^{-}-I^{-}$  oszcillátor felfedezése<sup>11</sup> és ez alapján a klorit oszcillátorok családjának létrehozása<sup>12</sup> döntően a magyar kooperációs fél munkája. A kb. 25 variánst számláló csoport több tagja jelentős szerepet játszott a nemlineáris kémiai dinamika fejlődésében. Példaként említhető a  $CIO_2^{-}-I^{-}$  oszcillátor, amelynek mechanizmusát az összes oszcilláló kémiai rendszer közül a legpontosabban sikerült felderíteni,<sup>13</sup> a  $CIO_2^{-}-S_2O_3^{2^-}$ rendszer, amely a kémiai káosz második kísérleti példáját szolgáltatta,<sup>14</sup> vagy a  $CIO_2^{-}-I^{-}$ -malonsav zárt-rendszerű változat, amelyben mind dinamikai (mozgó kémiai hullámok),<sup>15</sup> mind pedig stacionárius (Turing) szerkezetek létrehozhatók.<sup>16</sup>

A klorit oszcillátorok előállításával kapcsolatos tapasztalataink alapján megfogalmazódott a CSTR oszcillátorok szemiempirikus tervezési módszere,<sup>17</sup> amely meghatározó szerepet játszott a későbbi oszcilláló kémiai rendszerek felfedezésében.

### 1.3. Kénvegyületek Cu(II)-katalizált oxidációján alapuló oszcillátorok

Négy oszcillátorunk tartozik ebbe a kategóriába, a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>-Cu<sup>2+</sup>,<sup>18</sup> a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-SCN<sup>-</sup>-Cu<sup>2+</sup>,<sup>19</sup> S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup>-S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>-Cu<sup>2+</sup>,<sup>20</sup> és a  $ClO_2^{-}$ -S<sup>2-</sup>-Cu<sup>2+</sup> <sup>21</sup> reakciók. A Cu(II)ion a kénvegyületek oxidációjának jellegzetes katalizátóra. A katalitikus ciklusban a Cu(II) [esetenként a Cu(III)] oxidálja a kénvegyületet, a keletkező Cu(I)-et a redukálószer átmenetileg stabilizálja, majd az oxidálószer visszaalakítja a kiindulási Cu(II) állapotba. Oszcilláció a két részfolyamat időbeni eltolódása miatt következik be. Érdekesség, hogy a 4 rendszer kémiájában a Cu(II)-katalízisen kívül nincs közös pont: az első rendszerben az oszcilláció hajtóereje a pH-változással járó (+) és (-) visszacsatolás, a másodikban a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> katalizált bomlása játszódik le, a harmadik rendszerben gyökös mechanizmus vezet oszcillációkhoz, a negyedik reakció egy tipikus ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> oszcillátor. A S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> és S<sup>2</sup>-tartalmú rendszerek CSTR oszcillátorok, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-SCN<sup>-</sup>-Cu<sup>2+</sup> zárt rendszerben is működik.

### 1.4. Mangán redoxi reakcióin alapuló oszcilláló rendszerek

A mangánionok kémiáján oldatfázisban megvalósuló oszcilláló rendszerek alapja Mn(IV)-vegyület а autokatalitikus keletkezése, amely a Mn2+ oxidációjával, vagy a MnO<sub>4</sub><sup>-</sup> redukciójával is bekövetkezhet. Oxidálószerként körülmények között oszcillációs viselkedés lép fel, ha az autokatalitikus lépés befejeződése után az oldott Mn(IV) megfelelő sebességgel távozik az oldatfázisból szilárd MnO, formájában. A sebesség szabályozását az oldható MnO(OH), vegyülettel komplexet képező XO4<sup>n-</sup> típusú anionok (IO4, AsO<sup>3-</sup>, PO<sup>3-</sup>, VO<sup>3-</sup>, vO<sup>3-</sup>) rendszerbe juttatásával valósítottuk meg. Előállítottuk a mangán oszcillátor család több mint 20 variánsát,<sup>22</sup> közöttük a minimál változatot, amelynek  $MnO_4^{-}-Mn^{2+}-XO_4^{n-}.^{23}$ összetétele Az oldatfázisban működő mangán oszcillátorok működési mechanizmusától alapvetően különböző, heterogén fázisú oszcilláló rendszereket is előállítottunk. Mn(VII), Mn(IV), vagy

Mn(III) ionok Pt-felületen történő redukciójakor fellépő oszcillátorokról a "Heterogén közegű oszcilláló rendszerek" alcím alatt teszünk említést.

### 1.5. pH oszcillátorok

A ma ismert kémiai oszcillátorok közül a pH oszcillátorok képezik az egyik legfontosabb csoportot. Sok képviselőjük ismert, összetétel szempontjából nagyon változatosak és az oszcillátorok gyakorlati alkalmazása tekintetében is a legígéretesebbek.

A pH oszcillátor H<sup>+</sup>-termelő (ami rendszerint autokatalitikus H<sup>+</sup>-ra) és H<sup>+</sup>-fogyasztó részreakciókból áll. Oszcilláció a pH-ban akkor jelentkezik, ha a két-irányú folyamat időben elkülönülve játszódik le. A pH oszcillátor H<sup>+</sup>-termelő és H<sup>+</sup>fogyasztó reakciói megvalósulhatnak egy oxidálószer és egy redukálószer bruttó reakciójának részeiként (egyszubsztrátos pH oszcillátor), vagy olyan kombinációban, amelyben az oxidálószer két szubsztráttal reagál, az egyikkel H<sup>+</sup>-termelő, a másikkal H<sup>+</sup>-fogyasztó reakcióban (kétszubsztrátos pH oszcillátor).

Az első egyszubsztrátos (H2O2-S2-)24 és az első két- $(IO_{3}^{-}-HSO_{3}^{-}-Fe(CN)_{4}^{4-})^{25}$ szubsztrátos oszcillátort laboratóriumunk állította elő, működésüket értelmeztük, rámutatva, hogy az említett rendszerekben a pH változása (amelyáltalában2-4pHegységa2,5-8pHtartományban)nem indikátora, következménye, hanem hajtóereje az oszcillációs viselkedésnek. Ma már 20-nál is több pH oszcillátor ismert, döntően Rábai Gyula (DE) munkájának köszönhetően.26 Oxidálószerként BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>, BrO<sub>2</sub><sup>-</sup>, IO<sub>4</sub><sup>-</sup>, IO<sub>3</sub><sup>-</sup>, ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> és H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, szubsztrátként szervetlen kén- és nitrogénvegyületek, ferrocianid, karbonát és hidrogénkarbonát használatos. A pH oszcillátorok túlnyomó többsége csak nyílt rendszerben (CSTR-ben) működik. Legújabb munkánk egyik eredménye, hogy néhány CSTR pH oszcillátort sikerült zárt rendszerben is működő pH oszcillátorrá alakítani: a BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Mn<sup>2+</sup>, a BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Fe(CN)<sub>6</sub><sup>4-</sup> és a IO<sub>3</sub><sup>-</sup>-HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Fe(CN)<sub>6</sub><sup>4-</sup> összetételű rendszerekben 2-3 órán át tartó, 5-10 perces periódusidejű, nagy amplitúdójú pH oszcillációkat regisztráltunk.<sup>27</sup> A zárt rendszerben működő pH oszcillátorok jelentősen kiterjesztik azok alkalmazhatóságát pH-függő fizikai és kémiai folyamatok vezérlésére.

### 1.6. Bromit oszcillátorok

A BrO<sub>2</sub><sup>-</sup> csak lúgos közegben stabil, ezért oszcilláló kémiai rendszer ezzel az oxidálószerrel pH 5-10 között hozható létre. Három redukálószer a I<sup>-</sup>, NH<sub>2</sub>OH, és a S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>, az utóbbi kettő fenol jelenlétében bizonyult alkalmasnak BrO<sub>2</sub><sup>-</sup> oszcillátor létrehozására CSTR-ben. Annak ellenére, hogy a BrO<sub>2</sub><sup>-</sup> protonált alakja (HBrO<sub>2</sub>) a bromát oszcillátorok autokatalizátora, a BrO<sub>2</sub><sup>-</sup> a klorition oxihalogén analógja, a bromit oszcillátorok működése teljesen eltér mind a bromát, mind a klorit oszcillátorok mechanizmusától: a BrO<sub>2</sub><sup>-</sup>–I<sup>-</sup>,<sup>28</sup> a BrO<sub>2</sub><sup>-</sup>–NH<sub>2</sub>OH–fenol<sup>29</sup> és BrO<sub>2</sub><sup>-</sup>–S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2–</sup>–fenol<sup>30</sup> rendszerek 1-, illetve 2- szubsztrátos pH oszcillátoroknak tekinthetők.

### 1.7. Nem-vegyértékváltó ionok periodikus koncentráció oszcillációja

A ma ismert, oldatfázisban, izoterm körülmények között lejátszódó oszcilláló kémiai rendszerekben a periodikus

viselkedés egyik alapvető feltétele, a pozitív visszacsatolás kizárólag redoxi reakciókban valósul meg. Ennek a ténynek következménye, hogy a nem-redoxi ionok közvetlenül nem képesek résztvenni az oszcillációs ciklusban, azaz koncentrációjuk oszcillációja az eddigi oszcillációs sémák alapján nem megvalósítható. Biológiai rendszerekben azonban kimutatták a Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> stb ionok oszcillációját, ezért célul tűztük ki nem-redoxi tulajdonságú ionok koncentráció oszcillációjának laboratóriumi létrehozását.

Az alábbi, csak vázlatosan ismertetett módszerrel<sup>31</sup> sikerült kb. két nagyságrendet átfogó koncentráció pulzusokat létrehozni több kationnal  $(Ca^{2+}, Al^{3+}, Cd^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+})$  és anionnal F<sup>-</sup>,  $(COO)_2^{2-}$ ]. Kerestünk olyan komplexképződési és csapadékképződési egyensúlyokat, amelyekben a cél-ion résztvesz és amely kapcsolható már ismert redoxi-alapú oszcillátorhoz. Optimális esetben a primer oszcillátor képes az egyensúlyt mindkét irányban mozgatni, ennek eredményeként az egyensúlyban résztvevő valamennyi speciesz koncentrációja, így a cél-ioné is, az alap oszcillátort (BrO<sub>3</sub><sup>--</sup>SO<sub>3</sub><sup>2--</sup>Fe(CN)<sub>6</sub><sup>4-</sup>, BrO<sub>3</sub><sup>--</sup>SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), egyensúlyi reakcióként erősen pH-függő komplexképződési és csapadékképződési reakciókat  $[Ca^{2+}+EDTE, Al^{3+}+H_2O, Al^{3+}+F^-, Ca^{2+}+(COO)_2^{2-}, M+SO_3^{-2-}Ga^{-2-}Fe(CN)_6^{4-}-Ca-$ EDTE rendszerben indukált Ca-ionszelektív elektróddalmért Ca<sup>2+</sup> pulzusok a 2. ábrán láthatók.



**2.** Ábra. Ca<sup>2+</sup> pulzusok a BrO<sub>3</sub><sup>--</sup>SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>–Fe(CN)<sub>6</sub><sup>4-</sup>–Ca-EDTE rendszerben. Kiindulási koncentrációk: [NaBrO<sub>3</sub>] =  $6,5x10^{-2}$  M, [Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>] =  $2,5x10^{-2}$  M, [K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] =  $2x10^{-2}$  M, [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] =  $10^{-2}$  M, [Ca-EDTE] =  $2,5x10^{-3}$  M, k<sub>0</sub> (áramlási sebesség)  $1,45x10^{-3}$ s<sup>-1</sup>, hőmérséklet: 45 °C.

Nem alaptalan az a feltételezésünk, hogy az oldatfázisban csak egy stabil oxidációs számmal bíró ionoknak az élő szervezetekben tapasztalt koncentráció oszcillációja az általunk használt módszer szerint, hasonló mechanizmus alapján játszódik le.

### 1.8. Heterogén közegű oszcilláló rendszerek

Heterogén rendszerekben oszcillációk két reakciótípusban fordulnak elő: (a) gázok (H<sub>2</sub>, CO, NH<sub>3</sub>,...) katalizátor felületen, magas hőmérsékleten végbemenő oxidációja történhet oszcilláló jelleggel is; (b) galváncella elrendezésben, potenciosztatikus vagy galvanosztatikus körülmények mellett végzett elektrokémiai reakciókban áram vagy potenciál oszcillációk léphetnek fel. Hasonlóság a két csoport között (és különbség a homogén közegű oszcillátoroktól), hogy itt a szilárd fázis felületének borítottsága változik periodikusan, oszcilláció a fluid fázisban nem mutatható ki.

Előállítottuk a heterogén oszcillátorok olyan képviselőit, amelyek átmenetet képeznek a két csoport között. Az oszcillációt eredményező folyamatok – az oldatfázisban levő komponensek adszorpciója, a kémiai reakció és a termékek deszorpciója – rendszereinkben is a szilárd fázis (Pt) felületén mennek végbe, de külső áram vagy potenciál alkalmazása nélküli (nyílt) elektrokémiai cellában, szobahőmérsékleten.

*Vízben oldott oxidálószer* (BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>, ClO<sub>2</sub><sup>-</sup>, Br<sub>2</sub>, Cl<sub>2</sub>, Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>2-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)-H<sub>2</sub> gáz-( $Pt_s$ ) összetételű rendszerekben,<sup>35</sup> Pt-lemez elektródon nagy amplitúdójú (BrO<sub>3</sub><sup>-</sup> esetében 1000 mV) potenciál oszcilláció jelentkezik, amely egy bizonyos ideig még a H<sub>2</sub> gáz bevezetésének leállítása után is fennáll. Forgó Pt elektród alkalmazásával, a forgatás sebességének függvényében egyszerű és komplex oszcillációkat mértünk.

*Vízben oldott Mn(VII)/Mn(IV)/Mn(III)* $-H_2PO_2^{-}-(Pt_3)$ összetételű rendszerekben,<sup>36</sup> galváncella elrendezésben a Pt-elektródon nagy amplitúdójú (500-600 mV) potenciál oszcillációk mérhetők mind áramlásos, mind zárt rendszerekben. Pt<sub>s</sub>jelenléte nélkül a hipofoszfition és mangán specieszek közötti reakció lassú és monoton lefolyású. Az a tapasztalat, hogy a Mn(III) oxidációs állapotot stabilizáló F<sup>-</sup> és PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> jelentősen megnöveli az oszcillációs tartomány élettartamát arra utal, hogy a periodikus folyamat a Mn(III) és H<sub>2</sub>PO<sub>2</sub><sup>-</sup> közötti reakcióban alakul ki, amelyben az elektroncserét a Pt-felület közvetíti.

# 2. Oszcilláló kémiai rendszerek mechanisztikus tanulmányozása

Az oszcilláló kémiai reakciók mechanisztikus tanulmányozása két fő célt szolgál: (a) az oszcilláció kialakulásáért felelős kémiai háttér (mechanizmus) megismerését; ennek birtokában, (b) a rendszerben, a paraméterek függvényében fellépő stacionárius és dinamikus állapotok (steady state, egyszerű és komplex oszcillációk, kémiai káosz, kémiai hullámok, Turing-struktúrastb) modellezését és szimulációját.

Az általunk előállított valamennyi oszcillátor családban megneveztük a bruttó reakciót és a legfontosabb részreakciókat, a pozitív és negatív visszacsatolást előidéző lépéseket, több esetben javasoltunk elemi lépésekből álló vázmechanizmust, kiegészítve ezt egyes részleteket is értelmező további reakciókkal. Vázlatosan ismertetjük néhány oszcilláló rendszerünkre vonatkozó mechanizmus javaslatunkat.

# 2.1. A "nem-katalizált" bromát oszcillátorok (UBO rendszerek) mechanizmusa

A UBO rendszerek leírását célzó mechanizmus<sup>37</sup> a BZrendszerre (BrO<sub>3</sub><sup>--</sup>malonsav (MA)–katalizátor) részletesen kidolgozott FKN mechanizmus<sup>1</sup> alkalmazása katalizátor és malonsav jelenléte nélküli (BrO<sub>3</sub><sup>--</sup>fenol/anilin származék) rendszerekre. Mind az eredeti (FKN) és az alkalmazott, az irodalomban OKN rövidítéssel jelölt mechanizmus meghatározó lépése a két köztitermék, az autokatalitikus  $HBrO_2$  speciesz és az inhibitor szerepű  $Br^-$  közötti pillanatszerű reakció:

$$HBrO_{2} + Br^{-} + H^{+} \leftrightarrow 2HOBr$$

amelynek következménye, hogy a rendszerben egyidejűleg csak az egyik (amelyik feleslegben van) lehet jelen. A "Brgazdag" állapotban a  $BrO_3^- + Br^-$  reakcióban HOBr, majd a MA + HOBr reakcióban BrMA képződik és a Br<sup>-</sup> elfogy:

$$BrO_{2}^{-} + 2Br^{-} + 3H^{+} + MA \rightarrow 3BrMA + 3H_{2}O.$$

A "Br<sup>-</sup>-szegény" állapotban a HBrO<sub>2</sub> katalizátor-asszisztált autokatalitikus keletkezése, később diszproporciója (elbomlása) játszódik le:

$$\mathrm{BrO}_3^{-} + \mathrm{HBrO}_2 + 2\mathrm{Ce}^{3+} + 3\mathrm{H}^+ \rightarrow 2\mathrm{HBrO}_2 + 2\mathrm{Ce}^{4+} + 2\mathrm{H}_2\mathrm{O}.$$

Az oszcillációs ciklus a Br<sup>-</sup> újratermelődésével zárul, amely a MA ill. BrMA és a katalizátor oxidált formája közötti reakció eredménye:

$$Ce^{4+} + BrMA + MA + H_2O \rightarrow Br^- + Ce^{3+} + termékek.$$

Az OKN mechanizmusban (amely 10, a kibővített változat 16 elemi lépést tartalmaz) MA helyett fenol (vagy anilin) származék, katalizátorként szemikinon, intermedierként dihidroxibenzol és mono/di/tribrómfenol, végtermékként kinon és brómkinon szerepel. A zárt-rendszerű BrO<sub>3</sub><sup>--</sup>fenol oszcilláló reakcióban a hidrokinon, a kinonok és brómkinonok képződését kísérletileg (HPLC) is kimutattuk,<sup>38</sup> a szemikinon jelenlétére a színváltozásból következtettünk.

### 2.2. Klorit oszcillátorok vázmechanizmusa

A klorit oszcillátorok általános összetétele:  $\text{ClO}_2^--\text{Red}(\text{R})$ , ahol R = I<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, S<sup>2-</sup>, S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>, SCN<sup>-</sup>. A  $\text{ClO}_2^--\text{I}^2$  oszcillátor mechanizmusa részletesen ismert<sup>11</sup> és jelentősen különbözik a többi  $\text{ClO}_2^--\text{Red}$  variáns működésétől. Az előbbi a jód redoxi reakcióin alapul, az utóbbiak oszcillációs ciklusa a  $\text{ClO}_2^-$  kémiájával írható le. ELTE – DE kooperációban egy 6 elemi lépést tartalmazó vázmechanizmust javasoltunk a jód-specieszt nem tartalmazó  $\text{ClO}_2^--\text{Red}$  összetételű oszcillátorok viselkedésének modellezésére:<sup>39</sup>

$$\begin{array}{c} \text{ClO}_2^{-} + \text{R} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HOCl} + \text{RO} \\ \text{ClO}_2^{-} + \text{HOCl} + \text{H}^+ \rightarrow \text{Cl}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \\ \text{Cl}_2\text{O}_2 + \text{R} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{HOCl} + \text{RO} \\ \text{HOCl} + \text{R} \rightarrow \text{RO} + \text{Cl}^- + \text{H}^+ \\ \text{Cl}_2\text{O}_2 + \text{ClO}_2^{-} \rightarrow 2\text{ClO}_2 + \text{Cl}^- \\ \text{Cl}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ClO}_3^{-} + \text{Cl}^- \end{array}$$

Startreakcióként a ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> + R lassú reakció szolgál, amelyben az R oxidált formája (RO = HOBr, S, S<sub>4</sub>O<sub>6</sub><sup>2-</sup>), a ClO<sub>2</sub><sup>-</sup>-ból pedig HOCl keletkezik. A HOCl a ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> felesleggel Cl<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-t termel, ez az R-rel reagálva 2 HOCl-t eredményezve biztosítja a rendszerben a (+) visszacsatolást (HOCl autokatalízis). Az autokatalízist a HOCl + R (vagy RO) reakció állítja le, ennek végterméke Cl<sup>-</sup> és RO (vagy lehet BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> is). A rendszerben megjelenő ClO<sub>2</sub> és ClO<sub>3</sub><sup>-</sup> a Cl<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-nek ClO<sub>2</sub><sup>-</sup>-tal és vízzel történő reakciójában képződik. Új oszcillációs periódus akkor indul, ha a reaktorban (CSTR) az elreagált anyagokat áramlással pótoljuk. A vázmodellel az irodalomban található kinetikai adatokat és két változó paramétert használva, jól szimulálható a kísérletileg mért koncentráció oszcilláció, az oszcillációs tartomány, a komplex oszcilláció, káosz és autokatalízis, de a biritmicitás és multistabilitás leírásához a modell kiterjesztése szükséges.

# 2.3. Cu(II)-katalizált S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup>-S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> oszcillátor mechanizmusa

Kísérletet tettünk az oszcillátor szimulációjára az irodalomban fellelhető adatok, a bruttó reakció és gyökös lépések sorozatából összeállított vázmechanizmus felhasználásával.<sup>40</sup> A Cu(II)-katalizált bruttó reakció a következő:

$$S_2O_8^{2-} + 2S_2O_3^{2-} \rightarrow 2 SO_4^{2-} + S_4O_6^{2-}$$

A modellezéshez felhasznált vázmechanizmus 9 elemi lépést tartalmaz:

$$\begin{array}{c} {\rm Cu}^{2+}+{\rm S_2O_3^{2-}} \rightarrow {\rm Cu}^++{\rm S_2O_3^{*-}}\\ {\rm S_2O_3^{*-}}+{\rm S_2O_8^{2-}} \rightarrow {\rm SO_4^{2-}} + {\rm SO_4^{*-}} + {\rm S_2O_3}\\ {\rm S_2O_3^{*-}} \rightarrow {\rm S_2O_3^{*-}} \rightarrow {\rm 2\,S_2O_3^{*-}}\\ {\rm 2\,S_2O_3^{*-}} \rightarrow {\rm S_4O_6^{2-}}\\ {\rm Cu}^++{\rm S_2O_8^{2-}} \rightarrow {\rm Cu}^{2+} + {\rm SO_4^{2-}} + {\rm SO_4^{*-}}\\ {\rm Cu}^{2+}+{\rm S_2O_8^{2-}} \rightarrow {\rm Cu}^{3+} + {\rm SO_4^{2-}} + {\rm SO_4^{*-}}\\ {\rm Cu}^{3+} + {\rm SO_4^{*-}} \rightarrow {\rm Cu}^{2+} + {\rm SO_4^{*-}}\\ {\rm SO_4^{*+}} + {\rm SO_4^{*-}} \rightarrow {\rm Cu}^{2+} + {\rm SO_4^{*-}}\\ {\rm SO_4^{*-}} + {\rm SO_4^{*-}} \rightarrow {\rm Cu}^{2+} + {\rm SO_4^{*-}}\\ {\rm SO_4^{*-}} \rightarrow {\rm Cu}^{2+} + {\rm SO_4^{*-}}\\ {\rm SO_4^{*-}} \rightarrow {\rm Cu}^{2+} + {\rm SO_4^{*-}}\\ {\rm SO_4^{*-}} \rightarrow {\rm SO_4^{*-}} \rightarrow {\rm Cu}^{2+} + {\rm SO_4^{*-}}\\ {\rm SO_4^{*-}} \rightarrow {\rm SO_4^{*-}}\\ \end{array}$$

A vázmechanizmusban kulcsszerepe van a  $Cu^{2+}/Cu^+$  és a  $Cu^{3+}/Cu^{2+}$  redoxipárok által katalizált  $S_2O_3^{\bullet-}$  és  $SO_4^{\bullet}$  gyökök autokatalitikus keletkezésének. A negatív visszacsatolásként a gyökök rekombinációja szerepel. A Cu(II)-katalizált oszcillációs ciklust az alábbi diagram szemlélteti:



A vázmodell kielégítően szimulálja a kísérletileg mért oszcillációs jel (Pt potenciál) alakját, de az észlelt periodikus  $O_2$  fejlődés, pH változás és a mért fázisdiagram szimulációjához a további 9 lépéssel kibővített modellünk is csak kiindulási alapként használható.

### 2.4. Mangán-kémián alapuló oszcillátorok mechanizmusa

A Mn-oszcillátorok mechanisztikus vizsgálatára a  $Mn^{2+}$ –IO<sub>4</sub>-CSTR-rendszert választottuk ki.<sup>41</sup> A reakciót a  $Mn^{2+}$ kvalitatív azonosítására is használjuk, a bruttó reakcióban a végtermékek  $MnO_4^-$  és IO<sub>3</sub><sup>-</sup>:

$$2 \text{ Mn}^{2+} + 5 \text{IO}_4^{-} + 3 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{MnO}_4^{-} + 5 \text{IO}_3^{-} + 6 \text{H}^{+}$$

A javasolt mechanizmust leíró vázmodellben 11 elemi lépés, közöttük több (Mn-specieszt tartalmazó) diszproporciós reakció szerepel. A modell egyszerűbb változata 4 (nem elemi) lépésben összefoglalható, amely tartalmazza az oldható Mn(IV) autokatalitikus keletkezését és annak szilárd fázisban történt, stabilizátor alkalmazásával szabályozott sebességű kilépését a rendszerből:

$$\begin{split} &Mn^{2^+} + IO_4^- + H_2O \rightarrow MnO(OH)^+ + IO_3^- + H^+ \\ &Mn^{2^+} + MnO(OH)^+ + H^+ \leftrightarrow 2Mn(OH)^{2^+} \\ &2Mn(OH)^{2^+} + IO_4^- + H_2O \rightarrow 2MnO(OH)^+ + IO_3^- + 2H^+ \\ &MnO(OH)^+ \rightarrow [MnO_2]_{oldat} + H^+ \\ &\downarrow \\ &[MnO_2]_{sylard} \end{split}$$

A modell jól szimulálja a kísérleti tapasztalatokat, például azt, hogy a CSTR-ben lejátszódó  $Mn^{2+}-IO_4^-$  reakcióban a  $Mn^{2+}$ -koncentrációhoz képest kb. 10x-es  $IO_4^-$  felesleg alkalmazásakor lépnek fel oszcillációk (a  $IO_4^-$ -koncentráció jó közelítéssel konstans), vagy azt, hogy az oldat színe egy-egy periódus alatt sárga [(az oldható Mn(IV)-speciesz, a  $MnO(OH)_2$  sárga] és színtelen, nem pedig ibolya és színtelen között változik (CSTR-ben  $MnO_4^-$  nem keletkezik). A különböző oxidációs állapotú Mn-specieszek koncentráció oszcillációját a 3. ábra mutatja.



**3.** Ábra. A  $MnO_4^{-}-IO_4^{-}$  CSTR oszcillátor szimulációja. Kiindulási koncentrációk:  $[IO_4^{-}] = 1,5x10^{-3}$  M,  $[Mn^{2+}] = 1,5x10^{-4}$  M. Áramlási sebességi k $_0 = 0,01$  s<sup>-1</sup>. Sebességi állandók:  $k_1 = 1$  M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>,  $k_2 = 5x10^7$  M<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>,  $k_2 = 1x10^{-6}$  s<sup>-1</sup>,  $k_3 = 1x10^8$  M<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>,  $k_4 = 5x10^{-1}$  s<sup>-1</sup>.

#### 2.5. BrO<sub>3</sub><sup>-</sup> - 1,4-ciklohexándion (CHD) - (katalizátor/ /indikátor) zárt rendszerű oszcillátor mechanizmusa

A BrO, -- CHD oszcillátor mechanizmusának részletes feltárását az indokolta, hogy a rendszer, amely zárt formában is több órán keresztül több száz oszcillációt és egyéb dinamikai viselkedést mutat, az egyik legalkalmasabb jelölt időben és térben periodikus jelenségek tanulmányozására. Csoportunk a BrO<sub>3</sub>-CHD rendszer és ferroin-katalizált változata működésének leírására 19 lépésből álló részletes mechanizmust<sup>42,43</sup> és egy 6 lépésből álló egyszerű modellt<sup>44</sup> javasolt. A mechanizmusnak a BrO, - redukcióját tartalmazó része megegyezik a BZ-reakció mechanizmusában szereplőkkel. Munkánkban új eredményként a szerves komponens (CHD) oxidációja részleteinek tisztázása szolgál. A BrO, - és CHD reakciójában a CHD brómozódása, majd aromatizációja, végül p-kinonná alakulása játszódik le. A folyamat feltételezett lépéseit az alábbi reakciósor szemlélteti:



Az oszcillációt eredményező ciklusban az autokatalízist a  $BrO_2^{-}-H_2Q$  reakció, a (–) visszacsatolást (a  $Br^{-}$  termelő lépés) a BrCHD intermedier  $H_2Q$  köztitermékké alakulása biztosítja. A  $BrO_3^{-}$ -CHD-ferroin rendszerben megfigyelt változatos dinamika szimulációjához az általunk kísérletileg mért sebességi együtthatókat használtuk fel.

### 3. Térben periodikus dinamikai mintázatok (kémiai hullámok) és stacionárius struktúrák (Turingszerkezetek) előállítása

Ha egy kémiai rendszerben a koncentráció oszcilláció létrejöttének alapvető feltételei [az egyensúlytól távoli állapot, (+) és (-) visszacsatolások lehetősége, parametrikus megfelelések] teljesülnek, a periodikus koncentráció eloszlás megjelenési formája a reakció kivitelezési módjának függvénye. Erős keverés esetén a specieszek koncentrációja a reakciótér minden pontján azonos, de időben különböző, így időbeni periodicitás, azaz oszcilláló reakció jön létre. A reakcióelegy keverését mellőzve és a konvekciót is kizárva† a reakció és diffúzió kölcsönhatásában térben periodikus koncentráció eloszlás, ún. "reakció-diffúziós" szerkezet, kémiai mintázatképződés alakulhat ki. A mintázat jellege a kémiai önszerveződés megvalósulásában alapvető szerepet játszó aktivátor (az autokatalitikus köztitermék) és inhibitor [a (-) visszacsatolást biztosító speciesz] diffúzió állandójának viszonyától függ. Közel azonos diffúzió állandók esetén dinamikus szerkezetek (mozgó koncentrikus körökből álló hullámfrontok, vagy forgó spirálhullámok), nagyon eltérő diffúzió állandóknál stacionárius struktúrák (Turing-szerkezetek) jöhetnek létre.

Kutatólaboratóriumunk mind a dinamikus, mind a stacionárius struktúrák előállításában figyelemre méltó eredményeket ért el.

### 3.1. Mozgó kémiai hullámok előállítása és tanulmányozása

Mozgó kémiai hullámokat elsőként Zhabotinsky állított elő a ferroin-katalizált Belousov-reakció (BZ-reakció) vékony oldatrétegében.<sup>45</sup> Ennek Ru(bpy)<sub>3</sub>SO<sub>4</sub>-katalizált változatát laboratóriumunk produkálta 1974-ben.<sup>46</sup> Az UBO-rendszerek felfedezését követően számos variáns (pl. BrO<sub>3</sub><sup>-</sup> és anilin/pirogallol/szulfanilsav/ 2,4-diaminodifenilaminstb) oldatrétegében kimutattuk a céltáblaszerű mozgó kémiai hullámok és spirálok megjelenését.<sup>47</sup> A struktúrák vizuális észlelését az intenzív (kék, vörös, barna) színű köztitermékek biztosítják, ehhez indikátor, vagy ferroin bevitelére nincs szükség. Mozgó struktúrák mellett stacionárius mozaik szerkezeteket és rövid életű tranziens hullámokat is megfigyeltünk és kimutattuk, hogy ezek nem "reakció-diffúzió" kölcsönhatás, hanem az oldatrétegben kialakuló konvekciós mozgások eredménye.

A ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> oszcillátorok kifejlesztésével lehetővé vált kloritalapú mintázatképződés létrehozása is. Ehhez előállítottuk a ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> oszcillátorok zárt rendszerű változatát, a ClO<sub>2</sub><sup>-</sup>-I<sup>-</sup>-malonsav (rövidítéssel: CIMA) reakciót, amelyben a köztitermék I<sub>2</sub> megjelenése keményítővel indikálható.<sup>15</sup> A CIMA kiváló rendszernek bizonyult reakció-diffúziós szerkezetek, mozgó kémiai hullámok és stacionárius szerkezetek (Turing-struktúra) tanulmányozására.

Mozgó kémiai hullámok vizsgálatához 1997-ig csupán a már tárgyalt BZ, UBO és CIMA rendszerek álltak rendelkezésre, de kísérleti szempontból egyik sem volt tökéletes. A BZ-rendszerben gáz (CO2) fejlődik, ami zavarja a szerkezetek kialakulását, az ÚBO rendszerek viszonylag rövid élettartamúak, a CIMA rendszer csak alacsony hőfokon (4°C) működik kellő ideig. Célul tűztük ki a mozgó kémiai hullámok vizsgálatához ideális rendszer kifejlesztését. Ideálisnak tekinthető az az oszcillátor, amely zárt rendszerben, szobahőmérsékleten hosszú ideig működik, nincs gáz vagy szilárd közti- és végterméke, a szerkezet kifejlődése vizuálisan követhető, a rendszer (pl. fénnyel) perturbálható, mechanizmusa egyszerű és ismert. A felsorolt követelmények többségét két rendszerünk a BrO, -- CHD-redoxi indikátor48,49 (difenilamin, ferroin, krisoidin, erioglaucin) és a BrO, -H, PO, -aceton-Mn(II)-Ru(II) vagy ferroin<sup>50</sup> kielégíti. A BrO, --CHD-difenilamin rendszerben kialakuló hullámszerkezet (lásd 4. ábra) hosszan tartó, esztétikus, fénnyel könnyen perturbálható.



**4.** Ábra. Kémiai hullámok a BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-CHD-difenilamin rendszerben. Kiindulási koncentrációk:  $[NaBrO_3] = 0,2 \text{ M}$ , [CHD] = 0,15 M,  $[H_2SO_4] = 0,3 \text{ M}$ , [NaBr] = 0,3 M,  $[DPA] = 10^{-4} \text{ M}$ .

Akét szubsztrátot és két katalizátort tartalmazó BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>–H<sub>2</sub>PO<sub>2</sub><sup>-</sup>–aceton–Mn(II)–Ru(II) vagy ferroin zárt rendszerben mind az időbeni oszcilláció, mind a kémiai hullámok fejlődése 3-5 órán keresztül fenntartható. Az 5-komponensű oszcillátor "magját" képező BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>–Br<sup>-</sup>–aceton–Ru(II) összetételű rendszerben az időbeni oszcilláció mellett mozgó kémiai hullámok is kimutathatók, de mindkét jelenség élettartama lényegesen lerövidül a teljes rendszerben megfigyelt élettartamhoz képest.<sup>51</sup>

<sup>†</sup>például, a reakcióelegyet lefedett Petri-csészébe rétegezve, vagy egy/több komponensét gélben rögzítve

# 3.2. Stacionárius mintázatok (Turing-struktúra) tervezése és előállítása

Stacionárius reakció-diffúziós kémiai struktúrák létezésének elvi lehetőségét Alan Turing már 1952-ben kimutatta,<sup>52</sup> de laboratóriumi előállításukra először csak 1990ben került sor.<sup>16</sup> A kísérletes Turing-struktúra a CIMA reakció speciális körülmények között (nyílt gélreaktor használata, a köztitermék I<sub>2</sub> diffúzó állandójának drasztikus csökkentése keményítővel,...) történt kivitelezésével volt megvalósítható.

A Turing-szerkezetekkel kapcsolatos kutatásokban két vonalon voltunk/vagyunk érdekeltek: (a) jelentős munkát fektettünk be a Turing struktúrák második kísérleti példájaként bejelentett, az  $O_2$ -S<sup>2-</sup>-Mblue oszcillátorral kifejlesztett mintázatok<sup>53,54</sup> reprodukálására; (b) francia kooperációs együttműködésünk (Bordeaux, CNRS laboratórium) keretében részt veszünk Turing struktúrák tervezés útján történő előállítását célzó projektben. Mindkét vonalon vannak értékelhető eredményeink:

(a) Egy "Turing stuktúra" cáfolata. Megismételtük és sikeresen reprodukáltuk azokat a kísérleteket, amelyekben a Turing struktúrának vélt mintázatokat az O<sub>2</sub>–S<sup>2–</sup>–Mblue rendszerben megfigyelték. Hexagonális elrendezésű pontokból, labirintus-szerű csíkokból álló struktúrák alakultak ki metilénkék oszcillátor szulfid-komponensét tartalmazó poliakrilamid (PAA) gélréteg és a levegővel (O<sub>2</sub>) érintkező metilénkék oldatréteg határfelületén. Kísérleteink bebizonyították, hogy a Turing stuktúrákhoz megtévesztésig hasonló mintázatok nem "reakció-diffúzió" eredetűek.55,56 A gélrétegben látható mintázat már a PAA gél készítésekor, a kezdetben folyadékfázisban levő elegyben kialakul az exoterm polimerizációs hő következtében fellépő konvekciós áramok hatására, majd a gélesedéskor rögzítődik. A gélre rétegzett metilénkék oldat a szerkezetet nem létrehozza, hanem csak "előhívja", láthatóvá teszi. A Turing-struktúraként leírt jelenség tehát valójában Benard cella szerkezet, amelyet a hidrodinamika hozza létre. A Turing struktúrák második laboratóriumi példáját csak 2008-ban sikerült előállítani kutatócsoportunk aktív közreműködésével.

(b) Turing-stuktúrák előállítása és tervezése. Az utóbbi évek egyik fontos tudományos eredményének tekintjük Turing-struktúra észlelését a CIMA reakciótól kémiai összetételében teljesen eltérő másik rendszerben a jodát-szulfit-ferrocianid (FIS) pH oszcillátorban.57 Az eredményhez Swinney és munkatársai által 1994-ben publikált kísérletből<sup>58</sup> kiindulva jutottunk, akik a FIS rendszert használva változatos mintázatképződést, például poliakrilamid gélben kifejlődő majd eltűnő, kör alakú foltok képződését és a jelenség többszöri ismétlődését figyelték meg. A foltokban a pH alacsonyabb, mint a környezetükben, ezért a kvázi-stacionárius szerkezet pH-indikátorral jelezhető volt. A Swinney-kísérletet újdonsága és érdekessége miatt kutatócsoportunk Brandeis Egyetemen és a Bordeaux-i laboratóriumban dolgozó tagjai többször próbálták reprodukálni, kezdetben sikertelenül. Az eredménytelenség okára 2008-ban Bordeauxban derült fény. A kvázistacionárius mintázat kialakulása annak tulajdonítható, hogy a FIS oszcillátor aktivátorának a H<sup>+</sup>-nak diffúzióját a poliakrilamid részleges hidrolízisében termelődő egyik komponens nagyságrendekkel lelassította, így teljesült a stacionárius reakció-diffúzió szerkezet kialakulásához szükséges alapvető feltétel. Turing-struktúra megjelenésének ezt a feltételét tudatosan teljesítettük: poliakrilamid helyett agaróz gélt, a FIS oszcillátor működésében kulcs szerepet játszó hidrogénionok diffúziójának drasztikus csökkentéséhez Na-poliakrilátot használtunk. A H<sup>+</sup>-ok mozgékonysága a nagy molekulatömegű poliakrilátionhoz kapcsolódva olyan mértékben lecsökkent, ami elégséges volt stacionárius mintázat kialakulásához. A nyílt reaktor egyik oldalfalát képező agaróz gélben krezolzöld indikátorral láthatóvá tett Turing-struktúra (függően kísérleti paraméterektől, kék környezetben hexagonális elrendezésű sárga pontokból vagy csíkokból álló mintázat) jelent meg.<sup>59</sup>

A témához tartozó további eredményünk volt egy olyan módszer kidolgozásában való részvétel, amely lehetővé teszi Turing-struktúra előállítását tervezéssel.57 A módszer egy összetételénél fogva CSTR-ben bistabilitásra és időbeni oszcillációra képes rendszer dinamikai tulajdonságainak lépésről-lépésre történő kísérletes felderítésén keresztül (ennek lépései: a térbeni bistabilitás és a mozgó kémiai hullámok paraméter tartományának megkeresése gélreaktorban, majd a hullámok lelassítása, végül leállítása egy alkalmas inhibítorral) vezet el a mintázat kialakulásához. Használhatóságát a jodát-szulfit- tiokarbamid rendszerben bizonyítottuk, amelyben Turing-mintázatok megjelenése mellett (lásd 5. ábra), a gélreaktorban egyéb dinamikai jelenségeket is megfigyeltünk.60



**5.** Ábra. Turing mintázat a  $IO_3^{-}-SO_3^{2-}$ -tiokarbamid (Tu) rendszerben (a világos foltok a savas, a sötétkék környezet a semleges/enyhén lúgos kémhatású területet jelzi).Kiindulási koncentrációk: [NaPAA]<sub>0</sub> = 6 mM, [Tu]<sub>0</sub> = 5 mM, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>]<sub>0</sub> = 3,57 mM,  $\lambda$  (a két folt közötti átlagos távolság) = 1,85 ± 0,9 mm.

Jelenleg további kémiailag különböző összetételű rendszerekben próbálunk reakció-diffúzió alapú mintázatokat létrehozni. Az eltérő kémiai mechanizmus lehetővé teszi, hogy még változatosabb dinamikai viselkedésformákat találjunk. Legújabb eredményünk ezt igazolni látszik: a  $H_2O_2$ -S $O_3^{2-}$ -Fe(CN)<sub>6</sub><sup>4-</sup> és a  $H_2O_2$ -S $O_3^{2-}$ -HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> rendszerekben lokalizált mintázatok alakultak ki,<sup>61</sup> amelyek alkalmasak például információtárolásra, vagy labirintusokban a legrövidebb útvonal megtalálására.

A "nemlineáris kémiai dinamika" természetesen szerepel az ELTE Kémiai Intézet oktatási programjában is. Kutatásaink kezdete óta tartunk speciálkollégiumokat (jelenleg "Oszcilláló kémiai reakciók és rokon jelenségek" és "Mintázatképződés kémiai rendszerekben" címeken) Kémia MSc, gyógyszerész és a Doktori Iskola hallgatói részére. A NKDL rendszeresen foglalkoztat tudományos diákkörös, szakdolgozatot és PhD-munkát végző hallgatókat.

### Összefoglalás

A cikkünkben rövid leírását adtuk az ELTE-n a "nemlineáris kémiai dinamika" témakörében 1971 óta folyó kutatómunkáról. Összefoglaltuk azokat az eredményeinket, amelyekkel a spontán önszerveződéssel kialakuló időben és térben periodikus kémiai reakciók létrehozása, működési mechanizmusuk tisztázása területén hozzájárultunk a nemlineáris kémiai dinamikai jelenségekkel kapcsolatos ismeretek gyarapításához.

Eredményeinknek is tulajdonítható, hogy periodikus kémiai rendszerek ma már tervezés útján is létrehozhatók.

Alkalmazva a közreműködésünkkel is kifejlesztett szemiempirikus tervezési módszert számos, a kémiai hátterükben különböző oszcillátor családot állítottunk elő, nevezetesen a nem-katalizált bromát oszcillátorokat, a klorit oszcillátorok kb. 25 variánsát, a kénvegyületek Cu(II)katalizált oxidációján alapuló rendszereket, a mangán(II)és permanganátionok redoxi reakcióit magába foglaló oszcillátorokat, az egy- és kétszubsztrátos pH oszcillátorok prototípusát, a bromit oszcillátorokat, több esetben az oszcilláció magjaként szolgáló minimál változatot is (BrO, -Br-katalizátor,  $MnO_4^{-}-$ Mn<sup>2+</sup>-stabilizátor, ClO, -I<sup>-</sup> rendszerek). Heterogén közegben, vízben oldott oxidálószert, redukálószert és Pt. - Ref elektródpárt tartalmazó rendszerekben nagy amplitúdójú potenciál oszcillációkat mértünk. Oszcillációk csak a Pt\_felületen jelentkeztek, az oldatfázisban nem. Ezek a rendszerek "nyílt áramkörű" elektrokémiai oszcillátorok közé sorolhatók. Egy általunk javasolt módszerrel megvalósítottuk a ma ismert (a redoxi kémián alapuló) oszcillációs mechanizmusokban közvetlenül részt venni nem képes nem-vegyértékváltó kationok és anionok indukált koncentráció oszcillációját. Néhány CSTR pH oszcillátorunkat zárt rendszerben is működő változattá alakítottuk, jelentősen megnövelve azok gyakorlati alkalmazásának esélyeit.

Oszcillátoraink kémiai mechanizmusát több esetben sikerült tisztázni és dinamikai viselkedésüket eredményesen szimulálni.

oszcilláló Az kémiai rendszerek előállítása és mechanizmusuk tanulmányozása mellett a térben periodikus dinamikus és stacionárius struktúrák keresése is fő célunk volt. Modellreakcióként az időben oszcilláló rendszereket használtuk. Mozgó kémiai hullámok kifejlődését tapasztaltuk az UBO-rendszerek, a CIMA reakció, a BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-CHD-katalizátor és a BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-aceton-H<sub>2</sub>PO<sub>2</sub><sup>-</sup>-Mn<sup>2+</sup>-Ru<sup>2+</sup> oszcillátorok vékony oldatrétegében. Ťuringstruktúrákat állítottunk elő nyílt gélreaktorban a FIS, a IO<sub>3</sub><sup>--</sup>SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>-tiokarbamid rendszerekben, Na-poliakrilát jelenlétében.

Oszcilláló kémiai reakcióinkat számos külföldi laboratóriumban modellként használják nemlineáris kémiai

dinamikai jelenségek demonstrációjára, a jelenségek mechanizmusának tanulmányozására és szimulációjára, vagy alkalmazzák periodikus fizikai, biokémiai és kémiai folyamatok vezérlésére, valamint H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-SCN<sup>-</sup> oszcillátor katalizátorával (Cu<sup>2+</sup>) kölcsönhatásba lépő sok szerves anyag mikroméretben történő meghatározására.

Jövőbeni kutatási terveinkben az időben és térben periodikus kémiai rendszerek tervezési módszereinek finomítása és újabb, összetételükben változatosabb, bonyolultabb variánsok előállítása szerepel. Az ilyen rendszerek tanulmányozása nyújthat újabb és alaposabb ismereteket a nemlineáris kémiai dinamika jelenségek részlétes mechanizmusának feltárásában.

### Köszönetnyilvánítás

A szerzők ez úton is köszönetüket fejezik ki néhai Kőrös Endre professor emeritusnak az "oszcilláló kémiai reakciók" kutatásának hazai bevezetéséért és a témát kutató csoport létrehozásáért az ELTE-n. Munkánkban való jelentős közreműködésért köszönetet mondunk kooperációs partnereiknek, elsősorban Irving R. Epstein professzornak (Brandeis University, Waltham, MA, USA) és Patrick De Kepper professzornak (CNRS, Bordeaux, Franciaország), továbbá valamennyi együttműködő munkatársnak [kiemelten Anatol M. Zhabotinsky (Waltham), Rábai Gyula (Debrecen), Horváth Judit (Bordeaux) kollégáknak]. Köszönet illeti hazai egyetemeinken (BMGTE, DE, SZE) a nemlineáris kémiai dinamika területén dolgozó kollégákat munkánk iránt tanúsított érdeklődésükért. Kutatásainkhoz anyagi támogatást az MTA-NSF project (1983-1995), számos OTKA pályázat (67701, 62029, 77986, 100891) és TÉT pályázat (F17/04) biztosította.

#### Hivatkozások

- 1. Zhabotinsky, A.M. Biofizika 1964, 9, 206-311.
- Field, R.J.; Kőrös, E.; Noyes, R.M. J. Am. Chem. Soc. 1972, 94, 8649–8664.
- 3. Kőrös, E.; Orbán, M.; Nagy, Zs. Nature 1973, 242, 30-31.
- 4. Burger, M.; Field, R.J. Nature 1984, 307, 720-721.
- 5. Kőrös, E.; Orbán, M. Nature 1978, 273, 371-372.
- 6. Kőrös, E.; Orbán, M. J. Phys. Chem. 1978, 82, 1672–1674.
- 7. Orbán. M.: Epstein, I.R. J. Phys. Chem. 1983, 87, 3212-3219.
- 8. Alamgir, M.; Orbán, M.; Epstein, I.R. J. Phys. Chem. 1983, 87, 3725–3728.
- Orbán, M.; De Kepper, P.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1982, 104, 2657–2658.
- De Kepper, P.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1981, 103, 2133–2134.
- Dateo, C.E.; Orbán, M.; De Kepper, P.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1982, 104, 504–509.
- Orbán, M.; De Kepper, P.; Epstein, I.R.; Kustin, K. Nature 1981, 292, 816–818.
- 13. Lengyel, I.; Jing, Ii; Kustin, K.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 3708–3719.
- 14. Orbán, M.; Epstein, I.R. J. Phys. Chem. 1982, 86, 3907-3910.
- 15. De Kepper, P.; Epstein, I.R.; Kustin, K.; Orbán, M. J. Phys. Chem. **1982**, *86*, 170–171.
- Castets, V.; Dulos, E.; Boissonade, J.; De Kepper, P. Phys. Rev. Lett. 1990, 64, 2953–2956.
- 17. Epstein, I.R. Kustin, K.; De Kepper, P.; Orbán, M. Scientific American 1983, 248, 112–120.

- 18. Orbán, M.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1987, 109, 101– 106.
- 19. Orbán, M. J. Am. Chem. Soc. 1986, 108, 6893-6898.
- Orbán, M.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1989, 111, 2891– 2896.
- 21. Orbán, M. React. Kinet. Catal. Lett. 1990, 42, 343-353.
- Doona, C.J.; Kustin, K.; Orbán, M.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1991, 113, 7484–7489.
- Orbán, M.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1989, 111, 8543– 8544.
- Orbán, M.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1985, 107, 2302–2305-
- Edblom, C.E.; Orbán, M.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1986, 108, 2826–2830.
- 26. Rábai, Gy. Magy. Kém. Folyóirat. 2011, 117, 117-122.
- 27. Poros, E.; Horváth, V.; Kurin-Csörgei, K.; Epstein, I.R.;
- Orbán, M. J. Am. Chem. Soc. 2011, 133, 7174–7179.
  28. Orbán, M.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 1252–
- 1256. 29. Orbán, M.; Epstein, I.R. J. Phys. Chem. **1994**, 98, 2930–2935.
- 29. Orban, W., Epstein, I.K. J. Thys. Chem. 1994, 90, 2950-2955.
- Orbán, M.; Epstein, I.R. J. Phys. Chem. 1995, 99, 2358–2362.
   Kurin-Csörgei, K.; Epstein, I.R.; Orbán, M. Nature 2005, 433, 139–142.
- 32. Kurin-Csörgei, K.; Epstein, I.R.; Orbán, M. J. Phys. Chem. A 2006, 110, 7588–7592.
- Horváth, V.; Kurin-Csörgei, K.; Epstein, I.R.; Orbán, M. J. Phys. Chem. A 2008, 112, 4271–4276.
- Horváth, V.; Kurin-Csörgei, K.; Epstein, I.R.; Orbán, M. Phys. Chem. Chem. Phys. 2010, 12, 1248–1252.
- Kurin-Csörgei, K.; Orbán, M. J. Phys. Chem. A 1996, 100, 19141–19147.
- Kurin-Csörgei, K.; Epstein, I.R.; Orbán, M. J. Phys. Chem. B 2004, 108, 7352–7358.
- Orbán, M.; Kőrös, E.; Noyes, R.M. J. Phys. Chem. 1979, 83, 3056–3057.
- Szókán, Gy.; Orbán, M. ACH-Models in Chemistry 1995, 132, 179–189.
- 39. Rábai, Gy.; Orbán, M. J. Phys. Chem. A 1993, 97, 5935-5939.

### Research on the phenomena of "nonlinear chemical dynamics" at Eötvös University, Department of Analytical Chemistry

This paper is concerned with the results achieved at Eötvös University during the last 40 years on the research field of nonlinear chemical dynamics. Within this topic our team has focused on designing, finding and studying novel types of chemical systems that show periodic behaviors in time and space. Here we summarize our contribution to the knowledge gained until now about chemical self-organization.

We were successful with producing the great majority of the known liquid phase oscillatory chemical reactions using the semiempirical design method developed with our assistance in the early 80ies. Our new systems include a subgroup of bromate oscillators (referred to as "uncatalyzed bromate oscillatory systems"), about 25 variants of the chlorite oscillators, the bromite systems, the family of manganese-chemistry based oscillators, the group of Cu(II)catalyzed oscillators, the prototype of the one- and two-substrate pH oscillators. Many variants in each group were identified, among them three "minimal" or core systems, the catalyzed BrO<sub>2</sub><sup>-</sup>-Br<sup>-</sup>, the  $MnO_4^--Mn^{2+}$  and the  $ClO_2^--I^-$  CSTR reactions. In order to clarify the chemical background that prevails behind the temporal periodic processes thorough mechanistic studies and simulations were carried out in most cases. Two families of heterogeneous oscillators were developed where the oscillatory processes took place in the surface of Pt, immersed in aqueous solution of an

- Orbán, M.; Kurin-Csörgei, K.; Rábai, Gy.; Epstein, I.R. Chem. Eng. Sci. 2000, 55, 267–273.
- 41. Orbán, M.; Lengyel, I.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1991, 113, 1978–1982.
- 42. Szalai, I.; Kőrös, E. J. Phys. Chem. 1998, 102, 6892–6897.
- 43. Szalai, I.; Kurin-Csörgei, K.; Orbán, M. Phys. Chem. Chem. Phys. 2002, 4, 1271–1275.
- 44. Szalai, I.; Kőrös, E.; Györgyi, L. J. Phys. Chem. A 1999, 103, 243–249.
- 45. Zaikin, A.N.; Zhabotinsky, A.M. Nature 1970, 225, 535-537.
- 46. Kőrös, E. Faraday Symp. Chem. Soc. 1974, 9, 99–100.
- 47. Orbán, M. J. Am. Chem. Soc. 1980, 102, 4311-4314.
- Kurin-Csörgei, K.; Orbán, M.; Zhabotinsky A.M.; Epstein, I.R. J. Phys. Chem. 1997, 101, 6827–6829.
- Orbán, M.; Kurin-Csörgei, K.; Zhabotinsky A.M.; Epstein, I.R. J. Am. Chem. Soc. 1998, 120, 1146–1150.
- Orbán, M.; Kurin-Csörgei, K.; Zhabotinsky A.M.; Epstein, I.R. Faraday Disc. Chem. Soc. 2001, 120, 11–19.
- Kurin-Csörgei, K.; Horváth, V.; Orbán, M. React. Kinet. Catal. Lett. 2007, 90, 405–411.
- 52. Turing A.M. Phil. Trans. Royal. Soc. B 1952, 237, 37-72.
- 53. Watzl, M.; Münster, A.F. Chem. Phys. Lett. 1995, 242, 273– 278.
- Watzl, M.; Münster, A.F. J. Phys. Chem. A 1998, 102, 2540– 2546.
- Kurin-Csörgei, K.; Orbán, M.; Zhabotinsky A.M.; Epstein, I.R. Chem. Phys. Lett. 1998, 295, 70–74 és 1999, 311, 105– 107.
- Orbán, M.; Kurin-Csörgei, K.; Zhabotinsky A.M.; Epstein, I.R. J. Phys. Chem. B 1999, 103, 36–40.
- Szalai, I.; De Kepper, P. J. Phys. Chem. A 2008, 112, 783– 786.
- Lee, K.J.; McCormick, W.D.; Pearson, J.E.; Swinney, H. Nature 1994, 369, 215–218.
- Horváth, J. Szalai, I.; De Kepper, P. Science 2009, 324, 772– 775.
- 60. Horváth, J. Szalai, I.; De Kepper, P. *Physica D –Non-linear Phenomena* **2010**, *239*, 776–784.
- 61. Horváth, J. Szalai, I.; Takács, N.; De Kepper, P. Phys. Chem. Chem. Phys. 2011, 13, 20228–20234.

oxidant and a reductant. A method was suggested and applied succesfully to generate oscillations in the concentration of some non-redox cations and anions, which – due to their chemical nature – are unable to participate in the known redox chemistry based oscillatory mechanisms. Three CSTR pH oscillators were converted into a form that was capable of oscillating under closed condition, increasing significantly their chances for practical applications. Many of our oscillatory reactions serve now as model system in different laboratories world-wide to demonstrate periodic reactions for students, to develop and study dynamical and stationary chemical patterns, to use for analytical purpose and a few of them were suggested to use for practical application.

Beside temporal oscillations efforts were made to produce spatial dynamical and stationary patterns. Systems capable of exhibiting temporal oscillations were tested. Travelling waves developed in a thin layer of the mixtures that contained the components of the UBO systems, the CIMA reaction, the  $BrO_3^--CHD$ -catalyst and the  $BrO_3^-$ -aceton- $H_2PO_2^--Mn^{2+}-Ru^{2+}$  oscillators. Turing structures were observed in the one-side open gel reactor using the  $IO_3^--SO_3^{2-}-Fe(CN)_6^{4-}$  and  $IO_3^--SO_3^{2-}$ -thiourea oscillators in the presence of Na-polyacrilate.

Our further goal to be achieved is to refine the design methods and find newer and more complex temporal and spatial periodic systems. The knowledge of large variety and great diversity of such systems helps us to obtain key insights into the innermost details of all phenomena related to nonlinear chemical dynamics.

# Környezeti vizek szerves szennyezőinek azonosítása és meghatározása, trimetilszilil (oxim) éter/észter származékokként, a gázkromatográfia tömegspektrometria felhasználásával

### PERLNÉ MOLNÁR Ibolya,<sup>a,\*</sup> ZSIGRAINÉ VASANITS Anikó,<sup>a</sup> SEBŐK Ágnes,<sup>a,b</sup> HELENKÁR András,<sup>a,b</sup> ANDRÁSI Nóra,<sup>a</sup> FALUDI Tamás,<sup>a</sup> MOLNÁR Borbála<sup>a</sup> és ZÁRAY Gyula<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>ELTE Kémiai Intézet, Környezetkémiai és Bioanalitikai Laboratórium; <sup>b</sup>ELTE Környezettudományi Kooperációs Kutató Központ, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/A.

### 1. Beveztés

A kutatás előzményei. A természetes mátrixok szerves összetevőinek gázkromatográfiás elemzése, az ELTE Analitikai Kémiai Tanszékén több évtizede, 1993 óta tömegszelektív detektálással folyó, nemzetközileg elismert vizsgálatok<sup>1-6</sup> voltak. E kutatások során, mindannyiszor, azonos munkastratégiát követtünk. A lehetőség szerint, a legkülönbözőbb homológ sorok összetevőit egy oldatból, egyetlen felvételből azonosítottuk és mértük: egyrészt trimetilszilil (oxim) éter/észterekként, másrészt eredeti formáikban, származék-készítés nélkül. A legkülönbözőbb mátrixok vizsgálatai során széleskörű tapasztalatot szereztünk az idézett vegyületek optimális származékképzése, a származékok szelektív fragmentum ionjainak keletkezése, s a mind több összetevő (zsírsavak, mono-, di- és polikarbonsavak, aminosavak, szacharidok, és flavonoidok optimális azonosítása és koncentráció arányos meghatározása tekintetében.

### 2 A környezeti vizek szerves szennyezőinek elemzése

A szennyvizekben fellelhető gyógyszer és kozmetikai maradványok és ezekkel együtt, a 21-ik század életviteléből adódó, az élő szervezetből és szintetikumokból eredő szerves vegyületek elemzése, testhezálló feladat volt.

### 2.1 A nem szteroid típusú gyulladásgátlók {non steroidal anti-inflammatory drug(s) = NSAIDs)} elemzése.

Bevezető vizsgálataink<sup>7</sup> a négy leggyakoribb NSAID (1. ábra), az ibuprofén, a naproxen, a ketoprofen és a diklofenák származék-készítésére és szelektív tömeg fragmentációjára (1. táblázat), az ionizációtól függő válaszjeleik elemzésére (2. ábra),



1. Ábra. A nem szteroid gyulladásgátlók szerkezete.

\*Tel.: 372 26 16; Fax: 372 25 92; e-mail: perlne@chem.elte.hu

valamint az Észak-pesti szennyvíztisztító be és kifolyó vizeiben mért mennyiségeikre (3. táblázat) vonatkoztak. Kiegészítő kutatások<sup>8</sup> a szelektivítás s az érzékenység növelése, az eljárásnak a Duna és ivóvízben mérhető ng/L mennyiségekre kiterjesztés érdekében, az adatgyűjtési módszerek jelentőségét bizonyították.

1. Táblázat. A nem szteroid gyulladásgátlók származék-készítési tanulmánya:, válaszjel értékek modelloldatokból, a szelektív fragmentum ionok (SFI(k) összegével számítva, a szililező reagensek (HMDS + TFE, BSTFA, MSTFA), s a reakcióidő függvényében.

70 °	C	Integrator egység/1 <sup>1</sup> pg modell vegyület, a szelektív fragmantum ionok (SFI) összege alapján számítva					
		ibuprofén	naproxen Ini. pg:	ketoprofen	diklofenák		
ens	perc	Inj. pg: 222 m/z=161±1	255	Inj. pg: 283 m/z=267±1	Inj. pg: 314 m/z=214±1		
Reag	ó ideje.	m/z=234±1	$m/z=183\pm1$ m/z=243±1	m/z=282±1	m/z=242±1		
	reakcio	m/z=263±1 m/z=278±1	m/z=287±1	$m/z=311\pm1$ $m/z=326\pm1$	$m/z=277\pm1$ $m/z=368\pm1$		
	A		m/z=302±1	III/Z-520±1	III/Z-500±1		
	30	2608 (3,13)	4823 (2,53)	756 (5,33)	2703 (9,3)		
SO	60	2851 (1,49)	4944 (3,53)	807 (2,41)	4171 (5,1)		
HN	90	2828 (1,67)	5098 (4,34)	781(3,67)	3853 (5,9)		
	120	2802 (2,25)	4823 (4,62)	781 (5,0)	3980 (6,8)		
	30	2608 (2,12)	5020 (1,85)	770 (1,50)	4045 (0,41)		
<b>FA</b>	60	2758 (1,24)	4823 (1,13)	816 (2,73)	4012 (2,62)		
BSI	90	2909 (1,44)	4862 (3,84)	795 (7,62)	3821 (4,37)		
	120	2829 (1,93)	4902 (0,82)	812 (1,80)	3566 (5,3)		
	30	2873 (0,77)	4352 (11)	922 (2,70)	4713 (1,40)		
ΓFA	60	2779 (1,92)	5294 (1,58)	830 (4,11)	4426 (0,55)		
MS	90	2909 (2,39)	5176 (0,68)	798 (1,23)	4333 (1,68)		
	120	2838 (2,43)	4823 (5,1)	765 (4,94)	3566 (12)		
Átla	ıg	2837 (1,78)	4963 (3,30)	798 (2,54)	4080 (5,3)		

Jelölések: Inj. pg=injetált pg; SFI(k)=3 párhuzamos származék-készítés átlagából számítva; Zárójelben: RSD%; a dőlt betűs értékek az átlagból kihagyva; további részletek az eredeti közleményben;<sup>7</sup> HMDS+ TFA = hexametil-diszilazán + trifluor-ecetsav; BSTFA = *bisz*-(trimetil-szilil)-trifluor-acetamid; MSTFA = *N*-metil-*N*-(trimetilszilil) trifluor-acetamid.

Az összes ionáram mérésén alapuló bevezető vizsgálataink,<sup>7</sup> szerint, (i) a nem szteroid gyulladásgátlók, valamennyi, karboxilcsoportú vegyület (1. ábra), mindhárom szililező



2. Ábra. A nem szteroid gyulladásgátlók válaszjele az ionizáció módjának függvényében.

2. Táblázat. Az ibuprofén, a naproxen, a ketoprofen és a diklofenák
visszanyerési hatásfokának összevetése, a vegyületek különböző
concentrációi esetén: (SPE: Oasis HLB 200mg/6mL nH 4 1 L minta)

Koncentráció	Visszanyerések, %							
tartomány	Ibuprofén	Naproxen	Ketoprofen	Diklofenák				
<b>4-6</b> μg/L	98	101	106	103				
2-3 μg/L	104	84	101	93				
1-1,5 μgL <sup>-1</sup>	98	105	93	103				
0,46-0,61 μg/L	72	100	109	98				
Átlag (RSD%)	100 (5,7)	98 (9,5)	102 (6,8)	99 (4,8)				

Jelölések: mint az 1. Táblázatban; SPE = solid phase extraction, = szilárd fázisú extrakció

szerrel reagálnak, s trimetil-szilil (TMS) (oxim) észter származékaik, a 0-120 °C hőfoktartományban mennyiségileg képződnek (1. Táblázat). (ii) a belső ionizáció 15-20szor nagyobb válaszjelet ad a külső ionizációhoz képest (2. ábra); (iii) A szilárd fázisú extrakciókból (SPE) kapott

**3. Táblázat.** Az ibuprofén, naproxen, ketoprofen és a diklofenákTMS (oxim) észter származékaink reprodukálhatósága modelloldatok (A) és befolyó szennyvízek (B) eltérő mennyiségeiből mérve(SFIk az 1. Táblázatban).

Összetevők ↓ (m/z értékek)		A Va Inte	álaszjelek grator eg	modellol ység/pg;(l	datokból RSD%ª)		<b>B</b> Válaszjelek az eltérő térfogatú szennyvizek származékainak 1μI ében, pg;(RSD% <sup>a</sup> )					nak 1µL-
Injektált pg/1 μL törzsoldatban ⇒	6,93- 9,83	13,85- 19,65	27,70- 39,30	55,40- 78,60	Átlag érték*	RSD % <sup>b</sup>	0,25	szennyvíz, L 0,50	1,0	Átlag °	RSD %d	Megfe- lel µg/L
Ibuprofén	7873	8311	8017	8133	8084	2,29	49,2	114	231	4,11	8,9	4,11
(161+263+234+278)	(2,38)	(1,53)	(2,80)	(0,10)			(3,70)	(5,2)	(0,74)			
Naproxen	14266	14284	14393	14795	14435 1.71	46,5	84,5	170	3 29	54	3 29	
(185+243+287+302)	(1,35)	(5,2)	(2,48)	(3,23)	11135	1,71	(3,08)	(2,62)	(3,48)	5,25	5,7	5,29
Ketoprofen (oxim)	18150	18361	18164	17514	19047	2.04						
(207+398+413)	(10)	(0,99)	(0,71)	(0,06)	18047	2,04			-			
Diklofenák	15402	15369	15140	15140	15262	0.02	41,41	81,24	155,3	2.02	2.1	2.02
(214+242+277+368)	(3,63)	(1,62)	(1,89)	(1,28)	15205	0,95	(1,99)	(1,85)	(4,15)	3,03	3,1	3,03

Jelölések: mint az 1-2 Táblázatokban, valamint, RSD%<sup>a</sup>= azonos extrakciókból számítva; RSD%<sup>b</sup>= párhuzamos extrakciókból; Átlagérték<sup>c</sup>= 1 µL mintára számítva (a 0,25 L, a 0,50 L és az 1,0 L extraktumaiból készült származékok); RSD%<sup>d</sup>=a három eltérő mennyiségű mintából (0,25 L, 0,5 L and 1 L) nyert átlagértékek; - = mérési határ alatt.

visszanyerések, az 1- 6 µg/L hozzáadott mennyiségek esetén, rendre 100% (ibuprofén), 96,7% (naproxen), 100% (ketoprofen) és 99,7% (diklofenák) voltak, s az eltérő mennyiségek reprodukálhatósága 3,5% és 11% (RSD%) között változott (2. táblázat). (iv) A modelloldatok 6,93 – 78,6 pg, a befolyó szennyvízek 49,2 – 170 pg injektált mennyiségei esetén, a mérések reprodukálahtósága, rendre 0,93 -2,29 RSD% (modell-oldatok) és 3,1 – 8,9 RSD% (befolyó szennyvizek) voltak (3. táblázat). Mindezek alapján, kutatásainkat a módszer szelektivitásának és érzékenységének kiterjesztése érdekében, mind a szelektíven választott ionok (SIM, selective ion monitoring), mind az ütközéssel indukált disszociációban keletkezett ionok (MS/MS) adatgyűjtési technikájának tanulmányozásával folytattuk.<sup>8</sup>

### 2.2. Az adatgyűjtési eljárás szerepe a szelektivitásra

A három adatgyűjtési technika összehasonlítását, a választott gyulladásgátlók, gyógyszermaradványkénti, reális szennyező koncentrációjának meghatározása céljából, TMS (oxim) észterekként elsőként irtuk le. Az automatikus optimálási feltételek (AMD, automated method development) közül a gerjesztési szintet, s az ütközéssel indukált disszociáció feszültségeit (CID) változtattuk (4. táblázat). A választott szülő és leány ionok MS/MS feltételeinek optimálását az 5. táblázat mutatja. A SIM és MS/MS adatgyűjtési eljárásokkal nyert felvételek közötti, jelentős különbséget egy Duna víz minta ketoprofen elúciós profiljával (3. ábra), a mért koncentrácó értékek realitásában mutatkozó különbségeket, egy-egy, 2008 januári és 2008 szeptemberi Duna víz mintákban mért nem szteroid gyulladásgátlók mennyiségeivel jellemeztük: a 3. ábra, s az 5. táblázat adataiból kitűnik, hogy reális koncentrációk csak az MS/MS adatgyűjtéssel várhatók. Mint ismert, a gyógyszermaradványok környezeti vizekben elemzésére, mindezideig, szabvány nem áll rendelkezésre, A javasolt, határérték adatok<sup>9</sup> ismeretében a diklofenák menyisége a 2008 januári Duna víz mintában a határérték több mint kétszerese volt: rendre 235-, 212- és 224 ng/l értékek a javasolt 100 ng/L helyett,

4. Táblázat. A nem szteroid gyulladásgátlók TMS (oxim) észter vegyületeinek optimált MS/MS feltételei.

Vegyület	t <sub>R</sub> , perc	Szülő ion, m/z	CID, V	Leány ionok <sup>*</sup> , m/z (relatív százalék, %)
Ibuprofén	6,51	161 [M- TMSCOO]⁺	1,05	<b>145</b> (100) [PI-CH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> ; 131 (17) [PI-C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> ] <sup>+</sup>
Naproxen	9,09	185 [M- TMSCOO]⁺	0,40	<b>170</b> (100) [PI-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> ; 153 (26) [PI-CH <sub>3</sub> -OH] <sup>+</sup>
Ketoprofen- 1/2	9,42/ 9,45	324 [M- TMSO] <sup>+</sup>	1,20	<b>250</b> (100); <b>206</b> (50) [PI- TMSCOOH] <sup>+</sup> ; <b>207</b> (50) [PI-TMSCOO] <sup>+</sup> ; <b>308</b> (47) [PI-CH₄] <sup>+</sup>
Diklofenák	10,09	242 [M- TMSOH-Cl] <sup>+</sup>	1,60	<b>178</b> (100) [PI-CO-HCl] <sup>+</sup> ; <b>214</b> (81) [PI-CO] <sup>+</sup> ; <b>206</b> (65) [PI-HCl] <sup>+</sup>

Jelölések:  $t_R$  = retenciós idő, CID = ütközéssel indukált disszociáció; M = molekulaion, PI = parent ion, szülő ion; \*A félkövérrel jelzett ionokat a mennyiségi analízisekhez használtuk.

**5. Táblázat.** Duna vízmintáiban mért nem szteroid gyulladásgátló vegyületek TMS (oxim) észtereinek koncentrációja (2 hónap eredményei), az alkalmazott adatgyűjtési (FS, SIM, MS/MS) módszer függvényében

Vegyület ↓	Al	A Duna víz mintákban mért nem szteroid gyulladásgátlók:, ng/L (RSD%)*								
Minta $\Rightarrow$	20	08, janu	ár	200	it: ng					
Adatgyűjtési mód ⇒	FS	SIM	MS/ MS	FS	SIM	MS/MS	Lim			
Ibuprofén	109 (8,1)	96 9,6)	50 (5,4)	13 (13)	9,3 (9,3)	4,4 (9,2)	200			
Naproxen	74 (1,15)	67 (11)	62 (3,83)	13 (13)	9,7 (6,2)	8,4 (11)	100			
Ketoprofen	<loq< td=""><td>305 (5,3)</td><td>77 (6,7)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>100</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	305 (5,3)	77 (6,7)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>100</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>100</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>100</td></loq<>	100			
Diklofenák	<b>235</b> (3,72)	<b>212</b> (5,8)	<b>224</b> (4,21)	21 (26)	20 (7,2)	24 (6,8)	100			

Jelölések: \*(RSD%) = 3 különböző szilárd fázisú extraktum (SPE) 3 párhuzamos injektálásának eredményeiből számolva; \*\*Limit = javasolt határértékek felszíni víz esetén [9]; A félkövérrel szedett értékek meghaladták az ajánlott határértékeket

### 2.3. A környezeti vizek szerves szennyezőinek elemzése: a sok-összetevőjű analízis rendszer

A nagyszámú, eltérő funkciós csoportú, s különböző forrású szennyező vegyület egyidejű azonosítása (egy oldatból, egy

felvételből) korábbi<sup>1-6</sup> és a legutóbbi<sup>7,8,10-13</sup> alapkutatásokra épült. A célvegyületek molekulatömege (Mt), retenciós idői  $(t_p) - (a 34 \text{ perces optimált gradiens alapján}) - és szelektív$ fragmentum ionjai a 6. táblázatban találhatók. Munkastratégiánk szerint, valamennyi, 12 mintából álló sorozatméréshez, reagens vak mérést (reagens vak), valamint, a szennyezések dúsítása céljából készült szilárd fázisú extrakciókhoz nélkülözhetetlen. SPE vak mérést készítettünk. A minták reális mennyiségeinek megítélése tekintetében a vak mérésekből származó termékek csúcs-területeit figyelembe vettük (7. táblázat). Mint az összeállításból kitűnik, az alkalmazott SPE oszloptól függetlenül, az alkil-ftalátok, a 2,4 *diterc*,-butil fenol, s a  $C_{16} - C_{18}$  zsírsavak, az SPE vak mérésekben kitüntetett, míg a reagens vakban, jelentősen kisebb mennyiségűek. Figyelembe vételük, különös tekintettel az egy csúcsban érkezés esetén (ketoprofen + C<sub>18</sub> zsírsavak: 5. táblázat, 3. ábra), kötelező. A célvegyületek közül, egyesek esetében (hidroxi-benzoesavak: 4. ábra) sem a reagens-, sem az SPE vak nem tartalmaz szennyező csúcsokat, míg mások (a reagens vak és az SPE vakokban)



**3. Ábra.** A ketoprofen 1,2 TMS oxim észterek (anti és szin oximok) elúciós profilja:, SIM (1,2 kromatogrammok, a,1A, 1B és 2A, 2B spektrumok) és MS/MS (3, 4 kromatogrammok, 3A, 3B és 4A és 4B spektrumok) adatgyűjtésű üzemmódban felvéve.

**6. Táblázat.** A sok összetevőt elemző rendszer alkotóinak retenciós ideje  $(t_R)$  és szelektív fragmentum ionjai (SFI).

			SFI. (m/z)		
Vegyületek	t <sub>p</sub> , perc	Mt		[M-	
	K A		[M]	ĊH,]⁺	
1. Benzoesav	5,52	122,1	194	179	
2. Fenilecetsav	6,12	136,2	208	193	
3. 2-Fenil-propionsav	7,63	150,2	222	207	
4. Dimetil-ftalát	7,81	194,2	194*	-	
5. Kaprinsav	7,95	172,3	244	229	
6. 4-Hidroxi-metil-benzoát	8,59	152,2	224	209	
7. Szalicilsav	8,61	138,1	282	267	
8. Fahéjsav	8,78	148,0	220	205	
9. 2,4-Di- <i>terc</i> -butil-fenol	8,93	206,3	278	263	
<b>10.</b> 3-Hidroxi-benzoesav	9,29	138,1	282	267	
11. 4-Hidroxi-etil-benzoát	9,48	166,2	238	223	
<b>12.</b> Klofibrinsav	9,59	214,7	287	272	
13. Dietil-ftalát	9,85	222,1	222*	-	
14. Ibuprofén	9,99	206,3	278	263	
<b>15.</b> 4-Hidroxi-benzoesav	10,02	138,1	282	267	
16. 4-Hidroxi-fenil-ecetsav	10,14	152,2	296	281	
17. Laurinsav	10,26	200,3	272	257	
18. Ftalsav	10,31	166,1	310	295	
<b>19.</b> 2-Hidroxi-fenil-propionsav	10,60	150,1	310	295	
20. Paracetamol	10,65	151,2	223	208	
<b>21.</b> 3-(3-Hidroxi-fenil)-propionsav	11,14	166,1	310	295	
22. Tereftalsav	11,38	166,1	310	295	
23. 2,5-Dinidroxi-benzoesav	11,49	154,1	3/0	305	
24. 3-(4-Hidroxi-tenil)propionsav	11,52	166,1	310	295	
25. Vaninasav	11,53	108,2	220	297	
26. Homovaninasav	11,,59	182,2	320	217	
27. Azelallisav 28. Mirisztinsav	11,82	100,2	300	285	
20. Szebecinsov	12,38	220,4	246	205	
<b>30</b> 3 Met 4 OH benzol prop say	12,78	106.0	340	325	
31 Koffein	12,89	190,0	10/*	525	
32 Gemfibrozil	12,98	250.3	322	307	
33 Indolecetsay	13 44/13 65	175.2	247	232	
34 Dibutil-ftalát	13.76	278.3	278*	-	
<b>35.</b> Fenoprofen	13,99	242.0	314	299	
<b>36.</b> Palmitolaisav	14.16	254.4	326	311	
<b>37.</b> Palmitinsav	14,33	256,4	328	313	
38. 5-Klór-2-metil-indolecetsav	14,60	295,0	367	352	
<b>39.</b> Metopropol	14,73	267,4	339	324	
40. Ferulasav	14,86	194,0	338	323	
<b>41.</b> Naproxen	14,96	230,3	302	287	
42. Kávésav	15,04/15,13	180,2	396	381	
<b>43.</b> Propranolol	15,77	259,3	331	316	
<b>44.</b> Linolénsav	15.86	280.4	352	337	
<b>45.</b> Olajsav	15,91	282,4	354	339	
<b>46.</b> Ketoprofen	15,94/16,00	254,3	413	398	
47. Sztearinsav	16,08	284,4	356	341	
48. Diklofenák	16,86	295,0	367	352	
49. Karbamazepin	17,83	236,3	308	293	
<b>50.</b> Arachinsav	18,63	312,5	384	369	
<b>51.</b> Dioktil-ftalát	18,67	390,5	390*	-	
<b>52.</b> Fenofibrát	19,02/19,24	360,8	447	432	
<b>53.</b> Metotrimeprazin	19,28	328,4	328*	-	
<b>54.</b> β-Ösztradiol	19,84	272,4	416	401	
55. Ösztron	20,54	270,4	429	414	
56. Kolesztén	22,59	370,6	370*	-	
<b>57.</b> Koleszterol	23,66	386,6	458	443	
58. Kólsav	24,87	408,6	696	681	
<b>59.</b> Litokólsav	24,91	376,6	520	505	

60. Kenodezoxikólsav	25,28	392,6	608	593
61. Urzodezoxikólsav	25,81	392,6	608	593
62. 3-Hidroxi-7-ketokolánsav	26,28	390,6	621	606
63. Dehidrokólsav	27,64/27,95	402,5	735	720

Jelölések: \* = alapállapotban mérhető vegyület (nem képez származékot)

7. Táblázat. Néhány választott szennyező mennyiségi meghatározása
reagens vak és különböző SPE vak mintájában, GC-MS módszerrel mérve
és a szelektív fragmentum ionjaik alapján értékelve.

	Szennyező anyagok, µg/L						
Víz minták ↓	2,4–Di- <i>terc</i> ,- butil-fenol	Dibutil- ftalát	C <sub>16</sub> -C <sub>18</sub> Zsírsavak*				
Befolyó szennyvíz*	37,7	3,42	604,5				
Duna víz*	0,045	0,38	1,58				
Vak (RSD%) Müveleti vak	0,59 (4,42)	0,09 (4,77)	6,54 (7,8)				
SPE müveleti vakok**							
DSC-18, 500 mg	2,78 (3,58)	0,19 (7,6)	8,21 (4,07)				
ENVI ChromP, 200 mg	7,21 (5,9)	0,22 (8,8)	10,6 (7,1)				
OASIS HLB, 200 mg	4,78 (4,99)	0,15 (5,1)	8,82 (2,21)				
OASIS HLB, 500 mg	2,95 (0,98)	0,14 (9,1)	9,11 (9,9)				
OASIS MAX, 60 mg	3,67 (2,15)	0,12 (9,1)	8,21 (6,8)				
OASIS MCX, 60 mg	4,78 (0,68)	0,14 (3,15)	7,40 (6,1)				
Strata-X, 200 mg	2,91 (7,6)	0,22 (5,4)	9,30 (7,9)				
Átlag (RSD%)	3,65 (3,65)	0,17 (24)	8,77 (14)				

növekvő mértékben, szennyezettek (dibutil-ftalát, *diterc.*-butil fenol: 5. ábra).

A 7. táblázat, valamint a 4. és 5. ábrák tanúsága szerint, a reális és ismételhető meghatározások érdekében, különös tekintettel, a kis mennyiségű szennyezések esetén (Duna víz, ivóvíz), az SPE vak értékek a mintákban talált mennyiségekkel összemérhetőek, s spektrumaik is azonosak (5 ábra, a, b felvételek, 2A, 3A spektrumok) voltak

A 34 perces, optimált gradiens utolsó harmadában érkező kólsavak származék-készítési és fragmentum analitikai tanulmánya, majd az eredmények felhasználásával nyert szennyvíz és Duna víz minták elemzése szerint, a kólsavak jelenlétével számolni kell.<sup>10</sup> Szennyvizekben és Duna vízben egyaránt, kólsavat, litokólsavat és kenodezoxikólsavat találtunk. A befolyó és kifolyó szennyvizek, valamint a Duna víz szennyezőinek mennyiségeit a 8. táblázat mutatja, (a legkisebb mérhető mennyiségek, az LOQ = limit of quantitation értékek) az angol cikkekben részletezve.<sup>7,8,10-13</sup>

# 2.4. A sokösszetevőjű elemző rendszer kiterjesztése: a szintetikus és természetes szteroidok analízise

# 2.4.1. Származék-készítési és fragmentum analitikai tanulmányok<sup>12</sup>

A szteroidok elemzőrendszerünkbe, a 34 perces gradiens utolsó harmadába, a kólsavak<sup>7</sup> közé iktatása, jelentős, megoldható kihívás volt:<sup>12,13</sup> elsősorban a keto csoportot tartalmazók oximmá alakítása. Bebizonyosodott, hogy TMS- szin és anti oximjaik, kitűnő, a  $\beta$ -ösztradiollal összevethető válaszjelűek, s az MTBSTFA kivételével, valamennyi TMS csoportú szililezőszerrel mennyiségi meghatározásra alkalmasak (9. táblázat, 6. ábra).



**4. Ábra.** A szalicilsav (1), a 3-hidroxi- (2) és a 4-hidroxi-benzoesavak (3) elúciós tartománya (8 – 11 perc): a reagens vak (a), az SPE vak (b) és a TMS (oxim) éter/észter származékok kromatogrammjaival, és a származékok spektrumaival (1A, 2A, 3A).

Az optimált és validált, két lépésbeni (1. oximálás, 2. szililezés), az összes ionáram (FS) mérésén alapuló módszert hazai szennyvizek szteroid tartalmának meghatározására hasznosítottuk (10. táblázat). Eljárásunkat a szelektivitás, s a kis mennyiségek mérhetősége érdekében, különös tekintettel a fogamzásgátló szteroidokra, a multiple ion monitoring (MIM) és a multiple reaction monitoring (MRM) adatgyűjtésű technikákkal egészítettük ki<sup>13</sup> (11. Táblázat). Mint kitűnik, a módszer jellemzők (LOQ, ILQ, S/N értékek), az FS, a MIM és az MRM sorrendben, számottevően jobbak, s ennek eredményeként fogamzásgátlók közül a ß-ösztradiolt, s az etinilösztradiolt is azonosítottuk és mértük (7, ábra, 12. táblázat). Az eltérő adatgyűjtési technikákkal nyert kromatogrammokat és spektrumokat elemezve egyértelmű, hogy a ng/L koncentráció tartományban, az S/N >>10, s a spektrumok m/z értékeinek együttes megfelelése, elengedhetetlen követelmény (7. ábra): míg a transzandroszteron esetében (5,74 µg/L) még az FS módszer is valós eredményt ad, addig az etinilösztradiol - a MIM adta elégséges S/N (>>10) érték mellet is - mint a spektrum tömegarányai is mutatják (0,133 µg/L) jelentősen túlbecsültek; reális érték csak az

MRM technikával (0,016 µg/L) kapható. A Telki befolyó szennyvíz szteroid és kólsav összetétételét, közvetlenül



**5.** Ábra. A 2,4-*diterc*,butil fenol elúciója: a reagens vak (a), az SPE vak (b) és a TMS éter/származék kromatogrammjával (c), valamint a szennyezések (1A, 2A) és a célvegyület spektrumaival (3A).

a származék-készítés után, és 6 nap elteltével, 250 mL és 500 mL mennyiségekből mértük. Az eljárás reprodukálhatóságát az egybehangzó eredmények relatív szórásokkal (RSD%) jellemeztük.

### 3. Összefoglalás

a) Az ibuprofén, naproxen, ketoprofen és diklofenák azonosítását és mennyiségi meghatározását, környezeti vizekből, trimetil-szilil (oxim) észterekként, származékkészítési, fragmentum analitikai és adatgyűjtési technikák változtatása alapján optimáltuk, (1. – 4. táblázatok, 1.-3. ábrák).

b) Korábbi tapasztalatok felhasználásával, a sokösszetevőjű analízis rendszer keretében, nagyszámú gyógyszermaradvány, kozmetikai- és ipari szennyező, összesen 63 vegyület egyidejű elemzését, trimetil-szilil oxim észter/éter származékaikként, egy oldatból, egy felvételből, 34 perc elúció idővel azonosítottuk és mértük (5. – 8. táblázatok, 4., 5. ábrák).

c) A sokösszetevőjű elemzőrendszert kiterjesztettük: a természetes és mesterséges szteroidok származék-készítését,

**8. Táblázat.** Be- és kifolyó szennyvizek, s a Duna víz minták szennyezői, TMS (oxim) éter/észterekként, szelektív fragmentum ionjaik, SFI(k) alapján értékelve.

	μg/L ng/LF								
Szennyezők	ÉP-200	7 Május	ÉP -200	7 Június	ÉP -2007-November		Dunavíz	- 2008	(
	befolyó	kifolyó	befolyó	kifolyó	influent	effluent	Január	Június	• Atlag
1. Benzoesav	53,5 (1,22)	4,54 (3,91)	92,2 (5,7)	0,85 (5,5)	176 (4,79)	1,09 (8,5)	<loq< td=""><td>118 (4,6)</td><td>5,6</td></loq<>	118 (4,6)	5,6
2. Fenilecetsav	139 (3,37)	<loq< td=""><td>430 (6,8)</td><td>13,1(4,77)</td><td>273 (6,3)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,8</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	430 (6,8)	13,1(4,77)	273 (6,3)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,8</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,8</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>5,8</td></loq<>	5,8
3. 2-Fenil-propionsav	63,4 (2,35)	<loq< td=""><td>547 (5,4)</td><td><loq< td=""><td>191 (4,17)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,10</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	547 (5,4)	<loq< td=""><td>191 (4,17)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,10</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	191 (4,17)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,10</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,10</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>4,10</td></loq<>	4,10
5. Kaprinsav	11,6 (9,8)	0,060 (11)	98,6 (3,1)	0,99 (5,2)	44,7 (3,25)	0,46 (6,4)	215 (0,82)	229 (3,1)	3,59
6. 4-Hidroxi-metil-benzoát	0,40 (7,4)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>1,88 (4,86)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,1</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>1,88 (4,86)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,1</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>1,88 (4,86)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,1</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	1,88 (4,86)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,1</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,1</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>5,1</td></loq<>	5,1
7. Szalicilsav	7,4 (2,95)	<loq< td=""><td>7,4 (6,9)</td><td><loq< td=""><td>23,6 (4,57)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,64</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	7,4 (6,9)	<loq< td=""><td>23,6 (4,57)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,64</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	23,6 (4,57)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,64</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,64</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>4,64</td></loq<>	4,64
9. 2,4-Di-terc,-butil-fenol	107 (5,1)	63,8 (4,43)	68,7 (3,6)	37,3 (6,6)	6,5 (5,1)	1,95 (6,5)	1385 (3,53)	44,7 (9,9)	5,4
10. 3-Hidroxi-benzoesav	2,60 (0,83)	<loq< td=""><td>3,85 (4,7)</td><td><loq< td=""><td>24,5 (3,55)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,72</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	3,85 (4,7)	<loq< td=""><td>24,5 (3,55)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,72</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	24,5 (3,55)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,72</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,72</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>4,72</td></loq<>	4,72
11. 4-Hidroxi-etil-benzoát	2,46 (3,38)	<loq< td=""><td>5,6 (2,69)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,99</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	5,6 (2,69)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,99</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,99</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,99</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,99</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>4,99</td></loq<>	4,99
12. Klofibrinsav	2,67 (2,56)	<loq< td=""><td>2,26 (7,4)</td><td>0,60 (8,5)</td><td>3,84 (5,8)</td><td><loq< td=""><td>109 (8,1)</td><td>13,4 (14)</td><td>6,9</td></loq<></td></loq<>	2,26 (7,4)	0,60 (8,5)	3,84 (5,8)	<loq< td=""><td>109 (8,1)</td><td>13,4 (14)</td><td>6,9</td></loq<>	109 (8,1)	13,4 (14)	6,9
13. Dietil-ftalát	5,5 (5,4)	0,50 (7,4)	10,0 (5,6)	<loq< td=""><td>23,6 (3,52)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>109 (5,2)</td><td>5,2</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	23,6 (3,52)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>109 (5,2)</td><td>5,2</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>109 (5,2)</td><td>5,2</td></loq<>	109 (5,2)	5,2
14. Ibuprofén	6,6 (6,5)	<loq< td=""><td>25,1 (4,61)</td><td><loq< td=""><td>55,7 (3,92)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,6</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	25,1 (4,61)	<loq< td=""><td>55,7 (3,92)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,6</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	55,7 (3,92)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,6</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,6</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>4,6</td></loq<>	4,6
15. 4-Hidroxi-benzoesav	24,7 (9,8)	<loq< td=""><td>170 (4,39)</td><td>1,65 (7,1)</td><td>81,4 (4,95)</td><td>1,47 (3,95)</td><td>1116 (2,44)</td><td>154 (8,4)</td><td>5,9</td></loq<>	170 (4,39)	1,65 (7,1)	81,4 (4,95)	1,47 (3,95)	1116 (2,44)	154 (8,4)	5,9
16. 4-Hidroxi-fenil-ecetsav	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>8,6 (4,67)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,67</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>8,6 (4,67)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,67</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>8,6 (4,67)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,67</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>8,6 (4,67)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,67</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	8,6 (4,67)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,67</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,67</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>4,67</td></loq<>	4,67
17. Laurinsav	1,82 (7,6)	<loq< td=""><td>4,89 (5,9)</td><td><loq< td=""><td>1,88 (7,3)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,1</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	4,89 (5,9)	<loq< td=""><td>1,88 (7,3)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,1</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	1,88 (7,3)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,1</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,1</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>6,1</td></loq<>	6,1
18. Ftálsav	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>22,9 (3,86)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,88</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>22,9 (3,86)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,88</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>22,9 (3,86)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,88</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>22,9 (3,86)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,88</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	22,9 (3,86)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,88</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,88</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>4,88</td></loq<>	4,88
21. 3-(3-Hidroxi-fenil)-prop,,s	0,32 (12)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,9 (2,77)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,9 (2,77)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>7,9 (2,77)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	7,9 (2,77)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>5,7</td></loq<>	5,7
22. Tereftálsav	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>9,3 (2,55)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>2,55</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>9,3 (2,55)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>2,55</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>9,3 (2,55)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>2,55</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>9,3 (2,55)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>2,55</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	9,3 (2,55)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>2,55</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>2,55</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>2,55</td></loq<>	2,55
24. 3-(4-Hidroxi-fenil)prop,,,v	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>14,0 (3,00)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,0</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>14,0 (3,00)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,0</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>14,0 (3,00)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,0</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>14,0 (3,00)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,0</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	14,0 (3,00)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,0</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,0</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>5,0</td></loq<>	5,0
25. Vaníliasav	0,76 (7,8)	0,32 (9,1)	7,5 (5,9)	13,5 (2,27)	20,2 (3,32)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>5,7</td></loq<>	5,7
26. Homovaníliasav	0,11 (5,0)	<loq< td=""><td>0,75 (5,4)</td><td>0,72 (6,5)</td><td>4,69 (3,06)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,13</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	0,75 (5,4)	0,72 (6,5)	4,69 (3,06)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,13</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,13</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>4,13</td></loq<>	4,13
27. Azelainsav	4,76 (6,2)	1,43 (8,6)	71,4 (6,1)	4,60 (8,3)	22,7 (7,6)	3,34 (8,3)	<loq< td=""><td>1963 (2,2)</td><td>6,6</td></loq<>	1963 (2,2)	6,6
<b>28.</b> Mirisztinsav	12,4 (3,30)	<loq< td=""><td>24,7 (5,7)</td><td>0,29 (5,1)</td><td>30,4 (4,53)</td><td>1,03 (6,2)</td><td>1298 (0,027)</td><td>145 (8,1)</td><td>4,70</td></loq<>	24,7 (5,7)	0,29 (5,1)	30,4 (4,53)	1,03 (6,2)	1298 (0,027)	145 (8,1)	4,70
<b>29.</b> Szebacinsav	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,4 (6,8)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>174 (6,5)</td><td>4,72</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>6,4 (6,8)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>174 (6,5)</td><td>4,72</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	6,4 (6,8)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>174 (6,5)</td><td>4,72</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>174 (6,5)</td><td>4,72</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>174 (6,5)</td><td>4,72</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>174 (6,5)</td><td>4,72</td></loq<>	174 (6,5)	4,72
<b>30.</b> 3-Met,-4-OH-benzol-prop,s,	1,65 (6,8)	<loq< td=""><td>5,9 (7,0)</td><td><loq< td=""><td>2,43 (3,08)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,1</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	5,9 (7,0)	<loq< td=""><td>2,43 (3,08)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,1</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	2,43 (3,08)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,1</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,1</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>5,1</td></loq<>	5,1
<b>31.</b> Koffein	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>57,7 (3,81)</td><td>1,55 (4,85)</td><td>440 (0,93)</td><td>101 (9,9)</td><td>5,5</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>57,7 (3,81)</td><td>1,55 (4,85)</td><td>440 (0,93)</td><td>101 (9,9)</td><td>5,5</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>57,7 (3,81)</td><td>1,55 (4,85)</td><td>440 (0,93)</td><td>101 (9,9)</td><td>5,5</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>57,7 (3,81)</td><td>1,55 (4,85)</td><td>440 (0,93)</td><td>101 (9,9)</td><td>5,5</td></loq<>	57,7 (3,81)	1,55 (4,85)	440 (0,93)	101 (9,9)	5,5
<b>33.</b> 3-Indolecetsav	53,6 (9,4)	<loq< td=""><td>147 (6,2)</td><td><loq< td=""><td>23,4 (7,4)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,3</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	147 (6,2)	<loq< td=""><td>23,4 (7,4)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,3</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	23,4 (7,4)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,3</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,3</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>6,3</td></loq<>	6,3
<b>34.</b> Dibutyl phthalate	4,35 (8,8)	1,89 (4,12)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,9 (6,7)</td><td>3,21 (4,76)</td><td>498 (4,07)</td><td>381 (5,7)</td><td>5,9</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>7,9 (6,7)</td><td>3,21 (4,76)</td><td>498 (4,07)</td><td>381 (5,7)</td><td>5,9</td></loq<>	7,9 (6,7)	3,21 (4,76)	498 (4,07)	381 (5,7)	5,9
<b>36.</b> Palmitolajsav	2,78 (3,38)	<loq< td=""><td>51,5 (3,02)</td><td>3,52 (12)</td><td>102 (5,7)</td><td><loq< td=""><td>1225 (4,06)</td><td>305 (9,6)</td><td>5,9</td></loq<></td></loq<>	51,5 (3,02)	3,52 (12)	102 (5,7)	<loq< td=""><td>1225 (4,06)</td><td>305 (9,6)</td><td>5,9</td></loq<>	1225 (4,06)	305 (9,6)	5,9
<b>37.</b> Palmitinsav	7,1 (6,1)	<loq< td=""><td>67,0 (1,66)</td><td>1,25 (5,9)</td><td>114 (1,59)</td><td>10,8 (7,1)</td><td>3143 (7,6)</td><td>231 (11)</td><td>6,6</td></loq<>	67,0 (1,66)	1,25 (5,9)	114 (1,59)	10,8 (7,1)	3143 (7,6)	231 (11)	6,6
38. 5-Klór-2-metil-indolecetsav	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,86</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,86</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,86</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,86</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,86</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,86</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>4,86</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>4,86</td></loq<>	4,86
<b>39.</b> Metopropol	25,2 (8,3)	1,53 (8,4)	29,5 (4,33)	5,6 (8,7)	62,5 (8,2)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,9</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,9</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>6,9</td></loq<>	6,9
<b>40.</b> Ferulasav	6,8 (8,4)	<loq< td=""><td>39,4 (3,67)</td><td>3,20 (8,1)</td><td>9,40 (6,3)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>37,6 (9,2)</td><td>7,3</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	39,4 (3,67)	3,20 (8,1)	9,40 (6,3)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>37,6 (9,2)</td><td>7,3</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>37,6 (9,2)</td><td>7,3</td></loq<>	37,6 (9,2)	7,3
<b>41.</b> Naproxen	2,54 (5,8)	0,28 (7,2)	1,71 (8,7)	0,46 (7,7)	2,21 (4,83)	0,86 (6,4)	74,1 (1,10)	1,9 (24)	5,5
42. Kávésav	1,25 (7,7)	<loq< td=""><td>1,04 (2,42)</td><td>0,25 (10)</td><td>3,59 (6,9)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,0</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	1,04 (2,42)	0,25 (10)	3,59 (6,9)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,0</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>6,0</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>6,0</td></loq<>	6,0
44. Linolénsav	14,5 (7,7)	<loq< td=""><td>14,5 (7,7)</td><td>0,45 (9,4)</td><td>38,3 (8,5)</td><td><loq< td=""><td>1959 (13)</td><td><loq< td=""><td>8,3</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	14,5 (7,7)	0,45 (9,4)	38,3 (8,5)	<loq< td=""><td>1959 (13)</td><td><loq< td=""><td>8,3</td></loq<></td></loq<>	1959 (13)	<loq< td=""><td>8,3</td></loq<>	8,3
45. Olajsav	46,4 (9,3)	<loq< td=""><td>58,4 (8,1)</td><td>2,67 (5,1)</td><td>391 (3,53)</td><td>1,39 (5,4)</td><td>4934 (0,20)</td><td>731 (7,8)</td><td>5,7</td></loq<>	58,4 (8,1)	2,67 (5,1)	391 (3,53)	1,39 (5,4)	4934 (0,20)	731 (7,8)	5,7
<b>46.</b> Ketoprofen	<loq< td=""><td>1,39 (5,1)</td><td>1,26 (7,7)</td><td>1,11 (5,5)</td><td>1,75 (4,01)</td><td>1,00 (5,6)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	1,39 (5,1)	1,26 (7,7)	1,11 (5,5)	1,75 (4,01)	1,00 (5,6)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>5,7</td></loq<>	5,7
<b>47.</b> Sztearinsav	23,3 (4,72)	<loq< td=""><td>21,3 (7,9)</td><td>0,92 (8,7)</td><td>73,0 (4,56)</td><td>0,63 (3,27)</td><td>1613 (9,1)</td><td>310 (7,4)</td><td>6,7</td></loq<>	21,3 (7,9)	0,92 (8,7)	73,0 (4,56)	0,63 (3,27)	1613 (9,1)	310 (7,4)	6,7
48. Diklofenák	4,19 (3,00)	3,38 (3,11)	2,16 (7,4)	2,63 (4,05)	2,45 (8,6)	3,65 (6,8)	141 (0,58)	(18,8 (19)	5,0
50. Arachinsav	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>27,2 (5,7)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>27,2 (5,7)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>27,2 (5,7)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>27,2 (5,7)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	27,2 (5,7)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>5,7</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>5,7</td></loq<>	5,7
<b>52.</b> Metotrimeprazin	<loq< td=""><td>1,01 (6,9)</td><td>2,97 (8,6)</td><td>2,16 (5,3)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,5</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	1,01 (6,9)	2,97 (8,6)	2,16 (5,3)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,5</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,5</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,5</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>7,5</td></loq<>	7,5
<b>53.</b> Dioctil ftalát	1,06 (9,9)	<loq< td=""><td>3,53 (8,9)</td><td>0,42 (8,4)</td><td>6,22 (3,39)</td><td>2,43 (3,12)</td><td>877 (1,39)</td><td>300 (6,6)</td><td>6,4</td></loq<>	3,53 (8,9)	0,42 (8,4)	6,22 (3,39)	2,43 (3,12)	877 (1,39)	300 (6,6)	6,4
<b>54.</b> β-Estradiol	0,62 (5,0)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>-</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>-</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>-</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>-</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>-</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>-</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>-</td></loq<>	-
56. Koleszten	26,9 (2,54)	<loq< td=""><td>9,8 (8,5)</td><td><loq< td=""><td>48,3 (5,7)</td><td><loq< td=""><td>169 (0,44)</td><td>289 (2,1)</td><td>5,6</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	9,8 (8,5)	<loq< td=""><td>48,3 (5,7)</td><td><loq< td=""><td>169 (0,44)</td><td>289 (2,1)</td><td>5,6</td></loq<></td></loq<>	48,3 (5,7)	<loq< td=""><td>169 (0,44)</td><td>289 (2,1)</td><td>5,6</td></loq<>	169 (0,44)	289 (2,1)	5,6
<b>57.</b> Koleszterol	83,2 (2,85)	9,3 (8,2)	36,2 (8,9)	4,9 (9,6)	414 (4,75)	<loq< td=""><td>4010 (0,40)</td><td>2830 (6,7)</td><td>6,3</td></loq<>	4010 (0,40)	2830 (6,7)	6,3
58. Kólsav	35,4 (7,3)	<loq< td=""><td>99,1 (8,4)</td><td><loq< td=""><td>79,0 (2,50)</td><td><loq< td=""><td>1940 (8,8)</td><td>249 (2,10)</td><td>6,2</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	99,1 (8,4)	<loq< td=""><td>79,0 (2,50)</td><td><loq< td=""><td>1940 (8,8)</td><td>249 (2,10)</td><td>6,2</td></loq<></td></loq<>	79,0 (2,50)	<loq< td=""><td>1940 (8,8)</td><td>249 (2,10)</td><td>6,2</td></loq<>	1940 (8,8)	249 (2,10)	6,2
59. Litokósav	10,7 (9,6)	<loq< td=""><td>92,9 (8,1)</td><td><loq< td=""><td>79,4 (4,30)</td><td><loq< td=""><td>1728 (1,99)</td><td>715 (11)</td><td>6,8</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	92,9 (8,1)	<loq< td=""><td>79,4 (4,30)</td><td><loq< td=""><td>1728 (1,99)</td><td>715 (11)</td><td>6,8</td></loq<></td></loq<>	79,4 (4,30)	<loq< td=""><td>1728 (1,99)</td><td>715 (11)</td><td>6,8</td></loq<>	1728 (1,99)	715 (11)	6,8
60. Kenodezoxikólsav	5,9 (7,7)	<loq< td=""><td>4,17 (8,8)</td><td><loq< td=""><td>28,7 (5,4)</td><td><loq< td=""><td>440 (12)</td><td>168 (1,46)</td><td>6,9</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	4,17 (8,8)	<loq< td=""><td>28,7 (5,4)</td><td><loq< td=""><td>440 (12)</td><td>168 (1,46)</td><td>6,9</td></loq<></td></loq<>	28,7 (5,4)	<loq< td=""><td>440 (12)</td><td>168 (1,46)</td><td>6,9</td></loq<>	440 (12)	168 (1,46)	6,9
61. Urzodezoxikólsav	6,2 (8,9)	<loq< td=""><td>25,9 (8,8)</td><td><loq< td=""><td>9,4 (7,7)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,3</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	25,9 (8,8)	<loq< td=""><td>9,4 (7,7)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,3</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	9,4 (7,7)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,3</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,3</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>7,3</td></loq<>	7,3
62. 3-Hidoxi-7-ketokolánsav	3,03 (9,1)	<loq< td=""><td>6,1 (8,7)</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,9</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	6,1 (8,7)	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,9</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,9</td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,9</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,9</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>7,9</td></loq<>	7,9
Talált összesen: */µg/L (ÉP);	41/813.7	13/89.4	40/2298	24/103.1	45/2622	15/34.9	20/27 314	24/9620	
ng/L (Duna				100,1				/ > 0 # 0	
eltávolítva,%	8	9	9	6	9	9	-	-	-

Jelölések: mint az 1.-7. Táblázatokban, valamint, ()= zárójelben (RSD%), három származék-készítés, egyenként 3 injektálás átlagértékei; \* = mért szennyezők száma/koncentrációja

61

**9. Táblázat.** Természetes és mesterséges szteroidok származék-képzési tanulmánya: modell oldatokból (injektálásonként 500pg); a szililezőszer függvényében, szelektív fragmentum ionjaik (SFI) alapján, TMS (oxim) éter származékaikként, GC-MS eljárással.

~	Válaszjel: integrátor egység/injektált pg										
Származékképzés →		Н	MDS+	-TFE		MS	TFA	BS	TFA		
⊐ szteroidok ↓	Átlª	RSD%	Átl <sup>ь</sup>	RSD%	RSD% (Átlª+Átl <sup>b</sup> )	Átlª	RSD%	Átlª	RSD%		
Androszteron	37603	4,58	35034	0,98	4,04	36235	8,5	19478	3,69		
ß-Ösztradiol	45204	3,31	46239	1,71	2,04	50131	3,42	45874	2,83		
Mesztranol	19793	3,90	21280	0,37	4,94	21033	2,00	18803	4,17		
Ethinilösztradiol	22865	1,31	21437	0,93	1,94	23389	0,74	21868	1,96		
Tesztosteron	17229	1,85	15946	1,31	3,89	18857	3,35	13803	5,4		
Ösztriol	66430	3,71	61005	0,31	4,40	69534	2,78	64454	2,65		
Noretiszteron	11989	6,6	11590	0,18	2,03	13299	4,43	8316	5,5		
Gesztoden	6769	7,2	6319	1,48	5,1	7121	6,4	4884	4,41		
Levonorgesztrel	8985	1,35	9314	1,90	1,64	10439	5,9	6799	4,25		
Etonogesztrel	8307	5,2	7957	4,53	5,2	9818	3,45	5768	4,12		
Stigmaszterol	9280	4,48	8929	0,39	1,50	9053	5,4	11265	2,94		



Jelölések: mint az 1.-8. Táblázatokban, valamint, Átl = átlagértékek: 3 párhuzamos származék-készítés, egyenként háromszor injektálva;

**6. Ábra.** A noretiszteron syn/anti oxim csúcsterületek aránya, 50-2000 pg injektált mennyiségek: szelektív fragmentum ionjaik alapján mérve. Átl<sup>a</sup> = közvetlenül hígítás után; Átl<sup>b</sup> = 12 órával később;

10. Táblázat. Be- (bef) és kifolyó (kif) szennyvízminták (0,5L és 1 L) oldat fázisában, GC-MS eljárással mért szteroidok, TMS (oxim) éter származékként, szelektív fragmentumionjaik alapján.

		μg/L													
Szteroid ·	Dél-Pest 2009, december		Telki 2010, január		Dél	Dél Pest		elki	Dél	Pest		Telki			
					2010, február		2010, május		2010, június		2010, július				
	bef	kif	bef	kif	bef	kif	bef	kif	bef	kif	bef <sup>0,5</sup>	bef <sup>1,0</sup>	kif		
Androszteron	4,09	<100	0,74	< LOQ	3,96 (10,0)	<loq< td=""><td>1,08</td><td>&lt;1.00</td><td rowspan="2">&lt; LOQ</td><td rowspan="2">&lt; LOQ</td><td rowspan="2">2,17 (2,48)</td><td rowspan="2">2,21 (0,75)</td><td rowspan="2"><loq< td=""></loq<></td></loq<>	1,08	<1.00	< LOQ	< LOQ	2,17 (2,48)	2,21 (0,75)	<loq< td=""></loq<>		
	(5,1)	< LUQ	(0,0)				(6,2)	< LOQ							
Transzandrosz- teron	1,70		.1.00	< LOQ	0,78	< LOQ	1,87	(100	< LOQ	< LOQ	4,00 (5,5)	3,53 (6,2)	< LOQ		
	(4,23)	< LOQ	< LOQ		(1,25)		(1,07)	< LOQ							
Androszteron-*	1,04	<100	0,058	< LOQ	1,04 (1,05) < LOQ	(100	1,09	(100	0,57	< LOQ	4,37 (4,13)	4,50	< LOQ		
	(10)	<loq< td=""><td>(7,2)</td><td>&lt; LOQ</td><td>(1,00)</td><td>&lt; LOQ</td><td>(2,44)</td><td>(3,96)</td></loq<>	(7,2)			< LOQ	(1,00)	< LOQ	(2,44)			(3,96)			
β-Ösztradiol	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>&lt; LOQ</td><td>&lt; LOQ</td><td>&lt; LOQ</td><td>&lt; LOQ</td><td>&lt; LOQ</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>&lt; LOQ</td><td>&lt; LOQ</td><td>&lt; LOQ</td><td>&lt; LOQ</td><td>&lt; LOQ</td></loq<>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ		
Ösztriol	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ		
Koprosztanol	180	16	188	2,11	302	15	144	20,0	45 (6,2)	6,40 (4,3)	44,0 1,96)	31 (0,21)	<100		
	(3,26)	(8,3)	(3,24)	(4,75)	(1,37)	(1,93)	(3,51)	(5,4)					< LOQ		
eltávolítva**	164 {91}		186 {99}		287 {95}		124 {86}		39 {87}		{100}				
Vologatorol	21	0,308	10,0	0,437	37	1,39	8,5	0,96	(7(10)	0,37 (2,1)	41,0 (5,6)	25,0 (1,18)	0,79 (13)		
Koleszteről	(7,4)	(3,19)	(0,69)	(5,7)	(7,3)	(4,8)	(3,52)	(4,13)	0,7 (4,8)						
eltávolítva**	20,7 {99}		9,6 {96}		35,6 {96}		7,5 {89}		6,3 {94}		40,2 {98} or 24,2 {97}				
Stigmaszterol	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	<loq< td=""><td>&lt; LOQ</td><td>&lt; LOQ</td><td>&lt; LOQ</td><td>8,40 (4,9)</td><td>1,2 (5,6)</td><td>&lt; LOQ</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""></loq<></td></loq<></td></loq<>	< LOQ	< LOQ	< LOQ	8,40 (4,9)	1,2 (5,6)	< LOQ	<loq< td=""><td><loq< td=""></loq<></td></loq<>	<loq< td=""></loq<>		
eltávolítva**	-				-		-		7,19 {86}		-				
β-Szitoszterol	< LOQ	< LOQ	10,0 (0,85)	1,12 (2,81)	< LOQ	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,00 (5,6)</td><td></td><td>&lt; LOQ</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>7,00 (5,6)</td><td></td><td>&lt; LOQ</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""></loq<></td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>7,00 (5,6)</td><td></td><td>&lt; LOQ</td><td><loq< td=""><td><loq< td=""></loq<></td></loq<></td></loq<>	7,00 (5,6)		< LOQ	<loq< td=""><td><loq< td=""></loq<></td></loq<>	<loq< td=""></loq<>		
eltávolítva**	-		8,9	8,9 {89} -		-	-		7,0 {100}		-				

Jelölések, mint az 1. – 9. Táblázatokban, valamint: \* = 3,11-ol-17-one, SFI alapján azonosítva; () =RSD%, 2-2 párhuzamos extraktum, egyenként 3 injektálás átlagában számítva; \*\* = a szennyvízkezelés során eltávolítva, a befolyó szennyvízben mért mennyiség{százalékában} kifejezve.

11. Táblázat. FS, MIM, MRM adatgyűjtési technikák analitikai jellemzői: szteroidok és kólsavak meghatározása modelloldatokból, TMS (oxim) éter/észter származékként, GC-MS eljárással.

Analitikai jellemzők⇒	R <sup>2</sup>			RSD%			LOQ*, ng/L			ILQ**, pg			S/N értékek aránya***	
Vegyület ↓	FS	MIM	MRM	FS	MIM	MRM	FS	MIM	MRM	FS	MIM	MRM	MIM/FS	MRM/MIM
1. Androszteron	0,9995	0,9858	0,9795	6,8	11,5	13,2	3,79	3,79	1,91	10,1	10,1	5,1	1,36	2,41
<b>2.</b> β-Ösztradiol	0,9997	0,9987	0,9986	5,2	5,4	6,6	0,56	0,283	0,203	1,61	0,753	0,541	1,51	2,07
3. Transz-dehidroandroszteron	0,9983	0,9924	0,9966	6,5	8,9	9,9	21,8	18,0	9,0	58	48,0	23,9	6,8	2,62
4. Transz-androszteron	0,9987	0,9896	0,9829	10,8	12,3	13,2	18,0	9,0	9,0	24,0	24,0	24,0	10,4	2,08
5. Mesztranol	0,9997	0,9996	0,9998	5,9	5,0	7,3	1,725	0,521	0,173	4,62	1,39	0,462	10,7	3,07
6. Dihidrotesztoszteron	0,9997	0,9966	0,9935	4,85	3,84	6,7	19,9	9,9	1,99	53	26,3	5,3	4,42	2,05
7. Etinilösztradiol	0,9999	0,9991	0,9994	6,1	4,88	8,3	1,17	0,589	0,195	3,13	1,57	0,523	9,9	8,64
8. Tesztoszteron	0,9993	0,9978	0,9980	12,0	9,0	9,0	18,1	3,64	1,09	48,3	9,7	2,90	10,1	6,8
9. Noretiszteron	0,9996	0,9960	0,9849	10,7	7,8	8,2	3,75	3,75	1,88	10,0	10,0	5,0	1,66	3,54
10. Ösztriol	0,9994	0,9991	0,9995	5,3	6,6	7,3	1,15	0,573	0,191	3,07	1,53	0,513	2,01	1,33
11. Androsztendion		k	alibrációs	görbe			20,6	20,6	20,6	55	55	55	7,65	2,94
12. Gesztoden	0,9995	0,9952	0,9945	6,2	7,0	11,9	19,5	9,75	9,75	52	25,8	25,8	4,90	1,62
13. Levonorgesztrel		k	alibrációs	görbe			17,7	17,7	8,8	47,1	47,1	23,5	6,6	1,08
14. Etonogesztrel		k	alibrációs	görbe			19,1	9,5	9,5	51	25,3	25,3	3,27	1,08
15. Koprosztanol	0,9966	0,9990	0,9979	6,8	4,41	5,3	18,6	9,3	1,86	49,5	24,7	4,95	7,5	2,95
16. Progeszteron		k	alibrációs	görbe			88	88	88	234	234	234	4,53	1,17
17. Koleszterol	0,9996	0,9954	0,9985	5,8	7,6	4,8	18,5	9,3	3,38	49,4	24,7	9,0	2,80	3,44
18. Medroxiprogeszteron-acetát		k	alibrációs	görbe			43,9	43,9	43,9	117	117	117	2,84	2,55
19. Litokólsav	0,9979	0,9994	0,9941	5,2	5,6	8,4	32,3	19,5	19,5	86	52	52	1,24	2,01
<b>20.</b> Stigmaszterol	0,9974	0,9983	0,9998	10,3	4,05	8,0	21,8	10,9	4,50	58	29,0	12,1	1,15	1,98
21. Kólsav	0,9999	0,9950	0,9927	5,4	10,0	11,6	3,23	3,75	3,75	8,6	10,0	10,0	1,19	2,15
22. Kenodezoxikólsav	0,9998	0,9979	0,9947	4,9	9,6	11,5	31,5	19,9	19,9	84	53	53	3,76	5,03
<b>23.</b> β-Szitoszterol	0,9915	0,9973	0,9919	10,6	6,2	6,0	22,1	11,0	1,32	59	29,3	3,51	6,6	1,38
24. Urzodezoxikólsav ka			alibrációs	görbe			34,5	34,5	30,8	92	92	82	4,0	3,09
25. 3-Hidroxi- 7-ketokolánsav		k	alibrációs	görbe			300	73,5	55	800	196	147	8,33	1,54
26. Dehidrokólsav		k	alibrációs	görbe			600	380	380	1600	1014	1014	4,29	1,55

Jelölések:  $R^2 = a$  kalibrációs görbe lineáris tartománya alapján (0,188 ng/L - 2,81ng/L); \*LOQ = S/N  $\ge$  10; \*\*ILQ = injektált pg/µL, a származékok 375µL törzsoldatából (LOQ ng/L = injektált pg × 375); \*\*\* S/N: jel/zaj viszony, adatgyűjtési módszerenként hat injektálás átlagértéke.



7. Ábra. A transzandroszteron (a), s az etinilösztradiol (b) FS (a 1,2 - b 1,2), MIM (a 3,4 - b 3,4) és MRM (a 5,6 - b 5,6) adatgyűjtésű kromatogrammjai és tömeg spektrumai.

63

fragmentum analitikai elemzését és adatgyűjtési optimálását, a ng/L tartományokra alkalmas eljárásként validáltuk (9. – 12. táblázatok, 6., 7. ábrák).

**12. Táblázat.** A Telki befolyó szennyvíz különböző térfogataiból, a szteroidok és kólsavak meghatározására, extrakció és származékkészítés után közvetlenül, majd, hat nappal később: TMS (oxim) éter/észter származékaikként, eltérő adatgyűjtési technikákkal (FS, MIM, MRM).

Voguälat	Telki, November, Befolyó szennyvíz, μg/L (RSD%)										
vegyulet	mL	FS		MIM		MRM					
	250	0,782(1,73)	~	0,642 (2,15)	~~	0,669 (3,46)					
Androszteron	500	0,760 (3,19)	2,99	0,727 (0,78)	10,5	0,708 (1,35)	[7,2]				
	+6 nap	0,824 (1,62)	~~	0,860 (0,72)	~~	0,806 (5,6)					
	250	<loq< th=""><th></th><th>0,089 (6,0)</th><th></th><th>0,017 (8,4)</th><th rowspan="3">{18}</th></loq<>		0,089 (6,0)		0,017 (8,4)	{18}				
β-Ösztradiol	500	<loq< td=""><td>ī</td><td>0,077 (3,57)</td><td>6,9}</td><td>0,018 (1,54)</td></loq<>	ī	0,077 (3,57)	6,9}	0,018 (1,54)					
	+6 nap	<loq< td=""><td></td><td>0,076 (5,80)</td><td>~~</td><td>0,011 (14)</td></loq<>		0,076 (5,80)	~~	0,011 (14)					
	250	0,691 (15)		0,512 (0,68)		0,694 (1,43)					
Transz-	500	0,689 (13)	2,22}	0,666 (8,4)	12,2}	0,636 (9,3)	4,81}				
anuroszteron	+6 nap	0,725 (5,1)	62	0,702 (2,10)	ني	0,612 (6,8)	2				
	250	<loq< td=""><td></td><td>0,143 (0,41)</td><td></td><td>0,017 (22)</td><td></td></loq<>		0,143 (0,41)		0,017 (22)					
Etinil-	500	<loq< td=""><td>ī</td><td>0,133 (1,54)</td><td rowspan="2">{2,92}</td><td>0,016 (6,8)</td><td rowspan="2">{2,67}</td></loq<>	ī	0,133 (1,54)	{2,92}	0,016 (6,8)	{2,67}				
osztradioi	+6 nap	<loq< td=""><td></td><td>0,135 (14)</td><td>0,017 (1,44)</td></loq<>		0,135 (14)		0,017 (1,44)					
	250	<loq< th=""><th></th><th>0,186 (6,1)</th><th></th><th>0,128 (10,0)</th><th rowspan="3">{6,8}</th></loq<>		0,186 (6,1)		0,128 (10,0)	{6,8}				
Ösztriol	500	<loq< td=""><td>ī</td><td>0,141 (11,3)</td><td rowspan="2"><math>\{10,8\}</math></td><td>0,127 (0,076)</td></loq<>	ī	0,141 (11,3)	$\{10,8\}$	0,127 (0,076)					
	+6 nap	<loq< td=""><td></td><td>0,178 (2,23)</td><td>0,148 (5,2)</td></loq<>		0,178 (2,23)		0,148 (5,2)					
	250	50,6 (0,17)		48,8 (2,21)	{6,2}	43,7 (3,03)	{4,47}				
Koprosz-tanol	500	45,1 (2,90)	\$,97}	42,2 (0,82)		39,4 (3,29)					
	+6 nap	47,5 (0,91)	<u></u>	48,8 (0,15)		43,6 (4,27)					
	250	33,8 (0,68)		47,2 (0,46)		42,8 (7,16)	{15,3}				
Koleszterol	500	29,6 (0,72)	t,61}	28,8 (1,31)	6,9}	27,6 (1,07)					
	+6 nap	32,0 (1,23)		38,9 (1,43)	~	34,0 (1,44)					
	250	34,3 (1,32)		30,0 (1,24)		33,8 (0,052)	{6,7}				
Litokólsav	500	29,8 (0,73)	5,8}	24,2 (2,68)	3,4}	30,4 (0,91)					
	+6 nap	30,6 (1,33)	مہا	20,7 (6,8)	С	28,0 (7,8)					
	250	4,67 (4,02)		5,26 (4,32)		3,92 (11,7)	{2,45}				
Stigma-szterol	500	4,46 (0,14)	2,31}	4,31 (0,26)	$\{10,8\}$	3,92 (0,13)					
	+6 nap	4,71 (5,4)	ä	4,00 (0,100)		4,14 (6,2)					
	250	18,2 (0,090)	,36}	20,0 (1,00)		21,6 (0,77)	,61}				
Kólsav	500	18,8 (3,83)		20,4 (1,94)	\$88;	19,8 (1,95)					
	+6 nap	19,5 (4,42)	2	22,5 (4,42)	2	21,4 (0,187)	<u></u>				
	250	6,9 (6,1)		7,5 (0,18)		6,5 (0,078)					
Kenodezoxi-	500	6,9 (7,6)	643]	7,3 (0,021)	5,8}	6,8 (2,83)	{7,3}				
Kolsav	+6 nap	7,0 (1,81)	©,	8,4 (1,32)	نين	7,8 (2,78)					
	250	34,1 (2,27)		3,35 (0,25)		3,40 (1,45)	{10,9}				
β-Szitoszterol	500	24,7 (3,98)	6,3}	2,85 (9,6)	8,5}	2,62 (3,34)					
	+6 nap	23,4 (0,28)	Ľ	2,72 (1,71)	4	2,75 (0,15)					
	250	4,60 (8,8)		4,88 (6,2)		4,59 (5,4)	{10,0}				
Urzodezoxi-	500	5,0 (7.2)	,87}	5,3 (2,53)	11}	4,99 (2,59)					
kólsav	+6 nap	4,82 (3,39)	ξ,	4,67 (1,20)	{4	3,79 (1,42)					
	250	4,8 (0,17)		3,50 (11,4)		2,89 (0,020)					
3-Hidroxi-7-	500	3,64 (0.62)	7,5}	3,93 (0,11)	<u></u>	3,11 (1,14)	7,6}				
ketokolánsav	+6 nan	2,97 (3.53)	{1	4,51 (9.7)	#	4,37 (13.6)	1				
	·p	,		. (.,)		, (,-)					

### Köszönetnyilvánítás

A kutatások anyagi támogatásáért köszönet illeti a Nemzeti Kutatási és Technológiai Hivatalt. (OM-00371/2008), valamint a TÉT intézményét (OMFB-01676/2009.).

### Hivatkozások

- 1. Molnár-Perl, I.; Horváth, K.; Chromatographia, **1997**, 45, 321-327.
- Molnár-Perl, I.; Bartha, R.; Horváth, K.; Chromatographia, 1998, 48, 101-118.
- 3. Molnár-Perl,I.; Vasanits, A.; Horváth, K.;: Chromatographia **1998**, 48, 111-119.
- Molnár-Perl, I.; Katona, Zs.F.; Chromatographia, 2000, 51, 227-236.
- Füzfai, Zs.; Katona, Zs.F.; Kovács, E.; Molnár-Perl, I.; J. Agr. Food Chem. 2004, 52, 7444-7452.
- Molnár-Perl, I.; Füzfai, Zs.; J. Chromatogr. A 2005, 1073, 201-227.
- Sebők, Á.; Vasanits-Zsigrai, A.; Záray, Gy.; Molnár-Perl, I.; Talanta 2008, 76, 642-650.
- Helenkár, A.; Sebők, Á.; Záray, Gy.; Molnár-Perl, I.; VasanitsZsigrai, A.; Talanta 2010, 82, 600-607.
- Loos, R.; Gawlik, B.M.; Locoro, G.; Rimaviciute, E.; Contini, S.; Bidoglio, G.; Environ. Poll. **2009**, 157, 561-568.
- Sebők, A.; Sezer, K.; Vasanits-Zsigrai, A.; Helenkár, A.; Záray, Gy.; Molnár-Perl I.; J. Chromatogr. A 2008, 1211, 104-108.
- Sebők, Á.; Vasanits-Zsigrai, A.; Helenkár, A.; Záray, Gy.; Molnár-Perl I.; J. Chromatogr. A 2009, 1216, 2288-2301.
- Andrási, N.; Helenkár, A.; Vasanits-Zsigrai, A.; Záray, Gy.; Molnár-Perl, I.; J. Chromatogr. A 2011, 1218, 1878-1890.
- Andrási, N.; Helenkár, A.; Vasanits-Zsigrai, A.; Záray, Gy.; Molnár-Perl, I.; J. Chromatogr. A 2011, 1218, 8264-8272.

### Identification and quantification of organic pollutants in environmental water samples as their trimethylsilyl (oxime) ether/ester derivatives, by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS)

**a)** Reliable, reproducible fast and cost-effective gas chromatographic mass spectrometric method has been developed for the identification and quantification of ibuprofen, naproxen, ketoprofen and diclofenak, as their trimethylsilyl (oxime) ester derivatives. Comparing the acquisition protocols, it was confirmed that out of the FS, SIM and MS/MS techniques, in order to get reliable and reproducible results MS/MS acquisition technique is the method to be selected (Tables 1. - 4, Figures. 1.- 3.),

**b)** The gas chromatographic mass spectrometric identification and quantification conditions of six cholic acids, such as cholic-, lithocholic-, chenodeoxycholic-, ursodeoxycholic-, 3-hy-droxy,7ketocholanic- and dehydrocholic acids have been optimized.

c) The two-step derivatizations, consisting of oximation and subsequent silylation, performed as a function of the time and the temperature of both steps, resulted in fully derivatized products, suitable for identification and quantification purposes, equally. This process proved to be in particular advantageous for the keto group containing cholic acids ensuring both the stability of these derivatives and their acceptable, reproducible responses.

**d)** Fragmentation patterns of all six model acids provided the expected masses of molecular ions, the molecular ions less by one methyl radical, less by one TMSO, TMSOH,  $Si(CH_3)_4$  and further characteristic fragment ions.

e) As the practical utility of the method, in the frame of a new group of waste water pollutants have been introduced.

In the influent waste water five different cholic acids, in the Danube river three species have been identified and measured. The total cholic acid contents of waste water samples were extremely high, close to 300  $\mu$ g/L, while in the Danube river 4  $\mu$ g/L cholic acids were found.

**f)** On the basis of earlier experiences a multiresidue system was elaborated suitable for the analysis of pharmaceutical remedies, personal– and industrial pollutants, in total of 63 compounds from one solution by a single injection by GC-MS (Tables 5. -8., Figures 4., 5,).

**g)** The practical utility of the multiresidue proposal was shown by the identification and quantification of the pollutants, present in the influent and effluent wastewaters of a Hungarian wastewater treatment plant (under six months period of time) and in the Danube River (for two months). As to the efficiency of the Hungarian Wastewater Treatment Plant, it is worth of mention that the average removal of the total of pollutants, under the 6 months period of time, proved to be 96% (RSD%=3.40)

**h)** The multiresidue approach was extended to the analysis of natural and synthetic steroids: derivatization, mass fragmentation and acquisition protocols were given in order to identufy and quantify steroids in the low ng/L levels (Tables 9. - 12., Figures 6., 7.).

i) To improve the selectivity of the quantification of the most common natural and synthetic steroids along with cholic acids, in total 26 pollutants, in addition to the 63), for the first time, as their TMS (oxime) ether/ester derivatives, a tandem mass spectrometric acquisition protocol was optimized.

**j)** In the frame of these studies, as novelty to the field, the full-scan, the multiple ion monitoring and the currently optimized, tandem mass spectrometric, multiple reaction monitoring type acquisition methods, all three at once, have been compared, on the same basis (derivatization/instrumental conditions) and characterized with the same, comparable analytical performance parameters.

**k)** Data obtained revealed that, in particular in cases of hydroxysteroids, they can be quantified with reliability and reproducibility, upon the tandem mass spectrometric acquisition method, exclusively.

**I)** The practical utility of the currently compared acquisition protocols, including the optimized MRM technique was confirmed with the analysis of five influent/effluent wastewater samples, taken in 2010.

**m)** The estrogen contents of samples, in order of listing, varied between 2.5 - 27 ng/L ( $\beta$ -estradiol), 16 - 152 ng/L (ethinylestradiol) and 85 - 449 ng/L (estriol), respectively.

**n)** The overwhelming part of androgens, consists of  $0.708 - 8.2 \mu g/L$  androsterone and  $0.636 - 5.81 \mu g/L$  transandrosterone, found in the influent samples, only.

o) Coprostanol and cholesterol were present both in influent and effluent wastewaters: influent wastewaters contain 19.3 – 50  $\mu$ g/L coprostanol and 6.70 – 43.0  $\mu$ g/L cholesterol, while effluent samples comprise 0.653 – 6.40  $\mu$ g/L coprostanol and 0.678 – 2.88  $\mu$ g/L cholesterol.

**p)** Phytosterols, like stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol, constituents mainly of influent samples were determined between 1.10 - 7.50 µg/L, and 0.567 - 41.9 µg/L: all accepted data were obtained by the MRM technique.

### Az ELTE TTK Lézerlaboratóriuma: Első eredmények és kutatási perspektívák

BAZSÓ Gábor,<sup>a,b</sup> GÓBI Sándor,<sup>a,b</sup> MAGYARFALVI Gábor,<sup>a,b</sup> ZÜGNER Gábor,<sup>c,b</sup> DEMETER Attila,<sup>c,b</sup> TURÁNYI Tamás,<sup>d,b</sup> DÓBÉ Sándor <sup>c,b</sup> és TARCZAY György<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup>Molekulaspektroszkópiai Laboratórium, ELTE Kémiai Intézet, Pázmány P. s. 1/a, 1117 Budapest, Magyarország

<sup>b</sup>ELTE TTK – MTA TTK Környezeti Kémiai-Fizikai Laboratórium, Pázmány P. s. 1/a, 1117 Budapest, Magyarország

<sup>c</sup>Anyag- és Környezetkémiai Intézet, MTA TTK, Pusztaszeri út 59-67, 1025 Budapest, Magyarország

<sup>d</sup>Reakciókinetikai Laboratórium, ELTE Kémiai Intézet, Pázmány P. s. 1/a, 1117 Budapest, Magyarország

### 1. Bevezetés

Ebben a közleményben az ELTE Természettudományi Karán 2011-ben létesített új lézerlaboratóriumot mutatjuk be. A laboratórium létrehozásának fő célja az volt, hogy egy olyan lézeres műszeregyüttes összeállítását kezdjük el, amelynek segítségével speciális, korszerű, és világszínvonalú fotokémiai, spektroszkópiai és reakciókinetikai kísérletek végezhetők el. A műszerek kiválasztásánál törekedtünk arra, hogy minél sokrétűbben használható összeállítást hozzunk létre, és hogy a laboratórium a későbbiekben – akár kisebb lépésekben – modulárisan bővíthető legyen. A laboratórium kiépítésénél szempontunk volt az is, hogy a kutatáson kívül – legalábbis speciális kurzusok keretében – az oktatásba is bevonjuk a laboratóriumot.

A laboratórium kiépítésére és új műszerek beszerzésére mintegy 125 millió Ft-ot fordított az ELTE TTK. A laboratórium értékét és potenciálját azonban jelentősen növeli az, hogy a laboratórium fenntartására és szakmai együttműködések céljából az ELTE TTK és az MTA TTK Anyag- és Környezetkémiai Intézete megalapította az ELTE TTK – MTA TTK Környezeti Kémiai-Fizikai Laboratóriumát. Az együttműködés keretében az MTA további műszerek ELTE-re telepítésével növelte a lézerlaboratórium értékét. A kölcsönösen megosztott lézerek és műszerek lehetővé teszik, hogy rugalmasabban és hatékonyabban tudjunk kiépíteni speciális kísérleteket. A kutatómunkát is jelentősen segíti a tapasztalatok megosztása, és nagyobb kutatási projektek együttes tervezése.

A továbbiakban először bemutatjuk a laboratóriumba telepített lézereket és fontosabb műszereket. Nem térünk ki a laboratóriumhoz lazán kapcsolódó, a KMOP pályázat keretében beszerzett mintegy 52 millió Ft értékű Raman Optikai Aktivitás (ROA) spektrométerre, amelyről és az azon született első eredményekről a Magyar Kémiai Folyóirat jelen és egy későbbi tematikus számában is közlemény jelenik meg.<sup>1,2</sup> Bemutatjuk a már kiépített berendezéseket és a laboratórium első tudományos eredményeit. Végezetül röviden kitérünk a közép és hosszú távú kutatási tervekre.

### 2. Főbb lézerek és műszerek

A laboratórium jelenleg két nagyteljesítményű, impulzus üzemmódú Nd:YAG-lézerre épül, amelyek egy hangolható

\* Tel.: +36 1 372 2500/6587; fax: +36 1 372 2592; e-mail: tarczay@chem.elte.hu.

optikai parametrikus oszcillátort (OPO), illetve egy festéklézert hajtanak meg, de közvetlenül is használhatók fotolízishez. Fotolízishez szintén rendelkezésünkre áll egy ns-os impulzusidejű excimerlézer. A detektorok közül külön kiemeljük az érzékenyített CCD kamerát (ICCD).

### 2.1. Nagy teljesítményű, ns-os Nd: YAG-lézerek

Mindkét Nd:YAG-lézerünk 10 Hz-en üzemel, az impulzusuk szélessége néhány ns. A nagyobb teljesítményű (Spectra Physics Quanta Ray PRO 250-10) lézer alapvetően a festéklézer meghajtására szolgál. Ezt a lézert úgy választottuk meg, hogy sugárosztó segítségével a festéklézer meghajtása mellett egyidőben fotolízisre is használhassuk, illetve hogy a jelenleg meghajtott festéklézeren felül egy második festéklézert is meg tudjon hajtani a tervezett kétszínű kétfotonos kísérletekhez. A lézer csúcsteljesítménye 1064 nm-en 1710 mJ/impulzus. Nemlineáris optikai kristályokkal a fotonok frekvenciája kétszerezhető, illetve háromszorozható. A lézer csúcsteljesítménye 532 nm-en 890, míg 355 nm-en 540 mJ/impulzus.

A kisebb teljesítményű (Spectra Physics Quanta Ray LAB 150-10) Nd:YAG-lézert fotolízishez és az OPO meghajtására használjuk. Ennél a lézernél a 1064, 532 és 355 nm-es nyalábon felül a frekvencia négyszerezett, azaz 266 nm-es kimenőnyalábot is kiépítettük, elsősorban UV fotolízishez. A lézer csúcsteljesítménye a négy hullámhosszon rendre 650, 300, 270 és 180 mJ/impulzus.

### 2.2. Excimerlézer

A szintén ns-os, felújított Lambda Physics COMPex 201 excimerlézert az MTA munkatársai telepítették a közös üzemeltetésű laborba. A lézert fotolízishez, elsősorban ArF, KrF és XeF töltettel üzemeltetjük. Az ezeknek a tölteteknek megfelelő lézersugárzás hullámhossza 193 nm, 248 nm, illetve 351 nm. A lézer teljesítménye – ismétlési időtől (1–10 Hz) és töltettől függően – néhány 10, esetleg néhány 100 mJ/impulzus.

### 2.3. Festéklézer

A festéklézerek olyan hangolható lézerek, amelyek oldott fluoreszcens festékek segítségével alakítják át a pumpáló fény hullámhosszát. A megfelelő frekvencia kiválasztása optikai ráccsal és rezonátorüreg segítségével történik. Egy festék tipikusan 10–40 nm szélességű tartományon belül hangolható, nagyobb tartomány átfogásához festékcsere és áthangolás szükséges, amit a felhasználó is viszonylag könnyen el tud végezni

Laboratóriumunkban jelenleg egy csúcstechnikának számító Sirah Precision Scan (PSCAN-LG-18) festéklézer üzemel, amely 532 nm-es és 355 nm lézerfénnyel is pumpálható. A konverzóhatásfoka ~30%, a vonalszélessége 0,06 cm<sup>-1</sup>. A kilépő lézernyaláb frekvenciája nemlineáris optikával kétszerezhető. A jelenlegi optikai felépítésben a lézert 215 és 920 nm között hangolhatjuk. A lézer hangolása teljesen automatizált, a lézert vezérlő szoftver spektroszkópiai alkalmazásokba beépíthető. A közeljövőben nagynyomású H<sub>2</sub>-gázzal töltött Raman-cella segítségével szeretnénk kiszélesíteni a spektrumtartományt, és így átfogni a teljes közeli infravörös régiót is.

### 2.4. Optikai parametrikus oszcillátor (OPO)

Az optikai parametrikus oszcillátorok (OPO-k) szintén hangolható lézerek. Ezek a bejövő lézernyaláb fotonjait egy nemlineáris optikai kristály segítségével két másik fotonra bontják. A két foton energiája megegyezik a belépő foton energiájával, energiájuk (frekvenciájuk) aránya pedig bizonyos határok között tetszőlegesen hangolható. A hangolás a kristály dőlésszögének módosításával és rezonátorüreg segítségével történik. Az OPO-k olcsóbban és nagyobb tartományban hangolhatók, mint a festéklézerek egy adott festékkel. Ezzel szemben vagy a félértékszélességük (azaz felbontásuk), vagy a konverzióhatásfokuk rosszabb, mint a festéklézerek esetében. A nagyfelbontású OPO-k hatásfoka általában gyengébb és kezelésük jóval nehézkesebb, mint a festéklézereké.

Laboratóriumunkat egy könnyen kezelhető, jó hatásfokú (maximális hatásfok ~20%), de közepes (~5 cm<sup>-1</sup>) vonalszélességű GWU-Spectra Physics Versa Scan MB-ULD 240 OPO-val szereltük fel, amelyet 355 nm-es lézersugárral pumpálunk. Az OPO-ból kilépő lézersugár frekvenciája - egy szintén nemlineáris optikai kristállyal működő - GWU uvScan egységgel kétszerezhető. A rendszer jelenleg 213 és 350 nm, valamint 412 és 2800 nm között mikrométercsavarral hangolható. Az egyelőre hiányzó 350 és 412 nm közötti tartomány lefedéséhez, valamint a hangolás automatizálásához szükséges fejlesztést a közeljövőben tervezzük megoldani. A kézi hangolás miatt az OPO-rendszer jelenleg csak fotolízisre alkalmas. A fejlesztés után azonban már kiválóan alkalmazható lesz kisfelbontású (például szilárd- és oldatfázisú, statikus gázcellás, vagy mátrixizolációs) spektrumok felvételére, vagy akár a drágább üzemeltetésű festéklézerrel felveendő nagyfelbontású spektroszkópiai mérések előkísérletéhez is.

### 2.5. ICCD kamera

A detektorok közül kiemeljük a Princeton Instruments PI-MAX3 ICCD kameránkat, amely típus vezető szerepet játszik az érzékenyített CCD-k között. A kamera mérési tartománya 200–900 nm, kvantumhatásfoka a tartomány két szélén 5%, a tartomány közepén 40%. Spektroszkópiai alkalmazásokhoz a kamera egy szintén új beszerzésű, három optikai rácsos Princeton Instruments ARC-SP monokromátorral csatolható.

### 2.6. További eszközök és tartozékok

A laboratórium frissen beszerzett tartozékai között szerepel érzékeny fotoelektron-sokszorozó (Oriel 77348-S PMT), teljesítménymérő (842-PE + 818P), ns-os időzítőegység (Quantum Composers 9514+), digitális oszcilloszkóp (Tektronix TPS2024), elektronikus erősítő, nagyvákumrendszer, jet (fúvóka), optikai szűrők, tükrök, prizmák, lencsék és ezekhez tartozó pozicionáló, és tartó alkatrészek.

Az MTA kutatói által az excimerlézeren felül a közös laboratóriumba telepített eszközök közül a legfontosabbak a nagyfelbontású monokromátorok (Yobin Yvon HR250 és HR640), Xe-lámpák (Oriel 66057), a digitális oszcilloszkóp (Tektronix TDS640A), a fotoelektron-sokszorozók, a helyszínen kiépített "vacuum-line", valamint a számos optikai tartozék.

A fentieken túlmenően az ELTE kutatócsoportok (elsősorban a Molekulaspektroszkópiai Laboratórium) által korábban használt eszközöket (például nagyfeszültségű tápegységet, mátrixizolációs berendezéseket, és FT-IR spektrométert) is bevontunk egyes speciális kísérletekbe.

# 3. Az összeállított kísérleti berendezések és az első eredmények

A jelen közlemény megírásáig (a bevezetőben említett ROA spektrométert leszámítva) három főbb műszeregyüttest építettünk ki. A technikailag legegyszerűbb mátrixizolációs fotokémiai és kinetikai kísérletekről a nemzetközi folyóiratokban már megjelent eredményeink közül a legérdekesebbeket foglaljuk itt össze. A jet-hűtéses lézerspektroszkópiai, valamint a gázfázisú lézeres villanófény-fotolízises kísérletek esetében a kísérleti berendezéseket, a mérési lehetőségeket és az elkezdett kutatási témákat mutatjuk be.

### 3.1. Mátrixizolációs fotokémiai és kinetikai kísérletek

Ahogy azt a 2.4. szakaszban már említettük, a Nd:YAGlézerrel pumpált OPO-rendszer kényelmesen alkalmazható, kiváló fényforrás fotokémiai kísérletekhez. Egyszerű oldat- és gázfázisú fotolízises kísérleteken túl lehetőségünk van arra is, hogy néhány Kelvin hőmérsékleten inert (például Ar, Kr, Xe, vagy N<sub>2</sub>) mátrixba fagyasztott, izolált molekulák fotokémiai átalakulásait vizsgáljuk. (Ezt az ún. mátrixizolációs (MI) technikát egy korábbi közleményben részletesen bemutattuk).<sup>3</sup>

A korábbi mátrixizolációs kísérleteinkben (ld. a másik cikket e folyóirat ugyanebben számában)<sup>4</sup> kisülési lámpák – monokromátorral vagy szűrökkel – szűrt fényét használtuk UV–látható fotolízishez. A nagyobb intenzitású, kisebb sávszélességű, és nagy spektrális tartományban hangolható lézerfény jelentősen kiterjeszti a vizsgálati lehetőségeket. Jelenleg új Xe-vegyületek fotokémiai előállításával is foglalkozunk.<sup>5</sup> Az ezekhez a kísérletekhez alkalmazott műszeregyüttes vázlatát az 1. ábra mutatja be.

66



**1. Ábra.** Az OPO-rendszer elrendezésének sémája mátrixizolációs fotokémiai kísérletekhez. (Az uvScan egység három különböző pozícióban állhat.)

A hangolható közeli-infravörös (NIR) lézersugárzás is új irányt nyitott kutatásainkban. Egy molekula mátrixba fagyott konformerei ugyanis szelektíven átalakíthatók valamelyik másik konformerbe, ha a kiválasztott konformert kis sávszélességű lézersugárzással a konformációs gát közelébe, vagy felette levő rezgési energiaszintre gerjesztjük.6-15 Ezzel a módszerrel nemcsak olyan konformerek hozhatók létre, amelyek a mátrixban eredetileg nem voltak jelen, hanem a mátrixizolációs (MI-IR) spektrumok sávjainak közötti korrelációt vizsgálva az intenzitásváltozása azonos konformerhez tartozó jelek összegyűjthetők. Ez segíti a spektrumok megértését, és lehetővé teszi a konformerek biztos beazonosítását. Ezzel a módszerrel a 2-klórpropinsav<sup>16</sup> és a glicin<sup>17,18</sup> konformereit vizsgáltuk. A glicin kísérleti konformációanalízise azért különösen érdekes, mert korábban sem MI-IR, sem mikrohullámú spektroszkópiai módszerekkel nem sikerült kimutatni minden olyan konformert, amelyet magas szintű elméleti módszerekkel előre jeleztek. (Megjegyezzük, hogy a gyors kifagyasztásnak köszönhetően a mátrixban minden olyan konformer megmarad, és megőrzi a mintaelpárologtatási hőmérsékletéhez tartozó egyensúlyi arányát, amelyet ~5 kJ mol<sup>-1</sup>, vagy nagyobb konformációs gátak választanak el a kisebb energiájú konformerektől, és amelyeknél az alagúteffektussaltörténő visszaalakulástól el lehettekinteni).19



2. Ábra. A glicin *Ip/ttt* konformerének átalakítása *VIn/ttc* konformerré szelektív NIR lézerbesugárzással, és visszaalakulás alagúteffektussal.

A glicin legkisebb energiájú – az irodalomban Ip-vel<sup>20</sup> vagy *ttt*-vel<sup>21</sup> jelölt – konformerének (az OH-rezgés első

felharmonikusának megfelelő) NIR lézerbesugárzásával (lásd 2. ábra) egy korábban nem megfigyelt – *VIn*-vel vagy *ttc*-vel jelölt – konformert sikerült előállítanunk mátrixban, és azt a MI-IR spektruma (lásd 3. ábra) alapján egyértelműen azonosítottuk.<sup>17,18</sup>



**3.** Ábra. Az Ar mátrixba leválasztott glicin IR spektruma (alul); valamint az a különbségi spektrum (felül), ami a *Ip/ttt* konformer OH rezgésének első felharmonikusára ( $2v_{OH} = 6957 \text{ cm}^{-1}$ -re) hangolt lézer besugárzása közben mért spektrum és a lézer kikapcsolása után mért spektrum kivonásával készült. A nyilakkal a rövid élettartamú *VIn/ttc* konformer sávjait jelöltük, amelyek a lézer kikapcsolása után pár perccel teljesen eltűnnek. (A jelöletlen pozitív irányba mutató jelek a glicin más konformereihez tartoznak, míg a lefele mutató jelek az *Ip/ttt* konformerhez. A teljes spektrumot és részleteket lásd a [17] közleményben.)

Abban az esetben, ha a konformerek közötti gátak viszonylag alacsonyak (<10 kJ mol<sup>-1</sup>), akkor a mátrix felmelegítésével a konformerek visszaalakíthatók, sőt a visszaalakulás sebességéből a gátmagasságot is meg lehet kísérletileg becsülni.<sup>19</sup> Érdekesebb azonban az az eset, amikor a magas reakciógát ellenére a konformerek alagúthatással spontán visszaalakulnak. A mátrixizolációs technika ideálisan alkalmazható ilven típusú vizsgálatokra, ugyanis a felmelegítetlen, néhány Kelvin hőmérsékletű mátrixban a klasszikus, reakciógát feletti visszaalakulás általában teljesen gátolt. A mátrixizolációs kísérletek irodalmában számos ilyen vizsgálat található. Ezek közül kiemelhető Räsänennek és munkatársainak a mi kísérleteinkhez technikailag legközelebb álló munkái9-11,22,23 a hangyasav, az ecetsav, és a propionsav cisz (E) és transz (Z) konformerei közötti átalakulásról, valamint Schreiner, Allen, Császár és munkatársaik közleményei a hidroxikarbének alagúthatással történő izomerizációjáról.23-27

A 2-klórpropionsav *cisz*, és a glicin *VIn/ttc* konformere esetében is vizsgáltuk az alagúteffektussal történő visszaalakulás sebességét, és megmértünk a felezési időket.<sup>16-18</sup> (Lásd 4. és 5. ábrákat). A glicin esetében a hangyasav esetén észleltekhez hasonlóan<sup>22</sup> azt találtuk, hogy a 10 K-en mért felezési idő két nagyságrenddel nagyobb N<sub>2</sub> mátrixban, mint Ar-ban.<sup>17,18</sup> Ez annak köszönhető,



4. Ábra. A glicin VIn/ttc konformer legintenzívebb IR sávjának időbeli változása a 6957 cm<sup>-1</sup>-re hangolt lézer bekapcsolása, majd kikapcsolása után a sötét, 10 K hőmérsékletű Ar mátrixban.

hogy а nitrogénmolekula kvadrupólusmomentuma miatt erősebb kölcsönhatásban áll a relatíve nagy dipólusmomentumú VIn/ttc konformerrel, mint a kisebb energiájú, de kisebb dipólusmomentumú konformerekkel. A 2-klórpropionsav esetében a legfontosabb megfigyelésünk szintén összhangban egy korábbi megfigyeléssel<sup>28</sup> - az volt, hogy a mátrix eltérő geometriájú üregeiben izolált molekulák átalakulásának felezési ideje jelentősen eltérhet. Elsők között<sup>16,29</sup> sikerült kimutatnunk azt is, hogy egyes esetekben a visszaalakulás nem írható le egyszerű exponenciális lecsengéssel, hanem - nagy valószínűséggel az eltérő mikrokörnyezetek, a többféle lehetséges reakcióút, az "alagutazást" követő relaxáció, valamint a kétféle izotopomer jelenléte miatt – diszperziós kinetikát<sup>30–32</sup> követ. Érdekes megemlítenünk azt is, hogy az alagúteffektussal történő átalakulások között a glicin VIn/ttc konformerének (Ar-ban, 10 K-en) mért 5 s-os felezési ideje a legkisebb, míg a 2-klórpropionsav cisz konformerének (egyik fajta mátrixüregében, 10 K-en) mért közel két napos felezési ideje a legnagyobb mátrixizolációs technikával meghatározott irodalmi érték.



5. Ábra. A 2-klórpropionsav cisz konformerének az alacsonyabb energiájú transz konformerré való átalakulásának időfüggése 10 K-es, sötét Armátrixban, kétféle mátrixüregben. A kétféle üregben több nagyságrenddel eltér az alagúthatással történő átalakulás felezési ideje.

### 3.1. Jet-hűtéses lézerindukált fluoreszcencia és diszperz fluoreszcencia spektroszkópia

A légkörkémiában és az asztrokémiában fontos szerepet betöltő gyökök és rövid élettartamú specieszek,

valamint biomolekulák vizsgálatához építettük a jethűtéses (fúvókás) lézer-indukált fluoreszcencia (LIF) diszperzfluoreszcencia (LIDF) mérésére alkalmas és berendezésünket, amelynek vázlata a 6. ábrán látható. A jettechnika lényege, hogy a vivőgázzal (általában héliummal) kevert vizsgálandó vegvületet, vagy annak prekurzorát néhány atmoszféra nyomásról egy szűk, néhány tizedmilliméteres résen keresztül nagyvákuumba engediük.<sup>33</sup> Az adiabatikus kiteriesztésnek köszönhetően a vizsgálandó vegyületek néhány Kelvinre hűlnek le. A hűtés nemcsak a transzlációs, hanem a forgási és a rezgési szabadsági fokokat is érinti, így a statikus vagy áramlásos mintatartót alkalmazó berendezésekkel (ilven a következő szakaszban bemutatott kísérleti összeállítás is) nyerhető spektrumokhoz képest egyszerűbb, jobb felbontású, így nagyobb információtartamú, ugyanakkor könnyebben értelmezhető spektrumok vehetők fel. Közvetlen a kiterjesztés után, a spektroszkópiai detektálás előtt a molekulasugarat lézerrel bevilágítva fotolízissel, vagy a jet végére épített elektródák segítségével nagyfeszültségű elektromos kisüléssel is létrehozhatunk reaktív specieszeket.



**6. Ábra.** A jet-hűtéses lézerindukált fluoreszcencia (LIF) és diszperz fluoreszcencia (LIDF) mérőberendezés a festéklézer-rendszer vázlatos rajza. PC: számítógép, MC: monokromátor, PMT: fotoelektron-sokszorozó, GF: optikai szűrő, DO: digitális oszcilloszkóp.

A detektálás történhet úgy, hogy a Nd:YAG-lézerrel pumpált hangolható festéklézerrel (vagy a Nd:YAG-lézerrel pumpált OPO-lézerrel) gerjesztünk, és a lézerfény hullámhosszának függvényében az összes fluoreszcens fotont detektáljuk egy fotoelektron-sokszorozó (PMT) segítségével (LIF). Ez a módszer a vizsgált molekulák vagy gyökök gerjesztett elektronállapotának rezgési és forgási szintjeiről ad információt, a műszerünk esetében >0,06 cm<sup>-1</sup> felbontással. Ha lézerfény hullámhosszát a vizsgált speciesz egy átmenetére hangoljuk, és a fluoreszcens fény intenzitását monokromátor (MC) és ICCD kamera segítségével hullámhossz szerint mérjük (LIDF), akkor az elektronalapállapot rezgési szintjeit térképezhetjük fel, esetünkben néhány cm<sup>-1</sup>–es felbontással.

A tervezés során arra törekedtünk, hogy a világon fellelhető hasonló műszerekhez képest érzékenyebb, jobb jel/zaj viszonyú berendezést állítsunk össze. A műszeregyüttes teszteléséhez és a mérési paraméterek optimálásához a ciklopentanont választottuk. A választás mellett az szólt, hogy a ciklopentanonról jó minőségű LIF spektrum ismert az irodalomból.<sup>34</sup> A laboratóriumunkban felvett első – még a műszerünk felbontásánál nagyobb lépésközben felvett, de már rotációs kontúrt mutató – LIF spektrum egy részlete a 7. ábrán látható. Jelenleg a ciklopentanon (különböző gerjesztésekhez tartozó) LIDF spektrumainak felvételén dolgozunk, amelyek már új információt fognak szolgáltatni a molekula magasan gerjesztett rezgési állapotairól. A magasan gerjesztett rezgési állapotok kísérleti vizsgálata, az elméleti modellek fejlesztésén túl, a légkörben előforduló molekulák kis intenzitású elnyeléseinek megismerése, például a légköri sugárzási mérleg pontosítása miatt is fontos.



 Ábra. A ciklopentanon jet-hűtéses LIF spektrumának részlete. (A spektrum még nem teljesen optimált körülmények között, és nem maximális felbontással készült.)

### 3.3. Gázfázisú fotokémiai és kinetikai vizsgálatok lézeres villanófény-fotolízissel

A bevezetőben említett Környezeti Kémiai-Fizikai Laboratórium MTA alkalmazásában álló kutatóinak vezetésével kiépítettünk egy komplex, lézervillanófényfotolízises mérőrendszert is, amely alkalmas elemi kémiai reakciók, fotokémiai és fotofizikai folyamatok kinetikai vizsgálatára. A berendezés vázlatos rajzát az 8. ábrán mutatjuk be.

Közös kutatásainkban többek között sebességi együtthatókat, fotobomlási kvantumhatásfokot és a gerjesztett molekulák élettartamát határozzuk meg, valamint vizsgáljuk a végbemenő változások molekuláris mechanizmusát. Olyan folyamatokat és jelenségeket vizsgálunk elsősorban, amelyek fontos szerepet játszanak az éghajlatváltozás és a környezet kémiájának komplex kölcsönhatásában és az égések mechanizmusában. A meghatározásra kerülő kinetikai és fotokémiai paraméterek bemenő adatokként szolgálnak légkörkémiai és égési modellekben. Ilyen modelleket használnak levegővédelmi intézkedések tudományos megalapozása céljából, valamint például annak vizsgálatárára, hogyan csökkenthető a nitrogén-oxidok keletkezése a lángokban.

Az 8. ábrán látható berendezésben megkezdtük a metilgyök és hidroxilgyök elemi reakciójának kinetikai vizsgálatát, a detektálási módszerek kidolgozásával. A  $CH_3 + OH$  reakció az egyik legfontosabb elemi reakció az összes szerves anyag égésében, de ennek ellenére a kinetikai sajátságai nem

ismertek kellő pontossággal.<sup>35</sup> A reagáló két szabadgyököt gázfázisban, aceton, illetve salétromsav fotolízisével, egy excimerlézer villanó fényével állítjuk elő. A sebességi együtthatót kinetikai spektroszkópiával határozzuk meg, ms-os időskálán követve a reakció végbemenetelét. A CH<sub>3</sub>gyök koncentrációját fényelnyelése alapján határozzuk meg, amelyhez forrásként Xe-lámpát használunk, detektálásra pedig – monokromátor után – egy fotoelektron-sokszorozót használunk. Az OH-gyök megfigyelését LIF módszerrel végezzük, amelyhez a Nd:YAG-lézerrel pumpált festéklézert (vagy az OPO-rendszert) használjuk fényforrásul.



**8. Ábra.** A lézerlaboratóriumban kiépített lézeres villanófény-fotolízises mérőrendszer. DM: dikroikus tükör, onokromátor, PM1, PM2: fotoelektron-sokszorozók, PC: számítógép, TR: szaggatott jel (trigger), DO1, DO2: digitális oszcilloszkóp, S: jel, BF: optikai szűrő.

A 8. ábrán látható berendezésben, az átáramlásos gázreaktort folyadékküvettára cserélve, vizsgálhatjuk például elektrongerjesztett szerves molekulák relaxációs kinetikáját, a hidrogénkötés hatását a fotofizikai jellemzőkre és fotofizikai folyamatokra, amelyeknek gyakorlati vonatkozásai a környezeti vízkémiához kapcsolódnak.

### 4. Közép és hosszú távú kutatási tervek

A közelmúltban kiépített, és a 3. fejezetben bemutatott, berendezéseken a közeljövőben megkezdjük a légkörkémiához kapcsolódó intenzív spektroszkópiai és kinetikai vizsgálatokat, amelyeket hosszabb távon asztrokémiai szempontból érdekes reakciók (pl. glicin képződése alacsony hőmérsékleten gyökökből) kinetikájának tanulmányozásával is szeretnénk kiegészíteni.

Belekezdtünk biomolekulák – első lépésben az aminosavak – konformereloszlásának és ezek nagyobb energiájú konformereinek élettartamának szisztematikus meghatározásába. Ezeket olyan vizsgálatok követhetik, melyben egy enzimet mímelő modellvegyületben vizsgáljuk az alagúthatás hidrogénatom-transzferben betöltött szerepét. Érdekes lehet a konformerátalakítások enantiomerfüggésének vizsgálata úgy, hogy a besugárzásra cirkulárisan polarizált NIR lézersugárzást, detektálásra pedig rezgési cirkuláris dikroizmus (VCD) spektroszkópiát<sup>1,2,36,37</sup> alkalmazunk.

A műszerfejlesztés területén a 3. fejezetben már vázolt kisebb fejlesztéseken túl szeretnénk további berendezéseket összeállítani. Ezek között a legfontosabb cél egy ún. "rezonátorüregbeli lecsengési" (cavity ringdown, CRD)<sup>38</sup> mérőberendezés összeállítása. Ez a rendkívül érzékeny, modern spektroszkópiai technika lehetővé teszi állófázisú, egyszerű áramlásos vagy jet-beeresztésű mintatérben is nagyon kis mennyiségben jelen levő részecskék kis abszorbanciájú sávjainak észlelését. Ezt a berendezést elsősorban légkörkémiai szennyezők és tranziensek mérésére szeretnénk felhasználni. Hosszú távú terveink között szerepel egy egyedi, VCD és CRD spektroszkópiát ötvöző berendezés is, amely egyedülálló módon királis molekulák gázfázisú vizsgálatára, vagy rendkívül kis koncentrációjú oldatainak vizsgálatára lenne alkalmas.

Reményeink szerint a jövőben a műszerparkunk bővítésére is nyílik még lehetőség. Egy második festéklézer beszerzése utat nyitna a kétfotonos technikák alkalmazásához, így többek között kényszerített emissziós pumpálás (stimulated emission pumping, SEP),<sup>39,40</sup> az IR-UV kettősrezonancia,<sup>41</sup> kétszínű rezonáns többfotonos ionizáció (resonanceenhanched multiphoton ionization, REMPI), és nulla kinetikus energiájú fotoelektron-spektroszkópia (zerokinetic energy photoelectron spectroscopy, ZEKE-PES)<sup>41,42</sup> kísérletek kiépítésére. Intézetünk régi terve az ultragyors, femtoszekundumos kinetikai mérések műszeres hátterének megteremtése is.

A felvázolt terveken felül szeretnénk a lézerlaboratórium lehetőségeit változatosan, minél hatékonyabban és minél szélesebb körben, Intézeten belüli kutatási témákban és Intézeten kívüli együttműködésekben is kihasználni.

### Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönettel tartoznak mindazoknak, akik az ELTE Lézerlaboratóriumának létrehozását támogatták. Különösen köszönik az ELTE TTK volt dékánjának, Michaletzky Györgynek, az MTA TTK főigazgatójának Szépvölgyi Jánosnak, az ELTE TTK Kémiai Intézet volt igazgatójának, a jelenlegi dékánnak, Surján Péternek, valamint az ELTE tudományos rektorhelyettesének, Keszei Ernőnek a segítségét. A szerzők kutatómunkáját az OTKA K75877, K84054 és a TAMOP 4.2.1./B-09/KMR-2010-0003 projektek finanszírozták.

### Hivatkozások

- Hollósi, M.; Knapp, K.; Majer, Zs.; Szilvágyi, G.; Vass, E. Magyar Kémiai Folyóirat, 2012, 118, 145.
- Tarczay, G.; Vass, E.; Góbi, S.; Magyarfalvi, G. Magyar Kémiai Folyóirat, 2013, 119, megjelenés előtt.
- Bazsó, G.; Magyarfalvi, G.; Tarczay, G. Magyar Kémiai Folyóirat 2006, 112, 137–148.
- Krebsz, M.; Bazsó, G.; Pacsai, B.; Május, G.; Tarczay, G.; Pasinszki, T. Magyar Kémiai Folyóirat, 2012,118, 72.
- 5. T. Vörös, BSc szakdolgozat, ELTE, 2012.
- Aspiala, A.; Lotta, T.; Murto, J.; Räsänen, M. J. Chem. Phys. 1983, 79, 4183–4192.
- Reva, I. D.; Jarmelo, S.; Lapinski, L.; Fausto, R. J. Phys. Chem. A 2004, 108, 6982 –6989.
- Marushkevich, K.; Siltanen, M.; Räsänen, M.; Halonen, L.; Khriachtchev, L. J. Phys. Chem. Lett. 2011, 2, 695–699.
- Pettersson, M.; Lundell, J.; Khriachtchev, L.; Räsänen, M. J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 11715–11716.
- Maçôas, E. M. S.; Khriachtchev, L.; Pettersson, M.; Fausto, R.; Räsänen, M. Phys. Chem. Chem. Phys. 2005, 7, 743–749.
- Maçôas, E. M. S.; Khriachtchev, L.; Pettersson, M.; Fausto, R.; Räsänen, M. J. Phys. Chem. A 2005, 109, 3617–3625.

- Lapinski, L.; Nowak, M. J.; Reva, I.; Rostkowska, H.; Fausto, R. Phys. Chem. Chem. Phys. 2010, 12, 9615–9618.
- Reva, I.; Nowak, M. J.; Lapinski, L.; Fausto R. J. Chem. Phys. 2012, 136, 064511-1–8.
- Sharma, A.; Reva, I.; Fausto, R. J. Am. Chem. Soc. 2009, 131, 8752–8753.
- Pettersson, M.; Maçôas, E. M. S.; Khriachtchev, L.; Fausto, R.; Räsänen, M. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 4058–4059.
- Bazsó, G.; Góbi, S.; Tarczay, G. J. Phys. Chem. A 2012, 116, 4823–4032.
- 17. Bazsó, G.; Magyarfalvi, G.; Tarczay, G. J. Mol. Struct. 2012, 1025, 33-42.
- Bazsó, G.; Magyarfalvi, G.; Tarczay, G. J. Phys. Chem. A 2012, 116, 10539-10547.
- 19. Barnes, A. J. J. Mol. Struct. 1984, 113, 161–174.
- 20. Császár, A. G. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 9568-9575.
- 21. Balabin, R. M. Chem. Phys. Lett. 2009, 479, 195-200.
- Lopes, S., Domanskaya, A. V.; Fausto, R.; Räsänen, M.; Khriachtchev, L. J. Chem. Phys. 2010, 133, 144507-1–7.
- Schreiner, P. R.; Reisenauer, H. P.; Pickard, F. C.; Simmonett, A. C.; Allen, W. D.; Mátyus, E.; Császár, A. G. *Nature*, 2008, 453, 906–909.
- Schreiner, P. R.; Reisenauer, H. P.; Ley, D.; Gerbig, D.; Wu, C. H.; Allen, W. D. Science 2011, 332, 1300–1303.
- Gerbig, D.; Reisenauer, H. P.; Wu, C. H.; Ley, D.; Allen, W. D.; Schreiner, P. R. J. Am. Chem. Soc. 2010, 132, 7273–7275.
- Sarka, J.; Császár, A. G.; Schreiner, P. R. Coll. Checz. Chem. Comm. 2011, 76, 654–667.
- Gerbig, D.; Ley, D.; Schreiner, P. R. Org. Lett. 2011, 13, 3526–3529.
- Pettersson, M.; Maçôas, E. M. S.; Khriachtchev, L.; Lundell, J.; Fausto, R.; Räsänen, M. J. Chem. Phys. 2002, 117, 9095–9098.
- 29. Reva, I.; Nowak, M. J.; Lapinski, L.; Fausto, R. J.Chem. Phys. 2012, 136, 064511-1-8.
- Siebrand, W.; Wildman, T. Acc. Chem. Res. 1986, 19, 238–243.
- 31. Skrdla, P. J. J. Phys. Chem. A 2007, 111, 11809-11813.
- 32. Plonka, A. Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. C 2001, 97, 91-147.
- 33. Levy, D. H. Science 1981, 214, 263-269.
- Zhang, J.; Chiang, W.-Y.; Laane, J. J. Chem. Phys. 1993, 98, 6129–6137.
- Turányi, T.; Zalotai, L.; Dóbé, S.; Bérces, T. Phys. Chem. Chem. Phys. 2002, 4, 2568–2578.
- 36. Nafie, L. A. Vibrational Optical Activity: Principles and Applications, Wiley-Blackwell, **2011**.
- Magyarfalvi, G.; Tarczay, G.; Vass, E. Wiley Interdisciplinary Rev.: Comp. Mol. Sci., 2011, 1, 403–425.
- Berden, G.; Engeln R. (szerk) Cavity Ring-down Spectroscopy: Techniques and Applications, Wiley-Blackwell, 2009.
- Hamilton, C. E.; Kinsey, J. L.; Field, R. W. Ann. Rev. Phys. Chem. 1986, 37, 493–524.
- 40. Northrup, F. J.; Sears, T. J. Ann. Rev. Phys. Chem. 1992, 43, 127–152.
- Dessent C. E. H.; Müller-Dethlefs, K. Chem. Rev. 2000, 100, 3999–4022.
- 42. Szepes, L.; Tarczay, G. Photoelectron Spectrometers, fejezet az Lindon, J. C.; Tranter, G. E.; Koppenaal, D. (szerkesztők) Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry c. könyvben, Academic Press, London, 1999.

### The Laser Facility at the Science Faculty of Eötvös Loránd University: First Results and Perspectives

In this communication we present the capabilities of the recently founded laser laboratory at the Science Faculty of ELTE. The aims were to start a modern, flexible and extensible facility for photochemistry, spectroscopy and chemical kinetics research and education. The Faculty has spent about 125 million Hungarian forints (~420 thousand euros) on new instruments and on their placement. The value and potential of the laboratory is greatly enhanced by the cooperation with the Institute of Materials and Environmental Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences (HAS). A joint laboratory (Environmental Chemical Physics Laboratory) was formed and the partners have placed instruments at the laboratory thus sharing lasers, instruments and expertise.

The centerpieces of the laboratory are two high-energy pulsed ns Nd:YAG lasers. The frequency doubled or tripled output of these lasers pump a tunable optical parametric oscillator (OPO) and a high-resolution dye laser or can directly be used for photolysis. A nanosecond excimer laser is also available. From the detectors an intensified CCD camera is worth mentioning. Many other necessary pieces of instrumentation were purchased (monochromator, photon multiplier, digital oscilloscope, electronic amplifier, high vacuum system, molecular jet, optical elements) and contributed by the partners (further monochromators, Xe lamps, high voltage power sources, infrared spectrometer, matrix isolation setup).

The instruments can be grouped into three loose groups. Some results obtained using the matrix isolation photochemistry and kinetics system have already been published.<sup>16,17</sup> Here we used the narrow bandwidth UV or NIR irradiation afforded by the Nd:YAG laser pumped OPO system in the study of matrix isolated species. The schematics of the instrumentation used in these studies are shown on Figure 1.

The availability of tunable near infrared radiation has opened a new avenue for our studies, because the isolated, frozen conformers of a molecule could be selectively transformed into other conformers if we can excite a selected conformer with a narrow bandwidth laser. This method is not only useful to generate previously unidentified conformers, but can be very valuable in identifying and assigning conformer bands based on their changes upon irradiation.

We have studied the conformers of 2-chloropropionic acid and glycine this way.<sup>16,17</sup> In the case of glycine we could unambiguously identify a conformer that was not observed in previous experimental work but was predicted by high-level theoretical calculations. Both in the case of glycine and 2-chloropropionic acid we have observed the tunneling decay of the high-energy conformer. From among the published tunneling rates determined by matrix-isolation spectroscopy, our results include the shortest (5 s, glycine *VIn/ttc* conformer in Ar at 10 K) and the longest (almost two days, a cis conformer of 2-chloropropionic acid at 10 K) half-life.

We have built a setup for jet-cooled laser induced fluorescence (LIF) and disperse fluorescence (LIDF) to observe radicals and

short-lived species important for atmospheric chemistry and astrochemistry. The schematics of the system are shown on Fig. 6.

When designing the system we have put emphasis on sensitivity and the signal-to-noise ratio. The instrument assembly is undergoing testing and optimization at the moment using cyclopentanone. We already could reproduce the LIF spectra, and we plan to collect LIDF spectra shortly. These and similar measurements would yield novel information about highly excited vibrational states that are important for mapping accurate low intensity atmospheric absorptions and for benchmarking novel theoretical results.

Led by the researchers from the Institute of HAS a complex flash laser photolysis system was also built in the lab. This is suitable for the kinetic study of elementary chemical reactions and photochemical processes. We hope to determine rate constants, quantum yields and excited state lifetimes.

The work with the flash laser photolysis system has been started on the study of the elementary reaction between methyl radical and hydroxyl radical, one of the most important elementary reactions during combustion of organic matter. However important, accurate kinetic parameters for this reaction were not measured so far. The reactants can be formed via laser flash photolysis with an excimer laser beam from acetone and nitric acid. The rate constant can be determined in kinetic spectroscopy measurements on ms time scale.

Our plans for the near future include the intensive spectroscopic study of other reactions important in atmospheric chemistry and in the long run in astrochemistry (such as the formation of glycine at low temperatures). We started a systematic experimental study on the conformer distributions of amino acids and on the lifetimes of their higher energy conformers. We plan to follow up this work with studies on the importance of tunneling in hydrogen transfer reactions – in enzyme-mimicking compounds for example.

Planned instrumental developments focus on the use of circularly polarized lasers in the study of chiral transformations. Another intention is to assemble a cavity ringdown (CRD) spectroscopy setup to observe species and transients in low concentrations. A unique opportunity could arise with the combination of CRD with chiral spectroscopy methods. Many two-photon spectroscopic techniques would become available with another dye laser, but that would need considerable further investment.

The authors are gladly obliged to acknowledge the contributions from the funding agencies (OTKA K75877, K84054 and TAMOP 4.2.1./B-09/KMR-2010-0003) and the many individuals involved in the formation of the new laboratory.

# Nitril-szulfidok és nitril-szelenidek előállítása és spektroszkópiai jellemzése mátrixizolációs technikával

KREBSZ Melinda,<sup>a</sup> BAZSÓ Gábor,<sup>a</sup> PACSAI Bálint,<sup>b</sup> MÁJUSI Gábor,<sup>b</sup> TARCZAY György<sup>a,\*</sup> és PASINSZKI Tibor<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup>Molekulaspektroszkópiai Laboratórium, ELTE Kémiai Intézet, Pázmány P. s. 1/a, 1117 Budapest, Magyarország

<sup>b</sup>Fizikai Fémorganikus Kémiai Laboratórium, ELTE Kémiai Intézet, Pázmány P. s. 1/a, 1117 Budapest, Magyarország

### 1. Bevezetés

A nitril-szulfidok (X–C $\equiv$ N $\rightarrow$ S) és a nitril-szelenidek (X–C $\equiv$ N $\rightarrow$ Se) olyan rokon vegyületek, melyeknek várhatóan nem csak szerkezete, hanem kémiai tulajdonságai is hasonlóak lesznek. Noha nitril-szulfidokat évtizedek óta használnak, mint reaktív intermediereket a szerves kémiában,<sup>1–3</sup> nitril-szelenidekről még igen keveset tudunk, és gyakorlati felhasználásuk még nem ismert.<sup>3</sup>

A nitril-szulfidok instabil vegyületek, melyeket tiszta állapotban nem lehet izolálni.<sup>1-3</sup> Létezésük első közvetett bizonyítékát 1970-ben szolgáltatták,4 és az azt követő évtizedekben számos módszert dolgoztak ki nitril-szulfidok oldatban történő in situ előállítására.1-3 ami lehetővé tette, hogy felhasználják őket különféle cikloaddíciós reakciókban heterociklusos vegyületek szintézisére. Ezek a szerves kémiai reakciók, illetve az izolált cikloadduktok szolgáltatták a legtöbb közvetett bizonyítékot a nitrilszulfidok létezésére. Szerkezetüket kísérleti módszerekkel még nem határozták meg, mivel nem lehetett őket tiszta szilárd állapotban előállítani. Jelenleg még olyan módszerek sem ismertek, melyekkel gázfázisba vihetők lennének spektroszkópiai vizsgálatokhoz szükséges koncentrációban. Kísérleti munkáink megkezdése előtt csupán két nitril-szulfid (PhCNS és CH<sub>3</sub>CNS)<sup>5,6</sup> létezését bizonyították mátrixizolációs IR (MI-IR) és UV (MI-UV) spektroszkópiai módszerekkel.

Nitril-szelenideket eddig még nem sikerült oldatban előállítani,<sup>7</sup> így létezésükről közvetett preparatív kémiai bizonyítékok sincsenek. A benzonitril-szelenid (PhCNSe) létezését mátrixizolációs IR és UV spektroszkópiai módszerekkel igazolták 1977-ben.<sup>7</sup>

Kísérleti megfigyelések<sup>2,3</sup> és elméleti kémiai számítások<sup>3,8</sup> arra utalnak, hogy a nitril-szulfidok és a nitril-szelenidek instabilitása a molekulák között lejátszódó reakciókra vezethető vissza, így ezek a molekulák várhatóan jól kezelhetők és tanulmányozhatók olyan körülmények között, ahol a bimolekuláris reakciók gátoltak. Ebből a szempontból tehát ideális a mátrixizolációs technika alkalmazása, ahol egy hideg inert mátrix lehetővé teheti a reaktív anyagok viszonylag hosszú ideig történő tárolását és spektroszkópiai azonosítását.

Kutatómunkánk célja olyan módszerek kidolgozása volt, melyekkel nitril-szulfidok és nitril-szelenidek állíthatók

elő nemesgáz mátrixban, valamint az előállított vegyületek spektroszkópiai azonosítása. Ebben a közleményben az elmúlt négy év kutatási eredményeit foglaljuk össze, melynek részletei már megjelentek angol nyelvű közleményekben.<sup>9–12</sup>

### 2. Műszeres háttér

Mind a mátrixizolációs technikáról, mind az ELTE mátrixizolációs laborjáról beszámoltunk már e folyóirat korábbi számában,<sup>13</sup> így ezeket csak röviden ismertetjük. A nitril-szulfidok és a nitril-szelenidek vizsgálata során használt műszereket és a legfontosabb kísérleti és mérési paramétereket a 2.3. fejezetben írjuk le.

### 2.1. A mátrixizolációs technika

A mátrixizolációs technikát Pimentel és munkatársai dolgozták ki az 1950-es években.14 A módszer lényege az, hogy a vizsgálandó mintát - vagy egy prekurzort gázfázisban nagy hígításban (1:≥1000) inert gázzal legtöbbször nemesgázzal – elegyítik, majd ezt spektroszkópiailag áteresztő (pl. IR spektroszkópia esetében többnyire CsI, UV spektroszkópia esetében általában kvarc), néhány K-re (Ar esetében < 14 K-re) hűtött ablakra fagyasztják. Mivel az inert, rideg mátrixban a diffúzió gátolt, a reaktív anyagok akár napokig is vizsgálhatók. Az inert gyököket és molekulákat vagy mintabevitel közben (például kisüléssel, pirolízissel), vagy a leválasztott mátrixban (például fotolízissel, in situ) lehet előállítani. A mátrixizolációt ma már szélesebb körben is alkalmazzák, mivel az elhanyagolható intermolekuláris kölcsönhatások miatt a mátrixban felvett spektrumok jó felbontásúak. Ezek a spektrumok jobban egyeznek a kvantumkémiai számításokkal, mint az oldatban mért spektrumok, továbbá a jó felbontás lehetővé teszi konformációs eloszlások vizsgálatát is. Széles körben alkalmazzák a mátrixizolációt gyenge, például hidrogénkötéses komplexek vizsgálatára is.

# 2.2. Az ELTE mátrixizolációs laboratórium felszerelése és kísérleti berendezései

Az első mátrixizolációs berendezésünket 2004-ben építettük, amelynek főbb egységei: egy zárt körös, 8 K-ig hűthető CTI M22 He-kriosztát kriosztát, amelyet egy CTI 8200-as kompresszor hajt meg; egy Si-dióda mérőfejes Lake Shore 321 hőszabályzó egység, amelynek segítségével a kriosztát

<sup>\*</sup>Tel.: +36 1 372 2500/1611; fax: +36 1 372 2592; e-mail: pasinszki@chem.elte.hu; Tel.: +36 1 372 2500/6587; fax: +36 1 372 2592; e-mail: tarczay@chem.elte.hu.

<sup>118.</sup> évfolyam, 2-4. szám, 2012.

végére szerelt ablaktartó ("hidegujj") hőmérséklete néhány tized fok pontossággal szabályozható; mintabeeresztők; egy mintaelőkészítő "vákuum-line"; valamint egy nagyvákuumrendszer. 2011-ben egy második, hasonló mátrixizolációs készüléket is építettünk, és egy ugyancsak 8 K-ig hűthető, Air Products Displex DE 202 kriosztáttal felszerelt komplett mátrixizolációs berendezést is kaptunk nyugdíjba vonult német kollégánktól, Dr. Werner Klotzbüchertől.

A berendezésekhez számos mintabeeresztő-rendszer csatlakoztatható. Illékony minták esetében a megfelelő arányú gázelegyet a "vákuum-line"-ban keverjük ki. Kevésbé illékony szilárd minták esetében saját tervezésű Knudsen-cellát használunk. Ebben az esetben a párolgás sebességét szükség esetén kvarckristály-mikromérleggel ellenőrizhetjük. Még kevéssé illékony mintákhoz építés alatt áll egy electrospray mintabeeresztő-rendszer. Konformációs vizsgálatokhoz ("konformációs hűtéshez") impulzus üzemű fúvókát ("jet"-et) használhatunk. Gyökök és instabil molekulák lefagyasztás előtti előállítására egy saját építésű pirolízises mintabeeresztő fúvóka szolgál.

*In situ* fotolízishez higany- és xenon-lámpákat használunk, amelyeknek megfelelő hullámszámú vonalát, vagy sugárzási tartományát interferenciaszűrőkkel, vagy monokromátorral választjuk ki. 2012-től az ELTE Lézerlaboratóriumának hangolható lézerei (lásd másik közleményt e folyóirat ugyanebben a számában)<sup>15</sup> is rendelkezésünkre állnak, amelyek nemcsak szelektívebb fotolízisre adnak lehetőséget, hanem ezekkel az UV és a látható tartományon kívül a közeli-infravörös tartomány is vizsgálható.

spektroszkópiai vizsgálatokhoz részben Α а Molekulaspektroszkópiai Laboratórium fenntartásában, ELTE Kémiai Intézet Kiroptikai részben az Szerkezetvizsgáló Laboratóriumával együttműködésben - rendelkezésünkre állnak UV-VIS spektrométerek (Ocean Optics HR2000, Varian Cary3E, Perkin Elmer 330 és 320) FT-IR spektrométerek (Bruker IFS 28, Bruker IFS 55, Bruker Equinox 55, Perkin Elmer 1720), egy FT-Raman spektrométer (FRA 106/S), valamint egy rezgési cirkuláris dikroizmus (VCD) spektrométer egység (Bruker PMA 75). Közeljövőben tervezzük megoldani a 2012-ben Intézetünkbe került diszperziós Raman/ROA (ChiralRaman 2x) készülék "csatolását" is mátrixizolációs berendezéseinkkel.

# 2.3. A nitril-szulfidok és nitril-szelenidek előállításához használt eszközök

Az itt bemutatott méréseket a 2004-ben épített mátrixizolációs berendezésen mértük. A levegőmentesített prekurzorokat vagy 1:1000 arányban előkevertük a "vákuum-line"-ban argonnal (Messer, 99.9997%), vagy kriptonnal (Messer, 99.998%), vagy – kevéssé illékony minták esetében – megfelelő hűtést alkalmazva közvetlenül a hidegujj előtt elegyítettük a nemesgázzal. A keveréket IR méréshez 8 K-es CsI-ablakra, míg UV méréshez 12 K-es kvarcablakra fagyasztottuk le. Az egyenletes áramlási sebességet egy MKS áramlásszabályzóval tartottuk 0,3 sccm (kvarcablakhoz), illetve 1,2 sccm (CsI-ablakhoz) értéken.

254, 313 és 365 nm-es fotolízishez egy Cathodeon HPK 125 W higanylámpát és megfelelő 10 nm félértékszélességű Melles Griot interferenciaszűrőket alkalmaztunk. A 280 nm-es fotolízishez egy Oriel 66057 xenonlámpát és kb. 20 nm félérték-szélességű szűrőket használtunk. Szélessávú UV fotolízis esetében a fenti lámpákat szűrők nélkül alkalmaztuk.

Az IR spektrumokat Bruker IFS 55 Fourier transzformációs IR készüléken mértük. A mérésekhez KBr sugárosztót és piroelektromos (DTGS) detektort használtunk. A 400–4000 cm<sup>-1</sup> tartományban 250–1000 darab 1 cm<sup>-1</sup>–es spektrális felbontásnak megfelelő interferogramot átlagoltunk.

Az abszorpciós UV spektrumokat a 190–400 nm tartományban Varian Cary3E spektrométeren vettük fel, 5 nm min<sup>-1</sup> léptetési sebességet és 0.333 nm lépésközt alkalmazva. A műszerfelbontás 1 nm volt.

Az emissziós (kemilumineszcenciás) UV spektrumokat üvegszáloptikás Ocean Optics HR2000 spektrométeren vettük fel, 3 másodperces adatgyűjtési időt alkalmazva.

### 3. A prekurzorok előállítása

A prekurzorok közül csak a 3,4-diklór-1,2,5-tiadiazol kapható kereskedelmi forgalomban (Aldrich). A többi tiadiazol és a szelenadiazol származékot irodalmi receptek alapján állítottuk elő. A 3,4-difluor-1,2,5-tiadiazol előállítása a diklór-származék és KF reakciójával történt.<sup>16</sup> A 3,4-diciano-1,2,5-tiadiazolt diaminomaleonitril és tionil-klorid reakciójával állítottuk elő.<sup>17</sup> Az 1,2,5-tiadiazol és a 3,4-dimetil-1,2,5-tiadiazol előállítása etiléndiamin-dihidroklorid és S<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, illetve dimetilglioxim és S<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> reakciójával történt.<sup>18</sup> Az 1,2,5-szelenadiazolt,<sup>19</sup> a 3,4-dimetil-1,2,5-szelenadiazolt,<sup>20</sup> és a 3,4-diciano-1,2,5-szelenadiazolt<sup>21</sup> etiléndiamin, dimetilglioxim, illetve diaminomaleonitril és SeO, reakciójával állítottuk elő.

# 4. Nitril-szulfidok és nitril-szelenidek szerkezete és stabilitása (kvantumkémiai számítások)

Eddig még egyetlen nitril-szulfid, vagy nitril-szelenid szerkezetét sem határozták meg kísérleti módszerekkel, így a kvantumkémiai számítások különösen fontosak e molekulák szerkezetvizsgálata során. Az irodalomból ismert, hogy a nitril-szulfidokhoz és a nitril-szelenidekhez hasonló szerkezetű telítetlen rendszerek esetén (pl. nitril-oxidok)<sup>22</sup> a dinamikus elektronkorreláció pontos leírása elengedhetetlen, ezért a számítások során magas szintű számítási módszerek használatára van szükség. Mivel tesztszámításaink azt mutatták, hogy a vizsgált molekulák elektronszerkezete leírható úgynevezett egyreferencia módszerek használatával (részletesen lásd a [10,11] irodalmakat), a kvantumkémiai számítások során a CCSD(T) módszert használtuk.

Számításaink alapján csaknem minden vizsgált molekulának (HCNS, CICNS, NCCNS, CH<sub>3</sub>CNS, HCNSe, CH<sub>3</sub>CNSe és NCCNSe) lineáris váza van, kivéve az FCNS-t.<sup>3,9–12</sup> Az FCNS kétszeresen hajlott transz molekula (FCN szög 133,6°, CNS szög 166,4°) és a linearitáshoz vezető energiagát 1750 cm<sup>-1</sup>. Ha a CN és NS, illetve NSe kötéshosszakat olyan molekulák kötéshosszaihoz hasonlítjuk, melyeknek tipikus kettes és hármas CN, egyes és kettes NS, valamint egyes és kettes NSe kötése van (H<sub>2</sub>C=NH/HC=N, H<sub>2</sub>N–SH/HN=S, H<sub>2</sub>N–SeH/

HN=Se), a CN kötés közel van a hármas kötéshez, az NS és az NSe kötés pedig az egyes és kettes kötés között van. A Gordy szabály<sup>23</sup> alapján számított kötésrendek a CN kötésre 2,6 és 3,0, az NS és NSe kötésre 1,4 és 1,9 között vannak (lásd a [10,12] irodalmakat). Valamennyi vizsgált molekulának zárthéjú szinglett elektronszerkezete van alapállapotban. A legalacsonyabb energiájú gerjesztett triplett állapot energiája például a CH<sub>3</sub>CNS esetén 216, a HCNSe esetén pedig 172 kJ mol<sup>-1</sup>-el magasabb, mint a szingletté.

A nitril-szulfidok és nitril-szelenidek stabilitását megszabja, hogy milyen aktiválási energiát igénylő unimolekuláris (kötés felszakadással járó, izomerizációs), vagy bimolekuláris reakciók játszódhatnak le az adott körülmények között. Ezekben a molekulákban a leggyengébb kötés az N–S, illetve az N–Se kötés. Számításaink alapján az N–S kötés disszociációs energiája 215–230 kJ mol<sup>-1</sup>, az N–Se kötésé pedig 174–188 kJ mol<sup>-1</sup> ( $\Delta G^{\circ}_{0 \text{ K}}$ ). Az FCNS molekulában a legkisebb aktiválási energiát igénylő izomerizációs folyamat aktiválási energiája 256 kJ mol<sup>-1</sup>, a CH<sub>3</sub>CNS molekulában pedig 142 kJ mol<sup>-1</sup>. Ezek az energiagátak elég nagyok ahhoz, hogy meggátolják a molekulák bomlását, vagy izomerizációját szobahőfokon, vagy kissé emelt hőmérsékleten.

A nitril-szulfidok bimolekuláris reakcióit a CH<sub>3</sub>CNS esetén tanulmányoztuk, MR-AQCC(2,2) számításokat felhasználva.<sup>11</sup> Hat darab kis aktiválási energiájú (50–57 kJ mol<sup>-1</sup>) bimolekuláris reakcióutat azonosítottunk, melyek közül a legkisebb aktiválási energiát az a folyamat igényli, ahol a két nitril-szulfid molekula a kénatomoknál kapcsolódik az átmeneti állapotban (XCNS SNCX), és két nitril, valamint egy S<sub>2</sub> molekula keletkezik egyszerre. Az S<sub>2</sub> molekula reaktív, és valószínűleg részt vesz további bimolekuláris reakciókban, amely a nitril-szulfidok bomlásához vezet. Ez összhangban van korábbi kísérleti megfigyelésekkel is.<sup>1–3</sup> A bimolekuláris reakcióhoz vezető energiagát már elég kicsi ahhoz, hogy megmagyarázza a nitril-szulfidok instabilitását oldatban, vagy tiszta állapotban szobahőfokon.

A kvantumkémiai számítások tehát arra utalnak, hogy a nitril-szulfidok és a nitril-szelenidek stabilak szobahőfokon, vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten olyan kísérleti körülmények között, ahol a molekulák közötti reakció gátolt. Alacsony hőmérsékletű, inert szilárd mátrixban való előállításuk és azonosításuk tehát várhatóan megvalósítható.

### 5. Nitril-szulfidok és nitril-szelenidek előállítása Ar mátrixban

Az 1,2,5-tiadiazolok  $(X_2C_2N_2S)$  és az 1,2,5-szelenadiazolok  $(X_2C_2N_2Se)$  olyan heterociklusos vegyületek, melyek tartalmazzák az XCNS illetve az XCNSe fragmenst, és egy nitril (XCN) kihasításával feltételezhetően elállítható belőlük nitril-szulfid, illetve nitril-szelenid. A nitrilek nem abszorbeálnak az általunk vizsgált – 190 és 400 nm közötti – UV tartományban, és IR aktivitásuk is igen kicsi. Az 1,2,5-tiadiazolok és az 1,2,5-szelenadiazolok tehát ideális prekurzornak tűntek nitril-szulfidok és nitril-szelenidek előállítására.

A kiindulási anyagként használt tiadiazolok a 225–275 nm és a szelenadiazolok a 250–320 nm UV tartományban abszorbeálnak (lásd szürke spektrumok az 1. ábrán). A tiadiazolok szelektív fotokémiai bontására ennek megfelelően 254 nm hullámhosszú UV fényt, a szelenadiazok bontására pedig a molekulától függően 254, 280, vagy 313 nm hullámhosszúságú UV fényt használtunk. A fotolízis után mért MI-UV spektrumok az 1. ábrán (fekete spektrumok), míg a fotolízis után és a fotolízis előtt mért MI-IR spektrumokból számított különbségi spektrumok a 2. ábrán láthatók.



**1.** Ábra. A prekurzor tiadiazolok és szelenadiazolok ( $X_2C_2N_2Y$ , szürke), valamint a prekurzorokból szűrt UV fotolízissel kapott nitril-szulfidok és nitril-szelenidek (XCNY, fekete) MI-UV spektruma Ar mátrixban. a: X=H, Y=S; b: X=CH<sub>3</sub>, Y=S; c: X=F, Y=S; d: X=H, Y=Se; e: X=CH<sub>3</sub>, Y=Se; f: X=NC, Y=Se. Az NCCNSe (f) esetében az alkalmazott 313 nm-es sugárzás hatására a kiindulási anyag mellett a termék is bomlik, ezért ebben az esetben csak részben fotolizáltuk el a prekurzort, az (f) ábrán bemutatott NCCNSe spektrum a részben fotolizát prekurzor és a fotolizálatlan prekurzor Ar mátrixban felvett spektrumának kivonásával készült.

Az UV spektroszkópiai vizsgálatok alapján (1. ábra) látható, hogy a tiadiazolok (X= H, F, CH<sub>3</sub>) és szelenadiazolok (X= H, CH<sub>3</sub>, CN) szelektív hullámhosszú fotolízise során új anyag keletkezik. Ez az anyag elbomlik a higanygőzlámpa szűretlen fényére. Az 1. táblázatba kigyűjtött kísérleti és számított anharmonikus frekvenciák, valamint a kísérleti és számított relatív intenzitások közötti kiváló egyezés bizonyítja, hogy a szűrt UV fénnyel történt fotolízis hatására valóban a megfelelő nitril-szulfid, illetve nitril-szelenid képződött. Megemlítjük, hogy a dikloro- és diciano-1,2,5-tiadiazol 254 nm-es fotolízisével nem tudtunk nitrilszulfidot előállítani. A diklór-származék esetén eddig még nem azonosított anyagok, a diciano-származék esetén pedig valószínűleg dicián keletkezik a fotolízis során.

Az XCNY (Y=S, Se) vegvületek mellett a melléktermékként képződő XCN vegvületek nagyságrendekkel kisebb moláris elnyelésű IR sávjait is azonosítottuk a jó jel/zaj viszonyú IR spektrumokban (2. ábra). Mivel az XCN és a XCNY vegyületek a mátrixban egy üregben képződnek, ezért a két molekula közötti kölcsönhatás miatt az általunk mért XCN sávok pozíciója néhány hullámszámmal eltér az Arban tisztán izolált XCN molekulák irodalmi értékétől. A HCN/HCNS molekulák esetén az Ar mátrix 25 K-re történő melegítésekor (ilyenkor az Ar mátrix fellazul, megindul a diffúzió) hidrogénkötésű HCN HCNS komplex képződését is észleltük. A komplexálás hatására a HCNS HC nyújtási sávja – a számított 130 cm<sup>-1</sup>-gyel jó egyezésben – 134 cm<sup>-1</sup>gyel lejjebb tolódik. Az a kísérleti tény, hogy a HCN-HCN dimerben a H-donor HCN molekula HC nyújtási sávja csak 101 cm<sup>-1</sup>-gyel kisebb hullámszámnál jelenik meg.<sup>24</sup> mint a szabad HCN molekulában, azt mutatja, hogy a HCNS erősebb sav, mint a HCN.



2. Ábra. A prekurzorok  $(X_2C_2N_2Y)$  szűrt UV fénnyel történt fotolízise után és a fotolízise előtt rögzített spektrumainak egymásból történt kivonásával nyert spektrumok. A különbségi spektrumok a nitril-szulfidok és a nitril-szelenidek MI-IR spektrumát mutatják. (A prekurzorok sávjai lefelé, a termékekéi pedig felfelé mutatnak. a: X=H, Y=S; b: X=CH<sub>3</sub>, Y=S; c: X=F, Y=S; d: X=H, Y=Se; e: X=CH<sub>3</sub>, Y=Se; f: X=NC, Y=Se).

Már rövid szélessávú UV sugárzás hatására is teljesen eltünnek a nitril-szulfidokhoz és nitril-szelenidekhez rendelhető sávok a MI-UV spektrumokban. Új sáv megjelenése egyik esetben sem észlelhető. Hasonlóan ehhez, a MI-IR spektrumok esetében is azt észleltük, hogy a nitrilszulfidok és nitril-szelenidek sávjai eltűntek, és – egyéb melléktermékek nagyon kis intenzitású sávjait leszámítva csak XCN molekulák azonosíthatók a szélessávú UV fotolízis után. Mindezekből arra lehet következtetni. hogy a szűretlen UV-fény hatására S- és Se-atomok szakadnak le az XCNY molekulákról. Ezt a feltételezést egyértelműen alátámasztja az, hogy a nitril-szulfidok szélessávú UV fotolízise után a mátrixot felmelegítve erős kékszínű lumineszcens sugárzást észleltünk, amelynek spektruma (lásd 3. ábra) független az X-szubsztituenstől. Ez a kemilumineszcens sugárzás a kénatomok egymás közötti reakciójának köszönhető, amely során gerjesztett S,-molekulák képződnek, majd ezek sugárzással kerülnek alapállapotba. Ugyanezt – az  $\tilde{B}^{"3}\Pi_{u} \rightarrow \tilde{X}^{3}\Sigma_{g}^{-}$  átmenetként azonosított - sugárzást észlelte Wurfel és Pimentel, amikor



**3.** Ábra. A CH<sub>3</sub>CNS (a), HCNS (b) és FCNS (c) Ar mátrixban történő szélessávú UV fotolíze után, a mátrix felmelegítése közben észlelet kemulimineszcencia spektrumok, valamint a Wurfel és Pimentel<sup>25</sup> által észlelt  $2S \rightarrow S_2$  reakció során szintén Ar mátrixban mért kemulimineszcencia spektrumok (d és e).

az Ar mátrixban izolált OCS molekulák fotolízise után a mátrixot felmelegítette (lásd 3. ábra).<sup>25</sup> Az eddigiekben tárgyalt kísérleti megfigyeléseket a 4. ábrán bemutatott reakcióséma összegzi. Az FCNS molekula vizsgálata során további érdekességeket is tapasztaltunk. Az izolált FCNS-t az első abszorpciós sávjával átfedő (lásd 1. ábra) 365 nm-es UV fénnyel besugározva ugyanis mind az MI-UV, mind az MI-IR spektrumban jelentős változást észleltünk. A mért és számított IR spektrumok alapján egyértelműen bizonyítható (lásd 5. ábra), hogy 365 nm-es fotolízis hatására 3-tagú gyűrűs FC(NS) vegyület képződik. Ez a megfigyelés az első egyértelmű bizonyíték CNS-gyűrűt tartalmazó vegyületek létezésére.

Még érdekesebb kísérleti észlelés volt az, hogy az FC(NS) 254 nm-es fénnyel visszaalakítható FCNS-sé, azaz két különböző hullámhosszú fénnyel besugározva a gyűrű nyitható, illetve csukható. Ezt a megfigyelést – az Elméleti Kémiai Laboratórium munkatársaival együttműködésben – elméleti kémiai számításokkal értelmeztük.<sup>26</sup> Ezek a számítások megmutatták, hogy a fotokémiai reakció mindkét irányban kónikus metszéseken keresztül megy végbe.

<b>1. Tablazat.</b> Nitrii-szulfidok és nitrii-szelenídek szamított" és Ar matrixban mert IR elnyeles
---

XCNY	v(X–C)	v(C≡N)	v(N-Y)	β(CNY)	β (XCN)	CH <sub>3</sub> /N≡C szubsztituens csoport rezgései			
<b>HCNS</b> <sup>b</sup>	3288	2035	707	405					
	[3306 (353)]	[2020 (403]	[718 (69)]	[400 (42)]	[284 (18)]				
FCNS <sup>c</sup>	1132, 1129	1978, 1976	737, 733		450				
	[1130 (488)]	[1914 (69)]	[757 (96)]	[298 (1)]	[447 (110)]				
				[220 (55)]					
CH <sub>3</sub> CNS <sup>d</sup>	1005, 1001	2240, 2237	565			2926	1413; 1346		
	[1006 (78)]	[2230 (383)]	[580 (38)]	[413 (1)]	[162 (2)]	[2940 (12)];	[1444 (18)]; [1382 (8)]		
						[2984 (2)]	[1030 (3)]		
HCNSe <sup>e</sup>	3284	2047, 2045	504, 500, 496						
	[3309 (318)]	[2016 (382)]	[497 (55)]	[348 (45)]	[439 (73)]				
CH <sub>3</sub> CNSe <sup>e</sup>	1028, 1027, 1025	2253, 2251				2926	1431; 1364		
	[958 (33)]	[2282 (293)]	[394 (21)]	$[382^{f}(3)]$	$[142^{f}(4)]$	[2937 (7)];	[1483 <sup>f</sup> (19)]]; [1382 (8)]		
						[3134 <sup>f</sup> (0.5)]	[1051 <sup>f</sup> (4]]		
NCCNSe <sup>e</sup>	1022, 1014, 1005	2103, 2094				2232, 2221, 2216			
	[995 (60)]	[2087 (355)]	[398 (30)]	[350 (18)]	[96 (8)]	[2222 (671]	[412 (1)]		

<sup>a</sup> A számított eredmények szögletes zárójelben vannak. A kerek zárójel a számított IR intenzitásokat tartalmazza km mol<sup>-1</sup> mértékegységben.

<sup>b</sup> Az anharmonikus hullámszámokat a CCSD(T)/TZ szinten számított harmonikus hullámszámok és a CCSD/TZ szinten számított anharmonikus korrekciók összegeként kaptuk.

<sup>c</sup> Az anharmonikus hullámszámokat a CCSD(T)/TZ szinten számított harmonikus hullámszámok és a B3LYP/TZ szinten számított anharmonikus korrekciók összegeként kaptuk.

<sup>d</sup> Az anharmonikus hullámszámokat a CCSD(T)/cc-pVTZ szinten számított harmonikus hullámszámok és a B3LYP/cc-pVTZ szinten számított anharmonikus korrekciók összegeként kaptuk.

<sup>e</sup> Az anharmonikus hullámszámokat a CCSD(T)/aug-cc-pVTZ szinten számított harmonikus hullámszámok és a CCSD(T)/cc-pVTZ szinten számított anharmonikus korrekciók összegeként kaptuk.

f Harmonikus hullámszám.







5. Ábra. Az FCNS-t tartalmazó Ar mátrix 365 nm-en történt besugárzása előtt és után mért MI-IR spektrumok különbsége (a), valamint az FCNS és az FC(NS) számított IR spektruma (b).



 Ábra. Az FCNS fotokémiai előállítása, izomerizációja és bomlása Ar mátrixban, 8 K-en.

### 6. Összefoglalás és kitekintés

А nitril-szulfidok reaktív intermedierek, amelyek cikloaddíciós különösen reakciói fontosak olyan heterociklusos vegyületek előállításában, melyek aromás gyűrűje tartalmazza a CNS egységet.<sup>1,2,3</sup> Preparatív kémiai jelentőségük következtében a kutatók a jövőben is nagy figyelmet fognak fordítani arra, hogy új nitril-szulfid származékokat állítsanak elő, vagy új prekurzorokat és reakcióutakat keressenek ezen vegyületek előállítására. A nitril-szelenidek, hasonlóan a nitril-szulfidokhoz, ígéretes intermedierek cikloaddíciós reakciókban, azonban a nitrilszelenidekről még keveset tudunk. Kutatásaink fontos eredménye, hogy módszert dolgoztunk ki új nitril-szulfidok és nitril-szelenidek előállítására, melyek alapját képezhetik ezen vegyületek oldatban történő előállításának, és az azt követő preparatív kémiai felhasználásának.

Három nitril-szulfidot  $(X = H, F, CH_3)$  és három nitrilszelenidet  $(X = H, CH_3, CN)$  állítottunk elő mátrixizolációs technikával a megfelelő 1,2,5-tiadiazolok, valamint a megfelelő 1,2,5-szelenadiazolok szelektív hullámhosszú UV fotolízisével. Azonosítottuk a vegyületeket UV és IR spektroszkópiával, valamint értelmeztük a spektrumokat. Vizsgáltuk ezeknek a molekuláknak a fotokémiai stabilitását, ami azt mutatta, hogy szűretlen UV fény hatására nitrilre és kén-, illetve szelénatomra bomlanak. Számítottuk a vegyületek egyensúlyi szerkezetét kvantumkémiai módszerekkel, melyek alapján a vizsgált molekuláknak, az FCNS kivételével, lineáris XCNY váza van.

Kutatásaink egyik érdekessége volt az FCNS↔FC(NS) "molekuláris kapcsoló" felfedezése. Vizsgálni kívánjuk a jövőben a nitril-szulfidok átalakíthatóságát ezen az úton tiazirin-származékokká, és vissza. A szelénvegyületekkel végrehajtható analóg reakciók ugyancsak érdekesnek igérkeznek.

Érdemes megjegyezni, hogy a HCNS és izomerei asztrokémiai szempontból is érdekesek. A HCNS molekulát az általunk történt első előállítás után nem sokkal gázfázisban is előállították és felvették a molekula mikrohullámú spektrumát,<sup>28</sup> ezzel megalapozva a csillagközi térben történő azonosítás lehetőségét. A HNCS<sup>29</sup> és a HSCN<sup>30</sup> izomerek jelenlétét korábban már kimutatták. A [H, N, C, S] rendszerek ezekben a kutatásokban azért érdekesek, mert – a [H, C, N] és a [H, N, C, O] rendszerekhez hasonlóan – az izomerek aránya érzékenyen indikálja a csillagközi felhőkben végbemenő kémiai folyamatokat.<sup>31</sup>

### Köszönetnyilvánítás

A közleményben bemutatott kutatások OTKA (K101164 és K75877) támogatással készültek.

#### Hivatkozások

- 1. Paton, R. M. Chem. Soc. Rev. 1989, 18, 33-52.
- 2. Wentrup, C.; Kambouris, P. Chem. Rev. 1991, 91, 363-373.
- Krebsz, M.; Pasinszki, T. Curr. Org. Chem. 2011, 15, 1734– 1744.
- 4. Franz, J. E.; Black, L. L. Tetrahedron Lett. 1970, 1381-1384.
- Harrit, N.; Holm, A.; Dunkin, I. R.; Poliakoff, M.; Turner, J. J. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2 1987, II, 1227–1238.
- Kambouris, P.; Plisnier, M.; Flammang, R.; Terlouw, J. K.; Wentrup, C. *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 1487–1490.
- (a) Pedersen, C. L.; Hacker, N. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 3981–3984, (b) Pedersen, C. L.; Harrit, N.; Poliakoff, M.; Dunkin, I. *Acta Chem. Scand.* **1977**, *31*, 848–858.
- Pasinszki, T.; Kárpáti, T.; Westwood, N.P.C. J. Phys. Chem. A 2001, 105, 6258–6265.
- Pasinszki, T.; Bazsó, G.; Krebsz, M.; Tarczay, G. Chem. Eur. J. 2009, 15, 6100–6102.
- Pasinszki, T.; Bazsó, G.; Krebsz, M.; Tarczay, G. Phys. Chem. Chem Phys. 2009, 11, 9458–9467.
- Krebsz, M.; Hajgató, B., Bazsó, G.; Tarczay, G.; Pasinszki, T.; Aust. J. Chem. 2010, 63, 1686–1693.

- 12. Krebsz, M.; Májusi, G., Pacsai, B.; Tarczay, G.; Pasinszki, T.; Chem. Eur. J. 2012, 18, 2646 – 2652.
- Bazsó, G.; Magyarfalvi, G.; Tarczay, G. Magyar Kémiai Folyóirat 2006, 112, 137–148.
- Whittle, E.; Dows, D. A.; Pimentel, G. C. J. Chem. Phys. 1954, 22, 1943.
- Bazsó, G.; Góbi, S.; Magyarfalvi, G.; Zügner, G.; Demeter, A.; Turányi, T.; Dóbé, S.; Tarczay, G. Magyar Kémiai Folyóirat 2012, 118, 65.
- 16. Geisel, M.; Mews, R. Chem. Ber. 1982, 115, 2135-2140.
- 17. Warren, J. D.; Lee, V. J.; Angier, R. B. J. Heterocycl. Chem. 1979, 16, 1617–1624.
- Weinstock, L. M.; Davis, P.; Handelsman, B.; Tull, R. J. Org. Chem. 1967, 32, 2823–2829.
- 19. Aitken, R. A. Sci. Synth. 2004, 13, 777-822.
- 20. Bertini, V. Angew. Chem. 1967, 79, 530.
- 21. Gerbaux, P.; Flammang, R.; Morkved, E. H.; Wong, M. W.; Wentrup, C. J. Phys. Chem. A **1998**, *102*, 9021–9030.
- 22. Pasinszki, T. Phys. Chem. Chem. Phys. 2008, 10, 1411-1418.
- 23. Gordy, W. J. Chem. Phys. 1947, 15, 305-310.
- 24. King, C. M.; Nixon, R. E. J. Chem. Phys. 1968, 48, 1685–1695.
- 25. Wurfel, B. E.; Pimentel, G. C.; Chem. Phys. Lett. 1994, 223, 301–304.
- 26. Mück, L.; Farkas, Á. L.; Krebsz, M.; Pasinszki, T.; Tarczay, G.; Szalay, P. G., előkészületben.
- Ramos, L. A.; Ulic, S. E.; Romano, R. M., Erben, M. F.; Lehmann, C. W.; Bernhardt, E., Beckers, H.; Willner, H.; Della Védova, C. O. *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 11142–11157.
- McCarthy, M. C.; Gottlieb, C. A.; Thaddeus, P.; Muckle, M. T.; Neill, J. L.; Pate, B. H.; Thorwirth, Sven; Brünken, S.; Belloche, Arnaud; Verheyen, Lies; Menten, Karl M.; Remijan, Anthony J. 64th International Symposium On Molecular Spectroscopy, 2009, Ohio State University, USA. http://molspect.chemistry.ohio-state.edu/symposium\_64/ symposium, abstract #WI06
- Frerking, M. A.; Linke, R. A.; Thaddeus, P. Astrophys. J. 1979, 234, L143–L145.
- Halfen, D. T.; Ziurys, L. M.; Brünken, S.; Gottlieb, C. A.; McCarthy, M. C.; Thaddeus, P. *Astrophys. J.* 2009, 702, L124–L127.
- Adande, G. R.; Halfen, D. T.; Ziurys, L. M.; Quan, D.; Herbst; E. Astrophys. J. 2010, 725, 561–570.

### Generation and spectroscopic identification of nitrile sulfides and nitrile selenides using matrix isolation techniques

Nitrile sulfides  $(X-C\equiv N\rightarrow S)$  and nitrile selenides  $(X-C\equiv N\rightarrow S)$  are expected to have similar structure and similar chemical properties. Although nitrile sulfides are well-known transient species in organic cycloaddition chemistry, and widely used as *in situ* generated reactive species, very little is known about nitrile selenides; due to the lack of methods to generate them, their application is not known.

The aim of this research project is to find novel routes to generate nitrile sulfides and nitrile selenides in cryogenic noble gas matrices, to identify them with IR and UV spectroscopies, and to study their structure with theoretical methods. This article summarizes our recent results from the last four years. Parts of this research have been published previously.<sup>9-12</sup>

In general, heterocycles containing the CNS or CNSe linkage and a good leaving group are potential sources of nitrile sulfides and nitrile selenides, respectively, thus 1,2,5-thiadiazoles  $(X_2C_2N_2S)$ and 1,2,5-selenadiazoles  $(X_2C_2N_2Se)$  were selected as precursors. The advantage of using these precursors is that nitriles are good leaving groups and do not absorb in the near UV region and their IR activity, at least in the CN stretching region, is small. Five thiadiazole and three selenadiazole derivatives, namely 1,2,5-thiadiazole, 3,4-difluoro-1,2,5-thiadiazole, 3,4-dichloro-1,2,5-thiadiazole, 3,4-dicyano-1,2,5-thiadiazole, 3,4-dicyano-1,2,5-thiadiazole, 3,4-dicyano-1,2,5-selenadiazole, 3,4-dimethyl-1,2,5-selenadiazole, and 3,4-dicyano-1,2,5-selenadiazole, were synthesized, deposited into solid argon matrix, and irradiated by filtered UV light.

The precursor 1,2,5-thiadiazoles and 1,2,5-selenadiazoles absorb in the 225–275 nm and 250–320 nm UV region, respectively (Figure 1); therefore 254 nm UV light was used for the photolysis of 1,2,5thiadiazoles, and, depending on the precursor, 254, 280, or 313 nm UV light was used for the photolysis of 1,2,5-selenadiazoles. UV spectra measured after the photolysis and difference IR spectra (obtained by substracting spectra measured before the photolysis from those of recorded after the photolysis) are shown in Figures 1 and 2, respectively.

After photolysis of thiadiazoles (X= H, F, CH<sub>3</sub>) and selenadiazoles (X= H, CH<sub>3</sub>, CN) at selected wavelength, new primary photoproducts appeared in the UV spectra (Figure 1), which were photobleached upon irradiation with unfiltered light of the high pressure mercury lamp. The IR spectra (Figure 2) and the good agreement between the calculated and experimental wavenumbers and relative IR intensities (Table 1) prooved that photolysis produced nitrile sulfides and nitrile selenides. The results are summarized in Figure 4. We note that the expected nitrile sulfides, CICNS and NCCNS, were not produced upon the 254 nm UV irradiation of 3,4-dichloro- or 3,4-dicyano-1,2,5-thiadiazole; photolysis yielded so far unidentified products.

Nitrile sulfides and nitrile selenides decomposed upon irradiation the matrix with unfiltered light of the mercury lamp. Following this irradiation, very bright, blue chemiluminescence was observed in the case of nitrile sulfides after warming the matrix. The spectrum of emitted light was recorded and shown in Figure 3. The blue emission was due to the reaction of triplet sulfur atoms, the products of unfiltered UV photolysis, and was assigned to the  $\tilde{B}^{r3}\Pi_u \rightarrow \tilde{X}^3\Sigma_g^$ emission of S<sub>2</sub> molecules.

According to quantum-chemical calculations using the CCSD(T) method, HCNS, CICNS, NCCNS, HCNSe and NCCNSe are

linear, and CH<sub>3</sub>CNS and CH<sub>3</sub>CNSe are symmetric top molecules with linear CCNS and CCNSe frame, respectively. FCNS is a bent molecule with an FCN bond angle of 133.6° and CNS bond angle of 166.4°. The barrier to linearity on the potential energy surface is 1750 cm<sup>-1</sup>. All molecules have singlet electronic ground states. In the case of CH<sub>3</sub>CNS and HCNSe, for example, the singlet is more stable than the triplet by 216 and 172 kJ mol<sup>-1</sup>, respectively.

Nitrile sulfides and nitrile selenides are predicted by quantumchemical calculations to be stable at room or lower temperatures toward unimolecular isomerization or bond dissociation. The dissociation energy of N–S and N–Se bonds are in the range of 215–230 kJ mol<sup>-1</sup> and 174–188 kJ mol<sup>-1</sup> ( $\Delta G_{0K}^{\circ}$ ), respectively. The activation energies for the lowest energy isomerization process, for example, are 256 kJ mol<sup>-1</sup> and 142 kJ mol<sup>-1</sup> for FCNS and CH<sub>3</sub>CNS, respectively. Nitrile sulfides and nitrile selenides are unstable at room temperature due to bimolecular processes. MR-AQCC calculations for nitrile sulfides revealed several possible pathways of which a decomposition reaction via S–S bond formation was obtained as kinetically the most favoured leading to nitriles and S<sub>2</sub> directly in a 'tail-to-tail' reaction (XCNS…SNCX).

FCNS is a bent molecule thus it shows spectral properties that are different from those of its linear derivatives, namely it has a relatively strong absorption band in the UV region between 325–370 nm (Figure 1). Irradiation of the matrix containing FCNS by 365 nm UV light caused isomerization and the formation of a ring-isomer, fluoro-thiazirine, FC(NS) (Figure 5). This thiazirine isomerized back to FCNS upon irradiation again with 254 nm UV light (see Figure 6). These photoinduced isomerizations can be repeated several times, thus the FCNS–FC(NS) system behaves as a "molecular switch".

There is a continuous interest in finding and applying new dipolarophiles in cycloaddition chemistry, thus an important outcome of this research is that nitrile sulfides and nitrile selenides can be generated from 1,2,5-thiadiazoles and 1,2,5-selenadiazoles, respectively, by photolyzing these precursors with selected wavelength UV irradiation. We expect that the generation of nitrile sulfides and nitrile selenides is feasible using the revealed synthetic route not only in solid argon matrix, but in solutions in the presence of appropriate dipolarophiles. The latter would provide the initiating step for their future applications.

## Szemelvények az ELTE Elméleti Kémiai Laboratórium újabb eredményeiből

SZALAY Péter\*, SZABADOS Ágnes, SURJÁN Péter, JESZENSZKI Péter és FOGARASI Géza

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Elméleti Kémiai Laboratórium, Pázmány Péter sétány 1/A, 1117 Budapest

### 1. Bevezetés

A kvantumkémia az atomok és molekulák (elektron-) szerkezetének elméleti leírására szolgáló tudomány: a Schrödinger-egyenletet (közelítőleg) megoldva próbálunk a tulajdonságaikról mind többet megtudni. Véleményünk szerint a kvantumkémiának jelenleg a következő szerepe van a kémiában:

• az atomok és molekulák tulajdonságainak megértéséhez kvantummechanikai megfontolások szükségesek;

• módszerek kidolgozása a Schrödinger-egyenlet (közelítő) megoldására;

• modellek felállítása, melyek komolyabb számítások nélkül képesek a molekulák tulajdonságait megmagyarázni.

A kvantumkémia aktualitását mi sem mutatja jobban, minthogy a *Chemical Reviews* 2012. évi első számát a kvantumkémiának szentelték (*Chem. Rev.* 2012, 123).

Hazánkban jelentős hagyománya van a kvantumkémiai módszerfejlesztésnek. A teljesség igénye nélkül, szubjektíven a következő munkákat említenénk: a DFT előhírnökének is tekinthető  $X_{\alpha}$  módszer kidolgozásában Gáspár Rezső szerepe kiemelendő<sup>1</sup>; Kapuy Ede szerteágazó munkássága a korrelációs és a lokalizáció témakörét érintette, elsősorban a kémiai kötés leírásában<sup>2a</sup> és a perturbációszámításban<sup>2b</sup> alkotott maradandót és szerzett méltán nemzetközi hírnevet. Kapuy és Török kvantumkémia könyve<sup>3</sup> tekinthető a legfontosabb kézikönyvnek, amelyet elméleti kérdések megválaszolására máig gyakran forgatunk.

Az ELTE-n a kvantumkémiai kutatások a rezgési spektroszkópiából nőttek ki. A 60-as évek elején/közepén Török Ferenc ismerte fel először, hogy a rezgési spektrumok értelmezéséhez a kvantumkémiai számítások nagy segítséget jelentenek. Pulay Péter munkásságával vált a csoport nemzetközileg is jelentőssé: Pulay erőmódszere<sup>4</sup> forradalmian megváltoztatta a kvantumkémiát azáltal, hogy az energián kívül az atomokra ható erők is számíthatóvá váltak. A módszer két legfontosabb alkalmazási területe a molekulaszerkezetek meghatározása, valamint a molekuláris erőállandók, ezen keresztül a rezgési spektrumok számítása. Az akkor még az Általános és Szervetlen Kémiai Tanszék munkatársai, Pulay Péter és Fogarasi Géza 1979-ben javasoltak egy szisztematikus eljárást ezekre a számításokra,5 mely rendkívüli visszhangot váltott ki, mára több mint 1500 hivatkozást gyűjtött. A 80-as évek közepén alakult meg az Elméleti Kémiai Laboratórium (Pulay Péter távozása után) Fogarasi Géza vezetésével. A kutatás fő iránya ebben az időben a rezgési spektrumok számítása lett, a "Skálázott Kvantummechanikai Erőtér", angol rövidítéssel SQM módszer<sup>6</sup> szintén az egész világon elterjedt.

A 90-es évektől az akkor már Elméleti Kémiai Tanszéken, Fogarasi Géza keze alatt nemzetközileg is jelentős csapat nőtt fel. Volt tanítványai közül ketten jelenleg az ELTE Kémiai Intézetének professzorai: Császár Attila a spektroszkópia-magmozgás, Szalay Péter a nagyon pontos módszerek fejlesztése és a spektroszkópiai alkalmazások területén végez nemzetközi szintű kutatásokat. Surján Péter 1990-ben kapott meghívást a Tanszékre, kutatásai az elméleti módszerek fejlesztése mellett az anyagszerkezet területére is kiterjednek. A Kémiai Intézet megalakulásával két önálló laboratórium jött létre az Elméleti Kémiai Tanszékből, ezek közül jelen cikk szerzői az Elméleti Kémiai Laboratóriumban végzik kutatásukat. Az alábbiakban néhány újabb eredményt mutatunk be, melyek jól reprezentálják a Laboratóriumban folyó kutatásokat.

### 2. A citozin és citidin molekulaszerkezete, kölcsönhatás vízzel

A nukleotid bázisok, mint a DNS építőkövei, a modern molekuláris biológia megszületése óta az érdeklődés középpontjában állnak. Különösen érdekes kérdés a bázisok tautomerizációra való hajlama – nem kívánt tautomerizáció a pontmutáció egyik formája lehet. Az elmúlt években Laboratóriumunkban elsősorban a citozinmolekulával foglalkoztunk. A különböző tautomerek relatív stabilitása mellett, nagy számú molekuladinamikai számítást is végeztünk, ab initio Born-Oppenheimer szinten. E számításokból részletes képet kaptunk arról, hogyan alakulhat át egyik tautomer a másikba. A tautomerizáció (az elektron-alapállapotra szorítkozva) csakis víz közvetítésével képzelhető el, de még így is magas, 18-20 kcal/mol az átmeneti állapot energiagátja<sup>7</sup>.

A tautomerizáció a természetben talán elsősorban fotokémiai reakcióban jöhet létre. Ilyen folyamatok elemzéséhez természetesen a molekula elektrongerjesztett állapotainak ismerete szükséges. A gerjesztett állapotok vizsgálata az alapállapothoz képest sokkal nagyobb kihívást jelent a kvantumkémia (QC) számára, s "értelmes" eredményeket csak a legmagasabb szintű módszerektől lehet várni. Kis molekulákra e téren jelentős tapasztalataink vannak, s elméleti fejlesztéseink, illetve a számítógépek fejlődésének eredményeképp a legutóbbi években elkezdhettük olyan – a QC számára "nagy" – molekulák vizsgálatát, mint a nukleotid bázisok, sőt ezek glikozidjai is. Az utóbbi hónapokban a citozin és a citidin vizsgálata folyik, a jelen dolgozatban e munka előkészületeként kapott eredményekbe adunk betekintést. E helyen a citozin legfontosabb, amino-keto tautomerjére szorítkozunk.

\* Tel.: +36-1-372-2931; fax: +36-1-372-2931; e-mail: szalay@chem.elte.hu
A QC-számítások alapvetően a szabad, izolált molekulákra vonatkoznak. Az itt vizsgált kérdésekben közelebb jutunk a biológiai környezethez, ha a víz szerepét is modellezzük. Ezen felül, első lépésként a nukleotid irányában, a megfelelő nukleozidot, esetünkben a citidint is vizsgáljuk.

### 2.1. A citozin-víz kölcsönhatás

A vizes környezetet kétféle módon szokás figyelembe venni: a) a vizsgált molekula körül egy folytonos dielektrikumot építünk; b) konkrétan vízmolekulákat rakva a molekula köré, szupermolekulákra végzünk számítást. Jelen esetben ez utóbbi módszert használtuk. A citozin körül fokozatosan, egytől hatig növeltük a vízmolekulák számát. A számításoktól két kérdésre remélhetünk választ. Egyrészt, melyek a víz számára kedvező kötődési pontok. Másrészt, mekkora a kötődési energia a különböző helyeken, és egy oligohidrátban az egyedi vizekre nézve additív-e a teljes energia. Megjegyzendő, hogy a monohidrátokat már vizsgáltuk,8 most mind ezekre, mind a nagyobb hidrátokra egységes, MP2(fc)/aug-cc-pVDZ szinten közlünk új, átfogó eredményeket.



**1. Ábra.** A citozin monohidrátjainak egyensúlyi szerkezete. Az ezekhez tartozó energiák az 1. táblázatban találhatók.

Az 1-4. ábrák a teljesség igénye nélkül mutatnak be energiára optimált szerkezeteket, a koordinátákat a szerzők igény esetén rendelkezésre bocsátják. (Ezek az elméleti értelemben vett egyensúlyi szerkezetek, melyekben az energia a sokdimenziós potenciálfelületen minimumot mutat - utóbbi lehet lokális vagy globális minimum.) A megfelelő energiákat az 1. Táblázatban foglaltuk össze. A táblázatban megadtuk az egyes vízmolekulák konszekutív kötési energiáit is, illetve adott számú víz esetén a legstabilabb komplexhez mért energiakülönbségeket is. BSSE korrekciót nem alkalmaztunk, ez a kötési energiákat 2 – 2.5 kcal/mol értékkel csökkentené<sup>8</sup>, de a relatív értékeken alapuló megállapításainkat csak kevéssé befolyásolhatná. A következőkben tárgyalásunk ezekre az energiákra szorítkozik, rezgési frekvenciákat, illetve ezekből zéruspontenergiákat és szabadentalpiát a jelenlegi stádiumban nem számítottunk.

A monohidrátokra vonatkozóan megállapíthatjuk, hogy az *A* pozíció (N1–H donor, C2=O akceptor) előnyösebb, mint a *B* pozíció (N3 akceptor, NH2 donor), az itt alkalmazott számítási szinten az energiakülönbség:  $\Delta$ (B-A) = 0.7 kcal/ mol. Az itteninél pontosabb, *coupled cluster* számításokban a különbség 0.5 kcal/mol. Azt is hozzátesszük, hogy a C környezetben is elképzelhető egy – eltérő jellegű – kapcsolás, melyben a vízmolekula mindkét partnere akceptor (C2=O és N3). Itt azonban nem találtunk minimumot. (Több víz esetén más a helyzet, l. alább.)



2. Ábra. A citozin dihidrátjainak egyensúlyi szerkezete. Az ezekhez tartozó energiák az 1. táblázatban találhatók.

Érdekes megvizsgálni, hogy az A pozíció favorizált helyzete mennyire vihető át az oligohidrátokra. A számítások a 2. ábrán bemutatott négy dihidrátot azonosították, energiájukat az 1. Táblázat tartalmazza. Láthatólag az AA szerkezet energiája a legalacsonyabb, ehhez képest az AB 0.5 kcal/mol-lal feljebb van. Az AB kötési energia jó közelítésben additív, az A és a B kötésekből: 12.77 + 12.05 = 24.82, a direkt érték 24.70 kcal/ mol. Nem ennyire egyszerű az AA és a BB összehasonlítása. Jelölésünk nem fejezi ki, hogy AA (BB) tulajdonképp nem két A (B)-típusú kapcsolódást jelent, hanem egy A (B)-t és a gyűrűben egy víz-víz hidrogénhidat (továbbiakban legyen ez W). Legegyszerűbb esetben tehát (A + W) hasonlítandó össze (B + W)-vel, s ekkor a különbség a monohidrátok fenti  $\Delta(B-A) = 0.7$  kcal/mol értéke lehetne. Valójában a számított érték nagyobb,  $\Delta(BB-AA) = 1.2$  kcal/mol. Valószínűleg a W típusú H-kötés az AA gyűrűben erősebb, mint BB-ban. Valóban, az 1. Táblázat adataiból látható, hogy a 2. víz bekötése az A  $\rightarrow$  AA esetben 12.38 kcal/mol, a B  $\rightarrow$  BB esetben csak 11.94 kcal/mol. (A 2. tizedesnek természetesen csak a belső pontosság miatt van értelme.) Összhangban vannak az energiákkal a kötéshosszak: az érintett O · · · H távolság az AA-ban észrevehetően rövidebb (1.737 Å), mint BB-ben (1.769 Å).

A trihidrátokban (3. Ábra) az AAA szerkezet – melyben három víz van a H-hidas gyűrűben – már nem előnyös, ennél mintegy 2.5 kcal/mol energiával kedvezőbb az AAB. A geometria részletes vizsgálata nem utal erre, a gyűrűbeli kötéshosszak szabályos H-hidakat mutatnak. Ennek ellenére, energetikailag jól értelmezhető a helyzet. AAAban a 3. víz kötődési energiája határozottan kisebb, mint a két elsőé: csak 9.49 kcal/mol, szemben a két első víz 12.77, ill. 12.38 kcal/mol értékével (1. Táblázat). Ugyanakkor, a B pozícióban a kötődési energia 11.99 kcal/mol.







 Ábra. A citozin további oligohidrátjainak egyensúlyi szerkezete. Az ezekhez tartozó energiák az 1. táblázatban találhatók.

**3. Ábra.** A citozin trihidrátjainak egyensúlyi szerkezete. Az ezekhez tartozó energiák az 1. táblázatban találhatók.

A több, 4, 5, 6 vizet tartalmazó hidrátoknál (4. Ábra) már csak egy-egy szerkezetet határoztunk meg, amelyek a fenti tapasztalatok alapján valószínűleg a legelőnyösebb elrendezést jelentik. Érdekes összehasonlítani az AAB és AABB szerkezetet: az 1. Táblázatból adódóan, a 4. víz kötődési energiája még itt is közel van a fent említettekhez, 11.84 kcal/mol. Kvalitatíve új helyzet adódik a négyvizes AABB szerkezet után: az ötödik víz már egy új pozicióba kerül, ezt C-vel jelöltük (AABBC-komplex). A kötődés itt eltérő az eddigiektől, mert a víz mindkét kötésében protondonor. Azt várhatnánk, hogy ez a kapcsolat gyengébb, mert mindkét kötődés (a C=O oxigénhez, illetve a szomszédos vízhez) olyan partnert használ, mely már Hhídban van. Az energiaadatok azonban nem ezt mutatják. Az AABB komplexszel összevetve, az 5., C helyzetű víz kötési energiája 11.27 kcal/mol, nem sokkal kisebb az A, ill. B-re jellemző  $\approx 12.6$ , ill.  $\approx 12.0$  kcal/mol-nál. Nem evidens, hogy a hatodik víz még be tud-e épülni, vagy már csak a második szférában lenne helye. Számításunk szerint ez a víz még fel tudja használni az amino-csoport második hidrogénjét, ezt a pozíciót B'-vel jelöltük. Bár itt csak egy H-híd tud kialakulni és az is viszonylag hosszú ( $O \cdots H = 2.01$  Å), a 6. víz kötési energiája 7.11, ami egy határozott, közepesen erős H-kötést jelent. Összefoglalva a fentiekből megállapítható, hogy egyegy víz kötődési energiája ( $\Delta$ ) adott helyen meglehetősen stabil (vagyis a teljes kötődési energia közelítőleg additív): az összes értéket áttekintve, az *A* helyzetben  $\Delta_A = 12.4$ - 12.8, *B*-ben  $\Delta_B = 11.8 - 12.1$ , *C*-ben  $\Delta_C = 11.2 - 11.4$ kcal/mol. További vízmolekulák beépítése már valószínűleg csak a második koordinációs szférába lehetséges, ez további vizsgálatok tárgya lehet.



5. Ábra. A citidin *anti* és *syn* konformációja. Az ezekhez tartozó energiák az 1. táblázatban találhatók.

### 2.2. A citidin molekulaszerkezete

Valamennyi nukleozidban a bázis, ill. a cukor gyűrűjének relatív helyzete alapján syn és anti konformációt szokás megkülönböztetni. A két forma a χ "glikozidos szög"gel jellemezhető. Az *anti* formában –  $120^{\circ} > \chi > 180^{\circ}$ (világosabb az első szöget 240° -ként felfogni), a *syn*-ben  $0^{\circ} < \chi < 90^{\circ.9}$  A természetes polinukleotidokban általában az anti forma a gyakoribb, de kérdés, hogy a szabad molekula amire a számítások vonatkoznak - milyen inherens stabilitást mutat. A citidin e két konformerjét optimáltuk, itt is az MP2(fc)/aug-cc-pVDZ szinten. A kapott szerkezeteket az 5. ábra mutatja, a koordinátákat a szerzők igény esetén rendelkezésre bocsátják. Az anti konformerben  $\chi$ = -177° (az előjel itt gyakorlatilag közömbös, a konformáció a 180°-kal jellemzett anti forma). A syn-ben a számított geometriában  $\chi$ = 61°. Az energiákat összevetve, az *anti* forma energiája alacsonyabb, a különbség 4.4 kcal/mol. Ez nagyjából egy H-kötés energiája, ami azt jelenti, hogy természetes környezetben is csak erős intermolekuláris hatás esetén várható eltérés ettől a konformációtól.

H <sub>2</sub> O	-76.26091						
Cytosine	-393.91102						
Cyt.H <sub>2</sub> O	A: -470.19228 (12.77) [0]		B: -470.19114 (12.05) [0.72]	A: -470.19228	B: -470.19114		B: -470.19114
Cyt.(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub>	AA: -546.47293 (12.38) [0]	AA: -546.47293	AB: -546.47221 (12.65) [0.45]	AB: -546.47221 (11.94)	BB: -546.47108 (11.94) [1.16]	BB: -546.47108	BC: -546.47023 (11.41) [1.69]
Cyt.(H <sub>2</sub> O) <sub>3</sub>	AAA: -622.74897 (9.49) [2.49]	AAB: -622.75294 (11.99) [0]	AAB: -622.75294 (12.44)	ABB: -622.75198 (11.83)	ABB: -622.75198 (12.54)	BBB: -622.74871 (10.49) [2.65]	
Cyt.(H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub>		AABB: -699.03272 (11.84)		AABB: -699.03272 (12.44)			
Cyt.(H <sub>2</sub> O) <sub>5</sub>		AABBC: -775.31160 (11.27)					
Cyt.(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub>		AABBCB': -851.58384 (7.11)					

**1. Táblázat.** Citozin-hidrátok energiája (E<sub>h</sub>). Zárórjelben a víz konszekutív kötődési energiája és szögletes zárójelben energiakülönbség a megfelelő legstabilabb komplexhez képest (kcal/mol)<sup>a</sup>. MP2(fc)/aug-cc-pVDZ szinten számított értékek<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Zárójelben az energiacsökkenés a (felette levő kockabeli komplex + 1 szabad víz) rendszerhez képest. A követhetőség kedvéért egyes értékeket megismételtünk a táblázatban. Szögletes zárójelben az adott sorban legalacsonyabb energiájú formához mért energiatöbblet.

<sup>b</sup>  $E_h$  (hartree)/molekula = 627.5 kcal/mol

Miként bevezetésként említettük, a bemutatott eredmények egy nagyobb volumenű munka első részletei csak, a gerjesztett elektronállapotok vizsgálatát készítették elő.

# 3. Ultrahideg atomi gázok pontos leírása a Bose-Hubbard modellben

A millikelvin vagy akár nanokelvin hőmérsékletűre hűtött, ultrahideg atomokból álló gázok vizsgálata az utóbbi években egyre népszerűbb. A rendkívüli érdeklődés egyik oka, hogy az ilyen rendszerekben makroszkopikusan jelennek meg olyan tulajdonságok, amelyek a mikroszkopikus méretű részecskékre jellemző, kvantumos viselkedésből erednek. A kvantumkémikus számára a csapdázott hideg atomok témaköre azért is érdekes, mert az elméleti modellezés szintjén számos párhuzam vonható a molekulák elektronállapotainak leírásával, a számítási eljárást tekintve pedig rendkívül hasonló feladatról van szó.

Az itt bemutatott munka motivációját éppen az adta, hogy az elektronszerkezeti közelítő módszerek területén évtizedek alatt összegyűlt tapasztalatokat kamatoztassuk a hideg atomok új, kísérletileg is rendkívül érdekes területén.

Az elméleti munka bemutatása előtt ismerkedjünk meg röviden a kísérlettel! Az ultrahideg gáz kísérleti előállításának egyik kulcslépése az atomok lézerfénnyel történő hűtése. Az 1997. évi fizikai Nobel-díjat épp a lézeres hűtés technikájának a kidolgozásáért ítélték oda.<sup>10-12</sup>A hűtés során a tér egy adott irányába nagy sebességgel mozgó atommal szemben lézerfotont lövünk. A foton energiájának megfelelő hangolásával, vagy – ügyesebben – az atomi energiaszintek mágneses tér segítségével történő hangolásával az atomok kinetikus energiájából eredő hőmérséklet ezzel a módszerrel millikelvines nagyságrendűre csökkenthető. A ritka-alkálifém-gőzök kondenzációjához ennél is kisebb, nanokelvin tartományba eső hőmérséklet szükséges, ami a párologtatásos hűtés<sup>13</sup> technikájával valósítható meg. Ennek során az atomokat mágneses térrel csapdázzák és rádiófrekvenciás sugárforrással világítják meg. A hűtés elve leginkább ahhoz hasonlítható, amikor elfújjuk a meleg gőzt egy bögre kakaó fölött. A rádióhullám frekvenciáját u.i. úgy állítják be, hogy azok az atomok abszorbeálják, amelyek kinetikus energiája nagy. Az abszorpció nyomán a nagy kinetikus energiájú atomok kirepülnek a csapdából.

A nanokelvin hőmérsékletre hűtött, kondenzált atomi gőzök körül egy következő lépésben egymással szembeállított lézer párralvagypárokkalelektromágneses állóhullámotkeltenek.<sup>14</sup> Két lézerpárral kialakított, kétdimenziós állóhullámot mutat a 6. Ábra. Az elektromágneses állóhullámot optikai rácsnak hívjuk, de a szemléletes tojástartó-potenciál elnevezés is használatos. Az optikai rács olyan csapdaként működik, amely a tér egymástól egyforma távolságra elhelyezkedő pontjaiba (rácspontokba) gyűjti a részecskéket. Ennek oka a polarizált atom és az elektromágneses tér kölcsönhatása, melynek hatására az atomok az állóhullám maximumai és minimumai felé vándorolnak.<sup>13</sup> A rácspontok távolsága az atomi mérettartományt nagyságrendekkel meghaladó, mikrométeres nagyságrendű.



**6. Ábra.** Tojástartó-potenciál: kétdimenziós elektromágneses állóhullám elektromos térerejének abszolút értéke.

optikai rácsban csapdázott atomok elméleti Az modellezéséhez azt kell meggondolnunk, hogy milyen kölcsönhatások határozzák meg a kondenzátum viselkedését a fent vázolt kísérleti elrendezésben. Az atomok közötti elsődleges kölcsönhatás az egy rácsponton elhelyezkedő atomok ütközése. Bár vegyész szemmel atompárok vagy klaszterek képződését várnánk, ez a folyamat nem jellemző. Ennek oka egyrészt a csapda nagy mérete, másrészt az atomok spin-polarizált állapota. Számottevő viszont az atomok vándorlása a szomszédos rácspontok között. Ez a folyamat, tekintve az atomok energiájához képest nagy gátat, a kvantummechanikai alagúthatás révén megy végbe. Számolni lehetne további effektusokkal is, mi azonban a legegyszerűbb elmélettel, az említett két jelenségen alapuló ún. Bose-Hubbard modellel foglalkozunk.

Bár a Hubbard modell rendkívül egyszerű, ennek segítségével pi-elektronrendszerek, pl. fullerének, nanocsövek elektronszerkezetének jellegzetességei megragadhatók. Megfelelő parametrizációval a kiterjesztett (extended) Hubbard modell akár kvantitatív következtetésekre is lehetőséget ad. Korábban az extended Hubbard modellel végeztünk számításokat fullerének gerjesztett állapotainak várható Jahn-Teller torzulására, illetve jellemeztük szénnanocsövek kölcsönhatását.<sup>15</sup>

A Bose-Hubbard modell alapján a csapdázott hideg atomi gázokkal kapcsolatos egyik legérdekesebb kérdés is tárgyalható: vajon könnyedén elmozdulnak az atomok a rácsban vagy sem. A két szélsőség megvalósítása a kísérleti berendezésben a rácsot kialakító lézer intenzitásának változtatásával történik. Az intenzitás csökkentésével áll elő a szuperfolyékonynak nevezett fázis. Az elnevezés oka, hogy ebben fázisban az atomok egymástól függetlenül (viszkozitás nélkül) mozognak az optikai rácsban. A lézer intenzitásának növelésével az ún. Mott-szigetelő fázishoz jutunk, ahol az atomok gyakorlatilag nem mozdulnak el a rácsban. A két esetet a 7. Ábra érzékelteti: szuperfolyékony rendszernél olyan rácsot kell elképzeljünk, melyben sok atom összegyűlhet egy rácspontban, míg a Mott-szigetelő állapotban az atomok a lehető legegyenletesebben oszlanak el a rácspontok között.



7. Ábra. Optikai rács betöltésének érzékeltetése szuperfolyékony (a) és Mott-szigetelő (b) esetben.

A szuperfolyékony ill. Mott-szigetelő fázis jellemzését elméleti úton a hullámfüggvényből számított mennyiségekkel tudjuk megtenni. Az itt bemutatott példákban az egyes rácspontokon elhelyezkedő atomok számának várható értékét vizsgáljuk. Ehhez első lépésként a Bose-Hubbard Hamiltonoperátor sajátfüggvényét kell megkeresni. A feladat papíron, ceruzával nem oldható meg, ezért számítógépes eljárásokat szokás alkalmazni. A problémát sokszor nem is oldják meg pontosan, mivel praktikus közelítések bevezetésével sokat lehet faragni a számítási időből és a szükséges számítógépes erőforrásból. Közelítő módszerek alkalmazásakor előfordul, hogy egy-egy egyszerűsítés bevezetésekor inkább a szuperfolyékony vagy inkább a Mott-szigetelő rendszert tartjuk szem előtt. Ha vizsgálatunk célja a szuperfolyékony és a Mott-szigetelő közötti *fázisátmenet*, olyan eljárásra van szükségünk, ami mindkettőt egyformán jól leírja. Ilyenkor, magas költsége ellenére, szükségünk lehet a modell egzakt megoldására.

Ezen a ponton érdemes meggondolni, mennyire drága az egzakt megoldás. Induljunk ki egy *ab initio* kvantumkémiai számításból! Ha *N* elektront és *M* bázisfüggvényt tekintünk (*N* legyen páros), a rendszer állapotainak száma:

$$D_f = inom{M}{N/2}^2$$

Az egzakt számítás memória- és számítási-idő-igénye a  $D_f$ mennyiséggel arányos, tipikusan M >> N/2. Mivel M és N növelésével a  $D_f$  függvény igen gyorsan, határesetben exponenciálisan nő, a molekuláris elektronszerkezeti probléma csak kevés elektron és bázisfüggvény esetén oldható meg egzakt módon. Mi a helyzet a hideg atomok Bose-Hubbard modellje esetén? Első megközelítésben csupa költséghatékony tényezőt látunk:

 elemi részecskék (protonok, elektronok) kölcsönhatása helyett összetett részecskék (atomok) kölcsönhatásával dolgozunk;

### • minden rácsponton egyetlen bázisfüggvényt tekintünk.

Az első pont drasztikus csökkenést jelent a részecskék számában, hasonlóan ahhoz, amikor egy kvantumkémiai számításban a törzselektronokat befagyasztjuk. A hideg atomok Bose-Hubbard modelljében ennél is tovább megyünk: az atommagot és az összes körülötte keringő elektront kezeljük együtt, mint egyetlen részecskét. Az egzakt számítás költségének becslésekor figyelembe kell venni a részecskék spinjét is, amit esetünkben a magspin és az elektronspin eredőjeként kapunk. A kísérletekben tipikusan olyan alkálifém-atomokat vizsgálnak, melyek eredő spinje egész szám. Az egész értékű spin egzotikus újdonság az elektronokhoz szokott kvantumkémikusnak: feles spinű fermionok helyett kvázi-bozonokkal van dolgunk. A fermionokkal ellentétben két bozon elfoglalhatja ugyanazt az egyrészecske-állapotot, ebből fakad, hogy az M rácsponton csapdázott N atomos rendszer lehetséges állapotainak száma

$$D_b = \binom{N+M-1}{M-1}$$

még az előbbinél is gyorsabban tart végtelenhez. A hideg atomok optikai csapdázásakor tipikusan N >> M, de vizsgáljuk most az N=M esetet. Ekkor például  $D_f=63504$  míg  $D_b=92378$ , ha N=M=10.

Az egzakt hullámfüggvény keresését mind a csapdázott atomok, mind a molekuláris elektronszerkezet esetében mátrix-sajátérték-probléma megoldására vezetjük vissza. Ehhez atomokon centrált egyelektron-függvényeket vezetünk be az egyik esetben, míg rácspontokon centrált egyatomos függvényeket használunk bázisként a másikban. A sok részecske koordinátájától függő bázisfüggvényeket az egyelektron-függvények antiszimmetrizált szorzataként kapjuk a kvantumkémiában, ezek a sokat emlegetett Slaterdeterminánsok. Bozonok esetén szimmetrizált szorzatot kell képeznünk az egyatomos függvényekből, az ilyen függvényt permanánsnak hívjuk. A determinánsok ill. permanánsok számát a fenti  $D_{f}$  ill.  $D_{h}$  függvény adja meg, és ez szabja meg a Hamilton-mátrix dimenzióját. Mivel a részecskék és bázisfüggvények növelésével a dimenzió csillagászatira nő, a Hamilton-mátrix tárolása a számítógép operatív memóriájában (RAM) nem lehetséges. Számpéldával élve, a bozonikus N=M=10 esetben 64 GByte memóriára volna szükségünk, míg N=M=20 -ra 1010 TByte-tal arányos a RAM foglalás. Az utóbbi évek számítógépes fejlődésének köszönhetően 64 GByte RAM mára elérhetővé vált, de 1010 TByte futurisztikusnak tűnik.

A memória és a számítási idő exponenciális növekedése a részecskék és bázisfüggvények számával mindig is a legkisebb rendszerekre fogja korlátozni a teljes konfigurációs kölcsönhatás (full configuration interaction, FCI) néven ismert egzakt megoldás számíthatóságát. Mégis, hogy mekkora a még éppen kezelhető rendszer, az nagyban múlik a számítási algoritmus részletein. A kvantumkémikus közösség az 1970-es években a direkt iteratív diagonalizáció kidolgozásával kulcsfontosságú lépést tett ezen a téren. A fejlesztés egyik fontos eleme egy hatékony iteratív eljárás kidolgozása, a másik kiemelendő momentum az iterációs lépés számításának technikája, ami a "direkt" jelzőt kapta. Iteratív diagonalizációnak azokat az eljárásokat hívjuk, amelyek mátrix-vektor szorzás számítására szorítkozva keresnek meg néhány sajátvektort. A kvantumkémiában a Lanczos<sup>16</sup> és a Davidson<sup>17</sup> módszer terjedt el széles körben. Az iteratív eljárás a számítás időigényéből farag le jelentős módon: míg az összes sajátvektor megkeresése hagyományos diagonalizálási technikákkal (pl. Jacobi, Givens) a mátrix méretének köbével arányos időt igényel, egy sajátvektor iteratív előállítása csak a mátrix méretének négyzetével arányos időbe telik. Az iterációs lépés direkt számításával, ami Roos és Siegbahn18 nevéhez fűződik, a memóriaigényt sikerült drasztikusan csökkenteni. Ezzel a technikával ugyanis egyáltalán nincs szükség a Hamilton-mátrix RAMbeli tárolására. A számítás memóriaigényét meghatározó elem ebben az esetben két hullámfüggvény tárolása, ami a fenti példákban mindössze 1,5 MByte N=M=10 esetén és N=M=20-ra is "csak" 1 Tbyte. A csapdázott hideg atomok Bose-Hubbard modelljének egzakt megoldásakor korábban már éltek az iteratív diagonalizálás eljárásával, ám nem volt közismert a direkt eljárásból származó előny. Az elméleti modellezésre fejlesztett, nyílt forráskódú Algorithms and Libraries for Physics Simulations (ALPS)<sup>19</sup> program például a Lanczos algoritmus szerint végzi az iteratív diagonalizációt, de a Hamilton-mátrix elemeit RAM-ban tárolja. A mátrixelemek memóriába írásakor csak a nullától különböző elemekre szorítkozik (ezt hívják ritkamátrixos technikának), nagyságrendi csökkenést érve el a nominális memóriaigényhez képest.

A memóriaigény további csökkentése a direkt iterációs eljárással lehetséges, ám a korábban közismert algoritmus csak fermionokból álló rendszerre volt érvényes. A bozonikus hideg atomok tárgyalását a Laboratóriumunkban végzett programfejlesztéssel oldottuk meg. Ehhez a hullámfüggvény komponenseinek címzését és a Hamilton-operátor hatásának számítását kellett újragondolnunk. A munka első lépése egy leszámlálási algoritmus kidolgozása, amely jól meghatározott rend szerint számba veszi a sokatomos bázisfüggvényeket, a permanánsokat. Egy következő lépésben az iterációs lépés direkt megoldását fogalmaztuk meg, a permanánsok segítségével kifejezett hullámfüggvényből kiindulva. Az algoritmus kidolgozása során számos probléma és érdekesség merült fel, melyek ismertetése túlmenne a jelen beszámoló keretein. Az érdeklődő olvasót a témában írt dolgozatok tanulmányozására biztatjuk.<sup>20,21</sup>

A programfejlesztés eredményét a 8. Ábra segítségével illusztráljuk. Mindkét grafikonon a saját fejlesztésű direkt Davidson programot hasonlítjuk az ALPS<sup>19</sup> ritka Lanczos iteratív diagonalizációs eljárásához. A 8a. Ábrán jól látható, hogy a direkt iteráció memóriaigényt tekintve előnyösebb a ritka mátrixos iterációnál. A 8b. azt mutatja, hogy a direkt Davidson program számítási ideje is rövidebb az ALPS ritka Lanczos eljárásánál, ami a Davidson algoritmus hatékonyságának és a ritkamátrix technika többlet számításigényének köszönhető. A számításhoz szükséges idő akár tovább is csökkenthető a Laboratóriumunkban kidolgozott ritka vektor alapú FCI eljárással.<sup>22</sup>

Végül az egyes rácspontokon elhelyezkedő atomok várhatóértékére kapott eredményeket mutatjuk be a 9. Ábrán. A három görbe a 3x3, kétdimenziós rácson található háromféle rácsponthoz tartozik: a négyzet közepén, egy oldal közepén, illetve sarkon elhelyezkedő rácspontot



8. Ábra. A ritka Lanczos és a saját fejlesztésű direkt Davidson eljárás memóriaigénye és számítási ideje az atomok számának függvényében (N). Összehasonlításképp szerepel a teljes Hamilton-mátrix tárolásának igénye az (a) ábrán. Az optikai rács kétdimenziós, 3x3 rácspontot tartalmaz (M=9).

tudunk megkülönböztetni. Az ábra vízszintes tengelyén az U/t hányadost mérjük. Az U és a t két, energia dimenziójú paraméter. Az U az egy rácsponton levő atomok taszítását jellemzi, a t-t az alagúthatáshoz rendeljük. Ha az U/t értéke kicsi, a rácsponton levő atomok taszításának hatása elhanyagolható az alagúthatáshoz képest. Ezt az esetet érzékelteti a 7a. Ábra, ilyenkor mozdulnak el könnyen az atomok a rácsban. Ennek megfelelően a 9. Ábrán az U/t=0 esetben kapjuk a legnagyobb számot az egy rácsponton elhelyezkedő atomok számára.

Érdekes megfigyelni, hogy a rácspontot elfoglaló atomok számának várhatóértéke tipikusan nem egész szám. Azt is jelenti ez, hogy a 7a. szerint rajzolt ábra (esetünkben 9 golyó volna a középső gödörben) nem teljesen korrekt a szuperfolyékony eset jellemzésére. Nem azért, mintha hibás volna az ábra, hanem azért, mert a rendszert nem lehet egyetlen rajzzal jellemezni. Ez a helyzet nem a szuperfolyékonyságból fakad, az  $U/t \rightarrow \infty$  határesettől eltekintve bármely U/t hányadossal jellemezhető rendszer esetén több ábrát kell rajzolnunk. Az, hogy a rendszer csak több rajz seregével jellemezhető, a kvantumos viselkedés egyik érdekes következménye. Szakmai nyelven úgy mondjuk, hogy a rendszer a rácspont betöltése szempontjából kevert állapotban van: mindegyik rácspont egyszerre többféle betöltöttségű. A furcsa jelenség oka a rendszer mikroszkopikus méretében keresendő. Esetünk azt a sokszor hallható állítást példázza, hogy a mikroszkopikus méretű részecskék viselkedése egészen eltér a magunk makroszkopikus világában nyert tapasztalatoktól. Ezt a tényt a XX. század elején, a kvantummechanika születésekor, nem volt könnyű a fizikusoknak elfogadni.

Az  $U/t \rightarrow \infty$  határeset, a Mott-szigetelő rendszer az egyetlen, amely a rácspontok betöltése szempontjából tiszta állapotban van. Itt az atomok taszításának hatása dominál az alagúthatáshoz képest. A 9. Ábrán azt látjuk, hogy a rácspontok betöltése 1-hez tart, jól jellemzi a helyzetet egy 7b.-szerű rajz önmagában.



 Ábra. Kétdimenziós, 3x3-as optikai rács rácspontjain elhelyezkedő atomok számának várható értéke. A rácsban csapdázott atomok száma N=9.

### Köszönetnyilvánítás

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg (a támogatások száma TÁMOP 4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0003 és 4.2.2./B-10/1-2010-0030). A kutatásokat az OTKA K-81590, K-81590, K-68427 és K-72423 számú pályázatai is támogatják.

#### Hivatkozások

- 1. Gáspár, R., Acta Phys. Hung. 1954, 3, 263.
- a. Kapuy, E., J. Chem. Phys., **1966**, 44, 956; b. Kapuy, E.; Csepes, Z.; Kozmutza, C., Int. J. Quant. Chem. **1983**, 23, 981-990
- Kapuy, E.; Török, F., Az Atomok és Molekulák Kvantumelmélete, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1975.
- 4. Pulay, P., Mol. Phys. 1969, 17, 197.
- Pulay, P.; Fogarasi, G.; Pang, F.; Boggs, J.E., J. Am. Chem. Soc. 1979, 101, 2550.
- Pulay, P.; Fogarasi, G.; Pongor, G.; Boggs, J.E.; Vargha, A., J. Am. Chem. Soc., 1983, 105, 7037.
- 7. Fogarasi, G., Chem. Phys., 2008, 349, 204-209.
- Fogarasi, G.; Szalay, P.G. Chem. Phys. Lett., 2002, 356, 383-390.
- 9. Bourne, P.E., Weissig, H. (eds.): *Structural Bioinformatics;* Wiley-Liss, **2003.**
- 10. Chu, S., Nobel Lecture, 1997.

- 11. Cohen-Tannoudji, C., Nobel Lecture, 1997.
- 12. Phillips, W. D., Nobel Lecture, 1997.
- 13. Pethick, C. J. and Smith, H., *Bose-Einstein Condensation in* Dilute Gases, Cambridge University Press, Cambridge, 2002.
- 14. Morsch, O. and Oberthaler, M. *Rev. Mod. Phys.*, **2006**, *78*, 179.
- Surján, P.R.; Németh, K.; Bennati, M.; Grupp, A.; Mehring, M.; Chem. Phys. Lett., **1996**, 251, 115-118; Surján, P.R.; Lázár, A.; Szabados, Á., Phys. Rev. A., **2003**, 68, 062503.
- 16. Lanczos, C., J. Res. Nat. Bur. Standards, 1950, 45, 255-282.
- 17. Davidson, E. R. J. Comp. Phys., 1975, 17, 87.

## Selections from recent results in the Laboratory of Theoretical Chemistry, Eötvös Loránd University

Traditionally Quantum Chemistry is a strongly represented scientific field in Hungary. The Laboratory of Theoretical Chemistry at the Eötvös Loránd University identifies itself as a descendant of the tradition born from the works of Péter Pulay, Ferenc Török, Ede Kapuy and Rezső Gáspár. Members of the Lab are active in both development of new, accurate methods as well as application to interesting chemical problems. This article reports on some representative research being performed now in the Laboratory.

The first part describes the preparation phase of our project aiming to describe the excited states of the building blocks of DNA and RNA. Structures have been obtained at the MP2 level using augcc-pVDZ basis set.

We report equilibrium structures for the hydrated cytosine molecule considering different number of explicit water molecules around it. It was found that there are essentially three positions around cytosine where water can bind, but two of these sites are much more efficient. Position termed A consists of N1-H donor and C2=O acceptor site, while the position termed B consists of N3 acceptor and NH2 donor site (see Figure 1). Complexes with several water molecules can also be classified according to these sites. Thus there are AA, AB and BB dihydrated complexes (Figure 2), AAA, AAB, ABB and BBB trihydrated ones (Figure 3). On the other hand, only one tetrahydrated structure (AABB) could be identified (Figure 4). It is the structure with five waters when finally also the third position is used (AABBC). The largest cluster we could identify was a complex with six waters (Figure 4) and we assume that further water molecules would belong to the second hydration shell. Analysis of the energetics showed (Table 1) that the binding energy is quite well scalable provided that the water-water interaction is also included in the calculation.

As a next step from bases to nucleotides, one may consider nucleosides which consist of the bases and a sugar molecule. Two known forms of cytidine, viz. the *syn* and *anti* conformers have been optimized and compared (Figure 5). The latter was found to be more stable by about 4.4 kcal/mol. This energy corresponds

- Roos, B. and Siegbahn, P., in H.F. Schaefer, (ed.), *Modern Theoretical Chemistry*, **1977**, volume 3, chapter 7, Plenum New York.
- 19. Algorithms and Libraries for Physics Simulations, http: //alps.comp-phys.org.
- Jeszenszki, P., Kvázi-bozonok kvantummechanikai leírása a Bose-Hubbard modellben, MSc Szakdolgozat, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Fizikai Kémiai Tanszék Budapest, 2011.
- Szabados, Á., Jeszenszki, P., and Surján, P., *Chem. Phys.*, 2011, http://dx.doi.org/10.1016/j.chemphys.2011.10.003
- Rolik, Z., Szabados, Å., and Surján, P. R., J. Chem. Phys., 2008, 128, 144101.

approximately to a hydrogen bond which could be identified between the sugar and the nucleobase in case of the anti form.

The second part of the article reports on the exact (full configuration interaction, FCI) solution of the Bose-Hubbard model describing ultracold atomic gases trapped in an optical lattice. In spite of its simplicity, the Hubbard model can be used with success for qualitative prediction on the properties of molecular systems, like carbon nanoclusters. With appropriate parametrization even quantitative agreement can be achieved with experiment.

The case of ultracold atomic gases is another field where the Hubbard model is useful. The present study deals with atoms as elementary particles, their spin being integer (nuclear and electronic spin coupled). Such particles follow Bose statistics, hence the name Bose-Hubbard model. When the system of cooled and laser trapped atoms is known to reside either in the superfluid or the Mott-insulator phase (Figure 7), its properties can be predicted by an approximate solution of the model. Admissible simplifications are however different for the two phases, and may not be appropriate at all if wishing to describe the transition between the two phases. In such a situation exact solution of the model may be necessary.

The algorithm devised in the present work takes its inspiration from the direct iterative diagonalization techniques, developed by quantum chemists in the 1970's. We adopt this idea for the case of bosonic algebra, a situation which gives rise to configuration interaction space dimensions even larger than for fermions. As Figure 8 demonstrates, the implementation accomplished in our Laboratory provides the Bose-Hubbard energy levels and the density matrix of these systems consuming less computer memory and time than a code available as open source (Algorithms and Libraries for Physics Simulations, ALPS). Using this code the transition between superfluid and Mott-insulator phase of cooled and trapped atomic gases can be monitored in an efficient and reliable manner. Further development is open in the direction of exploiting sparsity in course of the direct iterative diagonalization. This subject was already explored in our Laboratory in studies on molecular electronic structure.

### Néhány új eredmény az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoportban

### HUDECZ Ferenc <sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup>MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Pázmány P. stny 1/A, 1117, Budapest, Magyarország <sup>b</sup>Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Pázmány P. stny 1/A, 1117, Budapest, Magyarország

Az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport Bruckner Győző akadémikus vezetésével 1961-ben jött létre (honlap: http://peptid.chem.elte.hu/indexhu.html). Medzihradszky Kálmánt (az MTA rendes tagja) követően, 1999-től Hudecz Ferenc (az MTA levelező tagja) iránvítja a csoportot. A csoportban 2001-től 10 fő (8 kutató, 2 laboráns, 2004-től 9 kutató, 1 laboráns) dolgozik és az 1999 és 2011 közötti időszakban 230 tudományos publikáció született nemzetközi referált folyóiratokban. Ketten tudomány/MTA doktora fokozatot szereztek, egy munkatárs az MTA levelező tagja lett. Ketten Széchenyi professzori ösztöndíjat, hat munkatárs pedig Bolyai János kutatási ösztöndíjat nyert el. A csoport munkatársai közül öten az ELTE-n akkreditált PhDprogramokban témavezetők. 1999 óta 22 hallgató szerzett PhD fokozatot. Kutatásainkhoz kapcsolódóan 75 hallgató készít(ett) diplomamunkát, 35 hallgató pedig Tudományos Diákköri dolgozatot, 10-en nyertek első-harmadik helyezést Országos TDK-n.

Az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport biológiailag aktív peptidek, peptid-kimérák és peptid-biokonjugátumok szintézisével, szerkezet-funkció/hatás összefüggések törvényszerűségeinek feltárásával foglalkozik. A kutatási tevékenység három területre terjed ki.

Az immunokémiai kutatás egyik kulcskérdése az ellenanyag válasz kiváltásáért felelős szakaszok (B-seit epitópok) illetve a seites immunválasz létrejöttéért felelős régiók (T-sejt epitópok) azonosítása, a fehérjék antigén szerkezetének feltérképezése. E program keretében autoimmun betegségekben (pl. filaggrin, aggrekán, desmogleinek), fertőzéssel szembeni (pl. M. tuberculosis), illetve tumorellenes (pl. mucin glikoproteinek) immunválasz kiváltásában szerepet játszó fehérjék epitópjait határozzuk Tanulmányozzuk azokat a szerkezeti/biokémiai meg. tényezőket, amelyek az epitópfunkció megjelenéshez vezetnek. Az epitóp peptidek kémiai szerkezetének módosításával mesterséges "szuperantigéneket" kívánunk létrehozni. Az elmúlt években olyan metodikai arzenált építettünk ki, amely lehetővé teszi elméleti (predikciós), (kombinatorikus, valamint szintetikus párhuzamos, hagyományos) módszereken alapuló kísérleti megközelítések hatékony kombinációját. Eredményeink orvosbiológiai (pl. tumorellenes) és diagnosztikai (pl. TB vagy Herpes simplex vírusfertőzés, illetve tumorellenes ellenanyagok specifikus kimutatása) gyakorlati hasznosítás (fejlesztés) számára is alkalmasak.

A **kemoterápiával** összefüggő felfedező kutatásaink központi kérdése az érintett célsejtre irányuló specifikus hatás elérése. Tumorellenes szerek, antibakteriális (pl.

\* Tel.: +36-1-372-2828 ; fax: +36-1-372-2620 ; e-mail: fhudecz@elte.hu

antituberkulotikumok) vagy Leishmania parazitafertőzés ellenes vegyületek biokonjugátumait állítjuk elő célbajuttató peptidek felhasználásával. A célsejteken (tumorsejtek, fertőzött sejtek), illetve azokon belül előforduló struktúrák és ligandumaik elemzésével, valamint a hatásos peptidkonjugátumok esetében expresszálódó fehérjemintázat proteomikai jellemzésével új támadáspontokat kívánunk azonosítani. Kiemelten foglalkozunk klinikai használatban levő (pl. vinkaalkaloidok, izoniazid), illetve új, részben általunk azonosított kemoterápiás vegyületeket (pl. ferrocén származékok) és azok szelektivitását elősegítő célfelismerő struktúrát (pl. hormon vagy "scavenger" receptor) tartalmazó biokonjugátumok tervezésével és jellemzésével. Sejtbejuttatási sajátsággal rendelkező aktivátor/inhibitor peptid konjugátumok pedig alapul szolgálhatnak a patológiás enzimaktivitás korrekciójában.

A neuropeptidek kutatásával a kutatócsoport hosszabb ideje foglalkozik. Ennek keretében tanulmányoztuk az endogén opioidok (enkefalinok, dinorfin-származékok) szerkezet-hatás összefüggéseit, szintetizáltunk az opiátreceptor-altípusokra szelektív egyes agonistákat/ antagonistákat és előállítottunk alkilező hatású, radioaktív izotópot is tartalmazó peptideket. Felfedeztünk egy új, delta specifikus antagonistát. Újabb kutatásaink során új, karbamoil és redukált peptidkötést tartalmazó opioid peptid származékok szintézisét oldottuk meg, és előállítottunk hatásos nociceptin, endomorfin-analógokat.

A csoport tevékenységét széleskörű hazai és nemzetközi tudományos együttműködés jellemzi. A kollaborációkat nemzetközi szervezetek (WHO, EU-FP, COST, EACR), valamint kétoldalú programok (TéT Magyar-Francia, Magyar-Spanyol, Magyar-Japán, Magyar-Brit, Magyar-Dél-Afrikai program) segítik. A csoport – publikációval dokumentáltan – együttműködik ipari partnerekkel (pl. Richter Gedeon Vegyészeti Gyár. Nyrt, REANAL, Servier, Soft-Flow Hungary Kft), társegyetemek (DE, SzE, BMGE, SE) intézeteivel, országos intézetekkel (pl. Országos Onkológiai Intézet; Országos Korányi TBC és Pulmonológiai Intézet), az MTA kutatóintézeteivel (TTK, KOKI, SZBK), valamint tanszéki MTA kutatócsoportokkal és az ELTE tanszékekkel (pl. Szerves Kémiai Tanszék, Fizikai Kémiai Tanszék, Immunológiai Tanszék, Biokémiai Tanszék, Számítógéptudományi Tanszék).

Az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport további (2012-2016) munkáját segíti az elnyert MTA projekt. Felkérést kaptunk egy új EU COST "Chemical approaches to targeting drug resistance in cancer stem cells" kutatásban való részvételre (2012-2015) (MC tag). Egy ANR-NKTH, valamint három OTKA programban és egy ETT programban, valamint két NKTH-TéT (magyar-dél-afrikai, magyar-spanyol) és egy MTA-CNR programban folyik a kutatás (tumorellenes hatóanyagok célbajuttatása, *M. tuberculosis* ellenes szerek), témavezetőként. További OTKA programokban (neuropeptidek, rheumatoid arthritis, LH-RH ligandok posztszintetikus fehérje- és lipidmódosulások immunológiai szerepének tisztázására, új típusú ferrocén származékok szintézisére és biológiai vizsgálata) veszünk részt. A csoport az ELTE TÁMOP kutatóegyetemi program megvalósításában (peptidkémiai kutatások) is szerepet vállal.

Az alábbi három cikkben néhány érdekes és a nemzetközi visszajelzések alapján lényeges eredmény – vázlatos – bemutatása kerül sor. A Tisztelt olvasó további tájékozódását segítheti a Kutatócsoport publikációinak listája (http: //peptid.chem.elte.hu/Publications/index.htm).

### Tumorellenes hatás fokozása peptid biokonjugátumokkal

MEZŐ Gábor,<sup>a</sup> SZABÓ Ildikó,<sup>a</sup> ORBÁN Erika,<sup>a</sup> SZABÓ Rita,<sup>a</sup> BÁNÓCZI Zoltán<sup>a</sup> és HUDECZ Ferenc<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup>MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Pázmány P. stny 1/A, 1117, Budapest, Magyarország <sup>b</sup>Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Pázmány P. stny 1/A, 1117, Budapest, Magyarország

### 1. Bevezetés

A szív- és érrendszeri megbetegedések mellett a daganatos megbetegedések jelentik a legfőbb halálokot a fejlett országokban. Annak ellenére, hogy a betegség gyógyításában legáltalánosabban alkalmazott sebészeti módszerek, sugárkezelések és kemoterápiás gyógymódok jelentősen fejlődtek az utóbbi időben, a rák leküzdése mind a mai napig nagy kihívást jelent a kutatók és az orvosok számára. A jelenleg alkalmazott kemoterápiás kezelések hátrányai közé sorolhatók az alkalmazott gyógyszerek szelektivitásának hiánya, a szervezetből történő gyors kiürülésük és a hatóanyagok ellen kialakuló multidrog rezisztencia.

A modern gyógyszerkutatásnak két fő irányát figyelhetjük meg a tumor kemoterápia hatékonyságának növelésére. Az egyik még hatékonyabb és szelektívebb hatóanyagok kifejlesztését tűzi ki célként, míg a másik a már ismert hatású gyógyszermolekulák tumorsejt specifitásának növelésére tesz kísérletet megfelelő biokonjugátumok előállításával. A hatóanyagok tumorspecifitás növelésének alapfeltétele, hogy minél jobban megismerjük azokat a szerkezeti és funkcionális eltéréseket, amelyek megkülönböztetik a rákos sejteket az egészségesektől. Ezek ismeretében tudunk olyan kombinációkat kialakítani, amelyek nagy szelektivitással képesek a gyógyszermolekulákat a tumorsejtekbe szállítani. Így hatásukat csak a beteg sejteken fejtik ki, és ez által a normálisan működő sejtek megkímélhetők, vagyis a gyógyszerek mellékhatásai lényegesen csökkenthetők. Kutatócsoportunk olyan oligopeptid- és polipeptidhatóanyag konjugátumok tervezésével, szintézisével és vizsgálatával foglalkozik, amelyek a fenti cél eléréséhez vezethetnek.

# 2. Hatóanyagok célba juttatása peptideket felismerő receptorokon keresztül

Az egyik jelentős különbség a tumoros és az egészséges sejtek, szövetek között, hogy a sejtek felszínén részben eltérő típusú receptorok/struktúrák találhatók (tumorspecifikus receptorok/struktúrák), másrészt bizonyos receptorok jelentősen nagyobb számban jelenhetnek meg a tumorsejteken. Ez utóbbira példa több peptidhormon (gonadotropin-releasing hormon (GnRH), szomatosztatin, bombezin, stb) receptora, illetve az érképződésben fontos szerepet játszó peptidek receptorai (pl. VEGF-R, neuropilin-1, integrin receptorok, aminopeptidáz-N (CD13)). Amennyiben olyan peptidekhez kapcsolunk gyógyszermolekulát, amelyek nagy hatékonysággal felismerik ezeket a receptorokat, azokhoz nagy affinitással kötődnek, akkor elérhetjük, hogy a konjugátum receptorközvetített endocitózissal a sejtbe juttassa a hatóanyagot, \* Tel.: +36-1-372-2828 ; fax: +36-1-372-2620 ; e-mail: fhudecz@elte.hu

ahol a hatóanyag, vagy annak aktív metabolitja felszabadul és kifejtheti tumorellenes hatását.<sup>1</sup>

Munkánk során olyan peptideket választottunk irányító molekuláknak, amelyek a receptorhoz kötődés után különböző szignál útvonalakon keresztül önmagukban is képesek a tumor növekedést gátolni. Így a hozzájuk kovalens kötéssel kapcsolt hatóanyaggal együtt felerősíthetik egymás hatását. Legrészletesebben a GnRH peptid analógokat vizsgáltuk, mint potenciális irányító molekulákat. Ezek közül is főleg a tengeri ingolából izolált GnRH-III (Glp-His-Trp-Ser-His-Asp-Trp-Lys-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>, ahol a Glp piroglutaminsavat jelent) dekapeptidet tanulmányoztuk, mivel ennek az analógnak a hormonális mellékhatása emlősökben elhanyagolható, így szelektív tumorellenes hatás érhető el az alkalmazásuk esetén (1. ábra).



**1. Ábra.** GnRH-III – antraciklin konjugátumok szerkezete és *in vitro* citosztatikus hatása MCF-7 humán emlő és HT-29 humán vastagbél tumorsejt vonalakon, ahol Dau.= daunomicin, Dox = doxorubicin.

A szekvencia 8-as pozíciójában található lizin nem játszik fontos szerepet a receptorkötődésben és a biológiai aktivitásban. A lizin oldalláncának ɛ-aminocsoportja megfelelő konjugálási hely a hatóanyagok kapcsolására.<sup>2</sup> Hatóanyagként a klinikumban gyakran alkalmazott daunorubicint (daunomicin, Dau) vagy doxorubicint (adriamicin, Dox) alkalmaztuk, amelyeket különböző kovalens kémiai kötéssel (pl. oxim, hidrazon, észter) kapcsoltuk peptidekhez.<sup>3</sup> Vizsgáltuk, hogy a kötések milyensége hogyan befolyásolja a konjugátumok stabilitását humán szérumban, lizoszóma preparátumban és különböző enzimek jelenlétében, és hogy ez miként befolyásolja a konjugátumok tumornövekedést gátló hatását humán emlő, vastagbél és prosztata tumorsejtvonalakon. Az eredmények azt mutatták, hogy néhány vegyület mind in vitro, mind in vivo körülmények között jelentősen gátolta a tumornövekedést. Azt figyeltük meg, hogy a konjugátumok perifériás toxicitása lényegesen kisebb volt a kísérleti állatokon, mint a szabad hatóanyagé a hatásos dózisban. Tovább lehetett fokozni a hatást, ha a GnRH-III oligopeptidben a 4-es helvzetben található szerint lizinre. vagy az oldalláncában acetilezett lizinre cseréltük.<sup>4</sup> A második lizin beépítése a szekvenciába módot adott arra is, hogy az oldalláncán keresztül egy második hatóanyag molekulát (Dau, vagy metotrexát) is kapcsoljunk a GnRH származékhoz.<sup>5</sup> Ez a megoldás fontos lehet, mivel a sejteken megjelenő receptorok száma korlátozott, így ha egy peptid segítségével több hatóanyagot tudunk a tumorsejtekbe juttatni, akkor a hatás növelhető. A hatás fokozott lehet akkor is, ha kétféle, különböző mechanizmus szerint működő hatóanyagot alkalmazunk. A két hatóanyagot tartalmazó vegyületek esetében saját vizsgálataink is a hatás szignifikáns javulását mutatták egyes tumorsejteken.

Kutatásaink azonban nem korlátozódnak a GnRH analóg hatóanyag biokonjugátumok szintézisére és vizsgálatára. Irányító molekulakéntalkalmaztunk más, tumorellenes hatású hormon peptideket (pl. szomatosztatin analógokat), integrinés tirozinkináz receptorokat felismerő peptidszekvenciákat, valamint tuftsin és oligotuftsin származékokat, amelyek irányításon kívül immunstimuláló hatással az is rendelkeznek, így kompenzálhatják a gyógyszermolekulák immunszupresszív hatását<sup>6</sup>. Új, Erb2 receptor ligandum oligopeptidet és antraciklint (Dau) tartalmazó konjugátum összehasonlító hatásának tanulmányozása során megfigyeltük, hogy a receptort jelentős mértékben tartalmazó HL-60 humán leukémia sejtek protein expressziós profilja eltérő lehet. A proteomikai kísérletek világosan kimutatták, hogy a konjugátummal vagy szabad Dau-nel kezelt sejtek különböző fehérjéket más-más mennyiségben szintetizálnak. A kezelt sejtek fehérje mintázata nemcsak a kezeletlen sejtekétől, de egymástól is jelentős mértékben különbözik. Ez a megfigyelés lehetőséget ad új fehérje célpontok, valamint új bioszintetikus utak, mechanizmusok feldezésére.7

# 3. Hatóanyagok célba juttatása elágazó láncú polimer polipeptidekkel

A tumorsejtek egy másik, az egészséges sejtektől eltérő tulajdonsága, hogy fokozottan képesek endocitózissal felvenni makromolekulákat, még akkor is, ha azok nem tartalmaznak felismerő egységet. Kutatócsoportunkban régóta foglalkozunk polilizin gerincű elágazó láncú polimer polipeptidek szintézisével, kémiai és biológiai jellemzésével, és különböző területeken – makromolekuláris hordozóként – történő felhasználásával. Ezek a vegyületek egy átlagosan 100-150 lizin egységből álló polimer gerincet tartalmaznak, amelyek a lizin egységek  $\varepsilon$ -aminocsoportján egy rövid, 3-4 aminosavat tartalmazó oligo-DL-alanin láncot és egy optikailag aktív aminosavat foglal magában (poli[Lys(X-DL-Ala<sub>m</sub>)], ahol m = 3-4). Az általunk előállított polimerek többsége polikationos karakterű, mivel az elágazások végén szabad aminocsoport található.

Azonban, ha az X aminosav glutaminsav, akkor amfoter polimerhez juthatunk, ha pedig ennek a glutaminsavnak az aminocsoportját acetilezzük vagy szukcinilezzük, akkor polianionos vegyületeket kapunk. Az elágazások végén található X aminosav jelentősen befolyásolja a polimer biológiai viselkedését, például a szervezetbeni eloszlását és kiürülésének sebességét. Megállapításaink szerint az amfoter és polianionos polimerek (poli[Lys(Y-Glu-DL-Ala\_)], ahol Y = H (EAK) vagy Ac (Ac-EAK)) ürülnek ki leglassabban a vérből. A polikationos polimerek közül a szerint tartalmazó polihidroxil-típusú polimer (poli[Lvs(Ser-DL-Ala )], SAK) tartózkodik legtovább a véráramban. A hosszabb jelenlét a vérkeringésben, a szervezetben közrejátszik abban is, hogy ezek a polimerek - szerkezetüktől függő mértékben képesek leginkább feldúsulni a szilárd ("solid") tumorokban. Ezért ezeket a polimereket alkalmaztuk - többek között - daunorubicinnel (Dau) készült konjugátumok előállítására. A hatóanyag cisz-akonitsavval képzett származékát (cAD) kapcsoltuk az amfoter (EAK) illetve polikationos (SAK) polimer hordozóhoz. Ez a kapcsoló egység a sejtbe kerülve a lizoszóma savas körülményei között úgy bomlik el, hogy szabad hatóanyag (Dau) szabadul fel. Megállapítottuk, hogy a polikationos konjugátummal szemben (cAD-SAK), az amfoter polipeptidet tartalmazó konjugátum (cAD-EAK) leukémiás egerek teljes gyógyulását eredményezte.8

Az elágazó láncú polimer polipeptidek sejtbe jutásának mechanizmusát tanulmányozva az is világossá vált, hogy az oldallánconként két negatív töltést hordozó polianionos szukcinilezett EAK (Succ-EAK) polimer azért ürül ki gyorsabban a véráramból, mint az amfoter EAK vagv az oldallánconként csupán egy negativ töltést hordozó, ezért "kevésbé" polianionos Ac-EAK polimer, mert a makrofágok különösen nagymértékben veszik fel. Elsőként írtuk le az irodalomban, hogy e polimer polipeptidek felvétele a "scavenger A" receptoron keresztül történik, és a sejtbejutás mértéke függ a sejt típusától is.<sup>9</sup> Ez a megfigyelés hozzájárult ahhoz, hogy hatóanyagokat nagy szelektivitással juttassunk makrofágokba, amelynek nemcsak a tumor terápiában lehet jelentősége, hanem más a makrofágokban túlélő kórokozók (pl. Leishmania donovani, M. tuberculosis) elpusztításában is 10

Nagy érdeklődésre tarthat számot az a polimer vegyület is, amelyben a polilizin gerinc ɛ-aminocsoportjaihoz közvetlenül kapcsolódik leucin, majd ehhez kötődik az oligo-DL-Ala lánc (poli[Lys(DL-Ala<sub>m</sub>-Leu) (ALK). Megfigyeltük, hogy ez a polimer polipeptid a lépben akkumulálódik, tehát alkalmas olyan biokonjugátumok előállítására, amelyek a lépben előforduló tumorok vagy a lépben megtelepedő kórokozók<sup>10</sup> kemoterápiával történő kezelését teszik lehetővé.

### 4. Hatóanyag célba juttatása sejtpenetráló peptidekkel

Az utóbbi időben előtérbe kerültek a sejtpenetráló oligopeptidek új gyógyszermolekula konjugátumok előállítására, hatóanyagok szállítására. A természetes eredetű (pl. HIV Tat-fehérjéje, penetratin) és a *de novo* szintetikus (pl. oligoarginin) sejtpenetráló peptidek még nem teljesen tisztázott módon (pl. makropinocitózis) könnyen jutnak át a sejtmembránon, esetenként a hozzájuk kovalens kötéssel kapcsolt molekulával együtt. Segítségükkel ezáltal növelhető a diffúzióra sem képes vegyületek célsejtbe juttatása. Így új, eddig a terápiában nem alkalmazott vegyületek is bevonhatók a tumorok terápiájába.

Kutatásaink során különböző hosszúságú oligoarginin – tumorellenes szer (pl. Dau, vinblasztin, pemetrexed, ferrocén származék) konjugátumokat állítottunk elő. Vizsgáltuk a szerkezet – hatás összefüggéseket, különös tekintettel az oligoarginin lánc hosszára és a hatóanyag és a hordozó közötti kémiai kötés típusára. A különböző kovalens kötést (oxim, hidrazon, szukcinil vagy négyszögsavdiamid) tartalmazó daunomicin-konjugátumcsalád segítségével megállapítottuk, hogy e vegyületek stabilitása, *in vitro* citotoxicitása illetve a sejtfelvétel kinetikája a kötés savérzékenységétől, az oligoarginin lánc hosszától és jelentős mértékben a sejt típusától függ.<sup>11</sup>

Megfigyeltük, hogy az új vinblasztin származék (16-os pozicióban Trp) oligoarginin peptiddel történő kapcsolása során két izomer konjugátum keletkezik. Az NMR spektroszkópiai módszerekkel azonosított izomerek között lényeges különbség volt a tubulin polimerizációra, valamint a mitotikus orsóra gyakorolt in vitro és in vivo hatásban. Az L-Trp tartalmú konjugátum kiemelkedő szelektivitást mutatott.<sup>12</sup>

Előállítottunk olyan új antimetabolit típusú tumorellenes szer (pemetrexed) peptid konjugátumokat is, amelyekben egyidejűleg van jelen – tandem topográfia szerint – sejtpenetráló sajátságú oktaarginin és bizonyos metasztázisok kialakulásban szerepet játszó E/P-selectin specifikus oligopeptid. Megállapítottuk, hogy a "hibrid" peptidhordozót tartalmazó konjugátum *in vitro* körülmények között jelentős citotoxikus hatást mutat NCI-H358 humán tüdőkarcinóma sejteken. Ez a stratégia illetve kombináció lehetőséget adhat a sejtpenetráló peptidek tumorsejt specifitásának növelésére is.<sup>13</sup>

### Köszönetnyilvánítás

Kutatásainkat az OTKA (T 49814; T 68258; NK 77485; K 81596), az ETT (202/2006; 459/2006; 03-044/2009), a TéT (ES-20/2008), és a GVOP-3.2.1-2004-04 0005/3.0; GVOP-3.2.1-2004-04-0352/3.0. támogatta.

### Hivatkozások

- 1. Mező, G.; Manea. M. *Expert. Opin. Drug Deliv.* **2010**, *7*, 79-96.
- Orbán, E.; Mező, G.; Schlage, P.; Csík, G.; Kulić, Z.; Ansorge, P.; Fellinger, E.; Möller, H.M.; Manea M. *Amino Acids* 2011, *41*, 469-483.
- Schlage, P.; Mező, G.; Orbán, E.; Bősze, S.; Manea, M. J. Control. Release 2011, 156, 170-178.
- Manea, M.; Leurs, U.; Orbán, E.; Baranyai, Zs.; Ohlschlager, P.; Marquardt, A.; Schulcz, Á.; Tejeda, M.; Kapuvári, B.; Tóvári, J.; Mező, G. *Bioconjugate Chem.* 2011, 22, 1320-1329.
- Leurs, U.; Lajkó, E.; Mező, G.; Orbán, E.; Ohlschläger, P.; Marquardt, A.; Kőhidai, L.; Manea M. *Eur. J. Med. Chem.* 2012, *52*, 173-183.
- Bai, K.B.; Láng, O.; Orbán, E.; Szabó, R.; Kőhidai, L.; Hudecz, F.; Mező, G. *Bioconjugate Chem.* 2008, 19, 2260-2269.
- Orbán Orbán, E.; Manea, M.; Marquadt, A.; Bánóczi, Z.; Csík, G.; Fellinger, E.; Bősze, Sz.; Hudecz, F. *Bioconjugate Chem.* 2011, 22, 2154-2165.
- Hudecz, F.; Reményi, J.; Szabó, R.; Kóczán, G.; Mező, G.; Kovács, P.; Gaál, D. J. Mol. Recognit. 2003, 16, 288-298.
- Szabó, R.; Bánóczi, Z.; Mező, G.; Láng, O.; Kőhidai, L.; Hudecz, F. *Biochim. Biophys. Acta* 2010, *1798*, 2209-2216.
- Kóczán, Gy.; Ghose, A.C.; Mookerjee, A.; Hudecz, F. Bioconjugate Chem. 2002, 13, 518-524.
- Miklán, Z.; Orbán, E.; Csík, G.; Schlosser, G.; Magyar, A.; Hudecz, F. *Biopolymers* 2009, *92*, 489-501.
- Bánóczi, Z.; Gorka-Kereskényi, Á.; Reményi, J.; Orbán, E.; Hazai, L.; Tıkési, N.; Oláh, J.; Ovádi, J.; Béni, Z.; Háda, V.; Szántay Jr., Cs.; Hudecz, F.; Kalaus, Gy.; Szántay, Cs. *Bioconjugate Chem.* 2010, *21*, 1948-1955.
- Miklán, Žs.; Orbán, E.; Bánóczi, Z.; Hudecz, F. J. Peptide Sci. 2011, 17, 805-811.

# Új vegyületek a *M. tuberculosis* fertőzés kezelésére, specifikus kimutatására

BŐSZE Szilvia,<sup>a</sup> HORVÁTI Kata,<sup>a</sup> MEZŐ Gábor,<sup>a</sup> MEDZIHRADSZKY-SCHWEIGER Hedvig<sup>a</sup> és

HUDECZ Ferenc<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup>MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Pázmány P. stny 1/A, 1117, Budapest, Magyarország <sup>b</sup>Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Pázmány P. stny 1/A, 1117, Budapest, Magyarország

### 1. Bevezetés

A tuberkulózis (TB, gümőkor) a Mycobacterium tuberculosis (MTB) okozta fertőzés következményeképp kialakuló kórkép, amely megjelenhet bármelyik szervben, de a tüdőtuberkulózis a leggyakoribb. Az ókori világot sújtó háborúk már terjesztették a ragályt. A TB tömeges elterjedését azonban az iparosodás, a nagyvárosok megjelenése, a tömegszállások eredményezték. A TB kórokozóját Robert Koch azonosította 1882-ben. Emberi fertőzés és kórképek megjelenéséért atípusos, illetve körnvezeti mycobacteriumok (M. kansasii, M. aviumintracellulare) is felelősek lehetnek. A TB kezelésére az 1943-ban felfedezett sztreptomicint használták először, amit 1952-ben az izoniazid bevezetése követett. 1971től a rifampicint, majd a 80-as évektől a pirazinamidot is alkalmazták. A MTB leggyakrabban csepp-és porfertőzést követően kerül a szervezetbe, ahol elsősorban az alveoláris makrofágok, valamint a dendritikus sejtek bekebelezik; azonban a baktérium fagocitózisa nem vezet minden esetben a kórokozó eliminálásához. A MTB számos ponton képes gátolni a gazdasejt működését, kivédve anyagcsere termékeinek baktericid hatását. A fertőzött gazdasejtekben az intracelluláris MTB ún. dormans állapotban hosszú ideig életképes marad, és évtizedekig megtalálható a szervezetben a betegség kialakulása nélkül. Ebben az esetben látens fertőzöttségről beszélünk, és napjainkban az Egészségügyi Világszervezet (WHO) felmérése szerint a Föld lakosságának egyharmada ide sorolható. A TB továbbra is jelentős népegészségügy kihívást jelent a Föld minden pontján. Ez a betegség tehető felelőssé az elkerülhető felnőttkori halálokok 25%-ért; a megbetegedettek 80%a gyermekkorú vagy a munkavégzés szempontjából legproduktívabb 15-59 éves. A WHO előrejelzése alapján 2000 és 2020 között közel 1 milliárd ember válik újonnan fertőzötté, és ezek közül várhatóan 200 millió egyénben ez a fertőzés klinikai megbetegedéshez vezet majd. A veszélyeztetett populációba tartoznak az idősek, újszülöttek, legyengült immunrendszerűek (pl. immunszupresszáltak, transzplantáltak, autoimmun betegségben szenvedők, HIV fertőzöttek).

A TB felszámolása a néhány évtizeddel ezelőtti optimista elképzelések ellenére nem történt meg, és az újabban fellépő jelenség, a multirezisztens baktériumok megjelenése a helyzetet tovább súlyosbítja.<sup>1</sup>

A TB terjedésének megfelelő kontrol alatt tartásában nagy jelentősége van a betegség kezelése, új potenciális hatóanyagok felfedezése és a fertőzöttség specifikus és

\* Tel.: +36-1-372-2828 ; fax: +36-1-372-2620 ; e-mail: fhudecz@elte.hu

korai diagnózisa területén folyó kutatásoknak. Munkánkban fontos szerepet játszanak a szintetikus peptidek és a peptidbiokonjugátumok.

### 2. Új antituberkulotikus hatású vegyületek

Új antituberkulotikus hatású vegyületeket definiáltunk in silico módszerek alkalmazásával Dr. Grolmusz Vince kutatócsoportjában (ELTE Számítógéptudományi Tanszék) kifejlesztett dokkoló algoritmus (FRIGATE) segítségével. A baktérium anyagcseréjében létfontosságú enzimekhez kötődni képes molekulákat – e tulajdonságuk alapján – azonosítottunk.<sup>2,3</sup> A vegyületek hatását in vitro MTB H37RV baktérium tenyészeten tanulmányoztuk, és meghatároztuk a vegyületek MIC értékét (MIC: a legkisebb koncentráció, amely a baktérium in vitro növekedését gátolja). A kísérletek az Országos Korányi TBC és Pulmonológiai Intézet területén található Bakteriológiai Laboratóriumban, Dr. Szabó Nóra és Dávid Sándor együttműködésével történtek.

Az új kemoterápiás szerek azonosítása mellett fontos e gátló vegyületek célsejtbe (pl. fertőzött makrofág) történő juttatása. A hatóanyagjelölt sejtbejutásának hatékonysága növelhető gazdasejt specifikus hordozó molekulákhoz történő kovalens konjugációval. A hatóanyagok többsége elsősorban a gazdasejten kívül csökkenti a mikróbák számát, és kismértékben hat az intracelluláris (és a dormans) baktériumokra. Olyan hatóanyagok-konjugátum konstrukciókat terveztünk és állítottunk elő, amelyekben az antituberkulotikumokhoz egy célbajuttató oligopeptid kapcsolódik közvetlenül vagy bifunkciós közvetítő modul beiktatásával. E vegyületekben célbajuttató egységként ismert oligopeptidet (pl. tuftsinszármazék, granulizin<sup>2,4,7</sup>), illetve elágazó láncú polimer polipeptidet5,6 alkalmazunk. Az új vegyületek antituberkulotikus hatását jellemző MIC értéket MTB H37Rv baktériumszuszpenzión, valamint az intracelluláris baktériumot in vitro modellező MTB H37Rv fertőzött MonoMac-6 sejteken határoztuk meg.

Előállítottuk az általunk *in silico* azonosított, fluoreszcens sajátságú, antituberkulotikus hatású kumaronon típusú 6-hidroxi-7-[4-(2-hidroxietil)piperazin-1-ilmetil]-2-[(E)-3-(2-metoxifenil)prop-2-enilidén]benzofurán-3-on (TB5) vegyület konjugálásra alkalmas származékát glutársav-anhidrid alkalmazásával. E vegyületet kapcsoltuk oligotuftsin (OT20) és granulizin peptidhordozókhoz amidkötés kialakításával. Meghatároztuk a konjugátumok *in vitro* 



 Ábra. A MonoMac6 humán monocitikus sejtekről készült mikroszkópos felvételek: (A) a kezeletlen kontrol sejtek fénymikroszkópos képe, (B) a TB5 hatóanyaggal kezelt sejtek nem mutatnak fluoreszcenciát (C) a TB5-OT20 konjugátum és a (D) TB5-granulizin konjugátum sejtbejutását demonstráló fluoreszcens mikroszkópos kép

antituberkulotikus hatását. A sejtbejutás mértékét fluoreszcencia mikroszkóp és áramlási citométer segítségével mértük. MonoMac-6 humán monocita sejtek a TB5 szabad hatóanyagot kis mértékben vették fel, míg a peptidekkel képzett biokonjugátumokat nagyságrendekkel nagyobb mértékben<sup>2</sup> (1. ábra). Az intracelluláris baktériumra kifejtett gátló hatást a fertőzött MonoMac-6 sejteken bizonyítottuk: a konjugált hatóanyag elpusztította az intracelluláris mikróbákat (2. ábra).



**2.** Ábra. Az intracelluláris *MTB*  $H_{37}$ Rv növekedésének gátlása, fertőzött humán MonoMac-6 sejteken: (A) kezeletlen kontrol, a baktérium telepek Löwenstein-Jensen szilárd táptalajon, (B) az INH antituberkulotikum önmagában nem hatásos, (C) az INH-pal-T5 konjugátum, (D) a TB5-OT20 konjugátum, valamint (E) a PLGA pal-T5-INH hatása – a telepek számának jelentős csökkenése a kezeletlen kontrolhoz és az INH-hoz viszonyítva. A kezelés után a sejteket 2,5 %-os steril SDS oldattal lizáltuk, majd a lizátum került kioltásra a szilárd táptalajon.

Kutatásaink során a jelenleg klinikumban alkalmazott izoniazid (INH) antituberkulotikum peptidkonjugátumait is előállítottuk. Az új, irodalomban nem ismert INHpeptidkonjugátumok előállítására két módszert dolgoztunk ki. Az első esetben a hordozó peptid aldehid származékát oldatban reagáltattuk az izoniaziddal. A másik módszer esetében először az INH-t reagáltattuk glioxilsavval, majd a termék redukcióját követően kapott izonikotinoilhidrazinoecetsav származékot kapcsoltuk a szilárd fázison felépített oligopeptid N-terminálisához vagy a lizin aminosav ε-aminocsoportjához. INH-peptidkonjugátumok Az mindegyike gátolta a MTB H37Rv baktérium tenyészetek növekedését az INH MIC értékével közel megegyező koncentrációban.<sup>3,7</sup> Eredményeink azt igazolták, hogy az oligopeptid hordozó egységhez történő kapcsolás a konjugátumban nem befolvásolja az INH in vitro antituberkulotikus hatását MTB H37Rv tenyészeten.<sup>2,3,7</sup>

A kolloidális hatóanyag-szállító/célbajuttató rendszerek közül a biodegradábilis polimerek alkotta nanorészecskéket, mint gyógyszerhordozókat szintén alkalmazhatjuk. A leggyakrabban használt, a szervezetben lebomló szintetikus makromolekula a tejsav/glikolsav kopolimer (PLGA), amelynek hidrolízise során a szervezetben megtalálható, nem toxikus kismolekulák (tejsav, glikolsav) keletkeznek. Mivel az INH hidrofil sajátsága miatt nem tud adszorbeálódni hidrofób polimeren, olyan INH konjugátumot állítottunk elő, amelyben az INH-származék egy palmitinsavval módosított peptid-hordozóhoz (INH-pal-T5) kapcsolódik. E konjugátum megoszlási hányadosa oktanol/víz rendszerben nvolcszorosa volt az INH-ra jellemző értéknek, ami jelzi a hidrofil sajátság jelentős módosulását. Az INH palmitoilezett TKPKG tuftsinszármazékkal képzett konjugátumát PLGA nanokapszulákba csomagoltuk (PLGA pal-T5-INH), és Dr. Kiss Éva csoportjával (ELTE Kémiai Intézet, Határfelületiés Nanoszerkezetek Laboratóriuma) együttműködésben, meghatároztuk a nanorészecskék tulajdonságait atomerő mikroszkóp, pásztázó elektron mikroszkóp és dinamikus fényszórás mérés segítségével. A nanoprecipitációs módszerrel jól reprodukálhatóan állíthattuk elő a 200 nm-nél kisebb átmérőjű részecskéket, a konjugátum esetében nagy kapszulázási hatékonyság (>90%) mellett. Eredményeink azt mutatták, hogy a nanorészecskék stabilitása és méreteloszlása megfelel a kolloidális gyógyszer-hordozókkal szemben támasztott követelményeknek.8 Megállapítottuk, hogy az INH-konjugátumot tartalmazó nanorészecskék a fertőzött MonoMac-6 sejteken elpusztították az intracelluláris baktériumokat (2. ábra).

# 3. Szintetikus antigének a M. tuberculosis fertőzés kimutatására

A M. tuberculosis fertőzöttség kimutatása radiológiai, mikroszkópos, mikrobiológiai és molekuláris biológiai vizsgálatokon, illetve ezek kombinációján alapszik, és rendszerint a diagnózis a betegség előrehaladott stádiumában történik. A szenzitizáltság (MTB fertőzöttség vagy korábbi BCG vakcináció) kimutatása történhet in vitro immunreakción alapuló módszerek segítségével is. A fertőzést követően a baktérium celluláris immunválaszt indukál, és számos specifikus MTB antigén stimulálja a T-sejteket. Az in vitro T-sejt válasz mérésén alapuló diagnosztikai módszerekhez alvadásgátolt perifériás teljes vért, vagy a vérből izolált monomorfonukleáris sejteket (peripheral blood monomorphonuclear cells, PBMC) használnak. A teljes vér vagy a PBMC kultúra stimulálását végezhetjük specifikus MTB immundomináns fehérjékkel, vagy e fehérjékből levezethető szintetikus oligopeptid antigénekkel. Az antigének által kiváltott in vitro immunválasz jellemzésére a termelt citokinek leggyakrabban az interferon-gamma (IFN-γ), mennyiségét határozzák meg. (pl. IGRA tesztek).9 A tesztek specificitása és érzékenysége a stimuláláshoz használt antigénektől jelentős mértékben függ.

Kutatásaink során célunk olyan, *in vitro* körülmények között optimális T-sejt választ kiváltó, szintetikus peptid antigének tervezése és előállítása volt, amelyek alkalmasak a *MTB* fertőzöttség korai és specifikus kimutatására. E peptidek és konjugátumaik a jövőben a gyakorlatban is bevezethető immunodiagnosztikumok lehetnek.

A *MTB* specifikus immunválasz kialakításában két immundomináns fehérje (38 kDa és 16 kDa (Hsp 16.3) glikoprotein) játszik kiemelt szerepet. E fehérjéken – átlapoló oligopeptidekkel (3. ábra) – T-sejt epitópokat lokalizáltunk. Mind a szekretált 38 kDa, mind a 16 kDa fehérje, amely a baktérium dormans állapotában az egyik legnagyobb mennyiségben termelődő fehérje, mind pedig az azonosított szintetikus epitóppeptidek alkalmasak bizonyultak *in vitro* T-sejt válasz indukálására és így a MTB fertőzöttség igazolására.<sup>10-13</sup>



3. Ábra. A 16 kDa fehérje 91-110 szakasz aminosavszekvenciája alapján előállított peptidek: (A) a peptidek, valamint az Ala aminosavcseréket tartalmazó peptidek szekvenciája, (B) a HLA és T-sejt receptor kötődésben kulcsfontosságú aminosavak (vastagított egybetűs kóddal)

Kísérleteinkben bizonyítottuk, hogy a minimális T-sejt epitópok *N*- és *C*-terminálisát követő aminosavaknak (lebegő régióknak) fontos szerepe van az epitópspecifikus immunválasz hatékonyságában. Azt találtuk, hogy az epitóp szekvencia, illetve lebegő régiók megfelelő kémiai manipulálásával növelhető az immunválasz mértéke.<sup>9-12</sup> Szintetikus peptidek, peptidszármazékok alkalmazásával, valamint alanin aminosavcserékkel meghatároztuk a HLA és T-sejt receptor kötődésben szerepet játszó kulcsfontosságú aminosavakat is (3. ábra).

Felismertük azt is, hogy az epitópsajátságú oligopeptid makromolekulával történő konjugációjával tovább növelhető az immunválasz hatékonysága.<sup>10</sup> Megállapítottuk, hogy a hordozóként kiválasztott elágazó láncú polipeptid (poli[Lys(Ser<sub>i</sub>-DL-Ala<sub>m</sub>)] (SAK), poli[Lys(Glu<sub>i</sub>-DL-Ala<sub>m</sub>)] (EAK)) vagy tetratuftsin származék (H-[Thr-Lys-Pro-Lys-Gly]<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>) felépítése, tulajdonságai, a peptid és a makromolekula között kialakított kötés (pl. tioéter vs. amid), valamint a hordozó immunogenitása és az epitóp peptidek konjugátumbeli orientációja jelentősen befolyásolja a *MTB* specifikus in vitro T-sejt válasz mértékét. Kísérleti eredményeink szerint az előállított szintetikus peptid antigének önmagukban, illetve – fokozott mértékben – konjugátumaik alkalmasak specifikus *in vitro* T-sejt válasz kiváltására, és így felhasználhatóak lehetnek a *MTB* fertőzöttség, valamint a látens és aktív TB kimutatására és megkülönböztetésére.

### Köszönetnyilvánítás

Kutatásainkat az OTKA (T 68358, T 68258, T 68120), az NKTH (NKFP\_07\_1-TB\_INTER-HU, a GVOP-3.2.1-2004-04 0005/3.0; GVOP-3.2.1-2004-04-0352/3.0. támogatta.

#### Hivatkozások

- 1. Dyer, C.M. *Tuberculosis*, pp 89-121, Chapter 7 and 8, **2010**, Greenwood Press, Santa Barbara, CA, USA
- Horváti, K.; Bacsa, B.; Szabó, N.; Mező, G.; Grolmusz, V.; Vértessy, B.; Hudecz, F.; Bősze, Sz. *Bioconjugate Chem*. (DOI: 10.1021/bc200221t, Publication Date (Web): April 19, 2012)
- a) Horváti, K. *M. tuberculosis* immundomináns fehérjéiből származtatható mesterséges peptidantigének, valamint antituberkulotikum konjugátumok szintézise és *in vitro* aktivitásuk vizsgálata, PhD értekezés, ELTE, Budapest, 2009 http://teo.elte.hu/minosites/ertekezes2009/horvati\_k.pdf, b) Horváti, K. *Magyar Kémikusok lapja*, 2010, LXV. (7-8), 249-250.
- Mező, G.; Kalászi, A.; Reményi, J.; Majer, Zs.; Hilbert, Á.; Lang, O.; Kőhidai, L.; Barna, K.; Gaál, D.; Hudecz, F. *Biopolymers* 2004, 73, 645-656.
- Szabó, R.; Peiser, L.; Pluddemann, A.; Bősze, Sz.; Heinsbroek, S.; Gordon, S.; Hudecz, F. *Bioconjugate Chem.* 2005, 16, 1442-1450.
- Szabó, R.; Mező, G.; Pállinger, É.; Kovács, P.; Kőhidai, L.; Bősze, Sz.; Hudecz, F. *Bioconjugate Chem.* 2008, 19, 1078-1086.
- 7. Horváti, K;, Mező, G.; Szabó, N.; Hudecz, F.; Bősze Sz. J. *Peptide Science*, **2009**, *15*, 385-391.
- Kiss, É.; Schnöller, D.; Pribranská, K.; Hill, K.; Pénzes, Cs. B.; Horváti, K.; Bősze, Sz. J. Dispers. Sci. 2011, 32, 1728-1734.
- Richeldi, L. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2006, 174, 736-742.
- 10. Hudecz, F. Biologicals, 2001, 29, 197-207.
- Caccamo, N.; Barera, A.; Di Sano, C.; Meraviglia, S.; Ivanyi, J.; Hudecz, F.; Bősze, Sz.; Dieli, F.; Salerno, A. *Clinical and Experimental Immunology* **2003**, *2*, 260-266.
- Bősze, Sz.; Caccamo, N.; Majer, Zs.; Dieli, F.; Mező, G.; Hudecz, F. *Biopolymers (Peptide Science)* 2004, 76, 467-476.
- Caccamo, N.; Meraviglia, S.; La Mendola, C; Bősze, Sz.; Hudecz, F.; Ivanyi, J.; Dieli, F.; Salerno, A. *Eur. J. Immunol.* 2004, *34*, 2220-2229.

### Fehérjék antigénszerkezete: epitóp peptidek, peptid epitópok

URAY Katalin,<sup>a</sup> MAGYAR Anna,<sup>a</sup> BŐSZE Szilvia,<sup>a</sup> SCHLOSSER Gitta,<sup>a</sup> és HUDECZ Ferenc<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup>MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Pázmány P. stny 1/A, 1117, Budapest, Magyarország

<sup>b</sup>Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Pázmány P. stny 1/A, 1117, Budapest, Magyarország

### 1. Bevezetés

Az immunrendszer fő feladata, hogy különbséget tegyen saját és nem saját struktúrák között. Különböző kórokozók (vírusok, baktériumok, paraziták) felismerésén és hatástalanításán túl az immunrendszer a megváltozott saját struktúrákat (pl. a tumor sejtek felszínén megváltozott szerkezettel megjelenő fehérjék) is idegenként, antigénként ismerheti fel. Gyakori azonban, hogy egyrészt nem patogén idegen anyagok, másrészt saját fehérjék, glikoproteinek, nukleoproteinek ellen jön létre immunválasz, az előbbi esetben allergiáról, az utóbbi esetben autoimmun betegségekről beszélhetünk.

Az antigéneket immunoglobulin típusú fehérjék, az ellenanyagok ismerik fel; a felismerés igen specifikus másodlagos kötéseken alapul. Az ellenanyag kötődésért a fehérjének egy igen kis része, az úgynevezett epitóp a felelős, amely lehet egy rövid (4-6 aminosav hosszúságú) folytonos fehérjeszakasz (lineáris epitóp), a fehérje feltekeredéséből adódó stabil másodlagos szerkezetű folytonos szakasz (folytonos, konformációs epitóp), illetve a fehérje szekvenciálisan távoli, de feltekeredés következtében a fehérjefelszínen térben közel elhelyezkedő szakaszaiból is állhat (nem folytonos konformációs epitóp). Az ellenanyagok által felismert epitópok általában a fehérjék hidrofil felszínén helyezkednek el, gyakran vesznek fel βkanyar szerkezetet, vagy találhatók β-kanyar közelében.

Kutatócsoportunkban többek között rákos megbetegedésekkel autoimmun betegségekkel és kapcsolatban is foglalkozunk fehérjék epitópszerkezetének tanulmányozásával. E kutatások célja kettős: 1. Új törvényszerűségek feltárása. amelyek segíthetik megvilágítani, miért viselkednek a fehérjék bizonyos szakaszai epitópként, azaz milyen szerkezeti (pl. szekvencia, konformáció) és biokémiai (pl. poszt-transzlációs módosulások, sejtbeli lokalizáció) tényezőkre vezethető vissza az epitóp-funkció megjelenése. 2. A natív epitópok szerkezeti módosításával olyan peptidek, peptidszármazékok előállítása, amelyek szintetikus antigénként alkalmasak lehetnek mesterséges vakcinák, immundiagnosztikumok kialakítására.

Fehérjék epitópszerkezetének meghatározásához általánosan elterjedt megközelítés a szekvencia lefedése átlapoló peptidekkel, "tűhegy" módszerrel, melynek során polipropilén tűk funkcionalizált felszínén történik a parallel peptidszintézis. Az oldallánc védőcsoportokat lehasítjuk a peptidekről, de a peptidek továbbra is kovalens kötéssel kapcsolódnak a tű felszínéhez. Az ellenanyag kötődési vizsgálatokat módosított ELISÁ-val ezeken a peptideken valósítjuk meg. Amennyiben a finomabb epitópszerkezet

\* Tel.: +36-1-372-2828 ; fax: +36-1-372-2620 ; e-mail: fhudecz@elte.hu

felderítése a cél, az első epitóptérképezés alapján kiválasztott peptideket klasszikus peptidkémiai módszerekkel egyedi, oldható formában is elkészítjük további kötődési vizsgálatokra.

### 2. A MUC2 mucin glikoprotein epitópszerkezete

A nagymolekulatömegű mucin glikoproteineket a belső szervek, testcsatornák, mirigyek hámsejtjei termelik, szerepük a hámszövet nedvesítése és védelme. Ezen hámszövetekből kiinduló rosszindulatú megbetegedések esetén a mucinok túltermelődhetnek, illetve gyakran hiányosan glikozilálódnak, ezáltal az immunrendszer számára hozzáférhetővé válhat a fehérjegerinc, amelyre a szervezet, mint addig ismeretlen antigénre, immunválaszt adhat. Az így megjelenő peptidepitópoknak diagnosztikai és terápiás jelentőségük lehet.

A vastagbéltumorokban megváltozott szerkezetű MUC2 mucin glikoprotein ismétlődő szakaszának epitóp-szerkezetét vizsgáltuk két MUC2 fehérjegerinc specifikus monoklonális ellenanyaggal (MAb 994 és 996). A fehérje ismétlődő szakaszából származó N- és C-terminálison rövidített peptidek segítségével meghatároztuk a MAb 996 ellenanyag minimális (18PTGTQ<sup>22</sup>) és optimális (15TPTPTGTQ<sup>22</sup>) epitópját.<sup>1</sup> A MAb 994 ellenanyag epitópjának a <sup>21</sup>TQTPT<sup>25</sup> peptidszakasz bizonyult,<sup>2</sup> ugyanakkor számos TXTXT szekvencia motívummal rendelkező peptid is kötődött a fehérjegerinc specifikus ellenanyaghoz.<sup>3</sup> Ösztásos-keveréses eljárással készült kombinatorikus peptidkönyvtárak segítségével derítettük fel az 'X' aminosavak szerepét az ellenanyag-kötődésben, a peptidtárakat különféle nagyérzékenységű tömeg-spektrometriás módszerekkel jellemeztük.<sup>4</sup> A MAb 996 ellenanyag <sup>18</sup>PTGTQ<sup>22</sup> epitópján belül az egyes aminosavrészek ellenanyag kötődésben játszott szerepét tanulmányozva megállapítottuk, hogy a GTO szakasz aminosavai csak hasonló méretű és karakterű aminosavakkal helvettesíthetők, míg a <sup>19</sup>Thr az ellenanyag kötődés számottevő csökkenése nélkül cserélhető a prolin kivételével bármely aminosavra.<sup>5</sup> Potenciális tumorellenes vakcina kialakítása céljából az epitóp N- és C-terminális "lebegő" szakaszait szisztematikusan D-aminosavakkal helyettesítve kompetitív ELISA, valamint humán szérumban és lizoszóma preparátumban végzett stabilitás vizsgálatok segítségével megállapítottuk, hogy a <sup>15</sup>TPTPTGTQTPT<sup>25</sup> peptid C- és N- terminálisán két-két aminosav D-aminosavra való cseréje nem befolyásolja a peptid specifikus kötődését az ellenanyaghoz, viszont nagymértékben növeli stabilitását különféle proteázokkal szemben.6

Az epitópok pontos szerkezetének, fehérjén belüli helyzetének megismerése segítséget nyújthat egyrészt olyan

peptidek, peptiszármazékok tervezéséhez, szintéziséhez, amelyek szintetikus célantigének segíthetik a tumorspecifikus ellenanyagválasz – ezáltal a megbetegedés – megjelenésének korai kimutatását, a betegség lefolyásának és a kezelés hatékonyságának követését. Ezen kívül megnyithatják az utat olyan szintetikus immunogének tervezése és előállítása előtt, amelyek tumorellenes vakcinaként az aktív specifikus immunterápia céljaira hasznositható.

# 3. Autoimmun betegségek – autoimmun fehérjék epitópszerkezetének térképezése

Saját fehérjéket felismerő autoellenanyagokat az egészséges immunrendszer is termel, ezek az úgynevezett fiziológiás ellenanyagok azonban kis affinitással kötődnek a fehérjékhez, és jelenlétük nem jár a felismert fehérje elleni, azt megsemmisítő immunválasszal. Általában a genetikailag erősen konzervált fehérjék ellen figyelhetők meg autoantitestek, ezek a fehérjék alkotják az immunrendszer számára a szervezet belső lenyomatát, az immunológiai toleranciát lehetővé tevő "immunológiai homunculus"-t.

Az autoimmun betegségek olyan kórképek, amelyekben a szervezet saját szöveteit, sejtjeit támadó gyulladásos folyamatok vannak jelen. A betegek szérumából nagy affinitású, saját, humán fehérje elleni autoellenanyagok mutathatók ki. Az érintett fehérjék lehetnek az immunológiai homunculus alkotóelemei (pl. hősokk-proteinek, citrátszintáz enzim), ilyen esetekben megváltozott epitópspecifitású és affinitású ellenanyagok jelennek meg a keringésben. Feltételezhető, hogy – genetikai faktorokon kívül - fertőzések során hasonló szerkezetű bakteriális/virális fehérjék elleni immunválasz válthatja ki a változást. Más esetekben kevésbé konzervált fehérjék poszttranszlációs módosulások hatására a fehérje megváltozott szerkezete válthat ki kóros immunválaszt. Például a peptidil-arginindeimináz (PADI) enzimek az arginin – citrullin átalakulást katalizálva bizonyos fehérjékben (fibrin, filaggrin, vimentin) megváltoztatják a töltésviszonyokat, amelynek hatására változhat a térszerkezet. Ez új peptidepitópok megjelenését vonja maga után, ami új, patogén ellenanyagok bioszintéziséhez, az autoimmun betegség megjelenéséhez vezethet.

Az utóbbi évtizedben Kutatócsoportunk több, autoimmun betegségekkel kapcsolatos kutatásban is részt vett. Klinikai partnerekkel együttműködésben a célkitűzés e betegségekre jellemző fehérjék autoimmun epitópjainak azonosítása, felfedezése volt.

# 3.1. Fiziológiás és patológiás autoellenanyagok konzervált fehérjék ellen

A hősokk fehérjék (HSP, chaperonfehérjék, stresszfehérjék) minden élő szervezetben előfordulnak, különféle stresszhatásokra megnövekedett mennyiségben. Szerepük а részlegesen denaturálódott fehérjék funkcionális szerkezetének helyreállítása, illetve újonnan képződött (folding) feltekeredésének elősegítése. fehérjék A citrátszintáz а citromsavciklusban létfontosságú, konzervált mitokondriális belsőmembrán enzim. Mind a hősokk fehérjék, mind a citrátszintáz része az immunológiai homunculusnak, így egészséges személyek szérumából is kimutathatók HSP, illetve citrátszintáz specifikus ellenanyagok. Különféle autoimmun eredetű betegségekben (HSP – autoimmun atherosclerosis, Crohn betegség, I. típusú diabetes mellitus; citrátszintáz – primer biliáris cirrózis) megváltozott mennyiségű és specificitású autoellenanyagok termelődnek e fehérjék ellen. Feltételezések szerint fertőzések után a bakteriális fehérjék ellenes immunválasz hatására epitópterjedéssel keletkeznek új, patológiás autoellenanyagok erre genetikailag hajlamos egyénekben. A fiziológiás és patológiás autoellenanyagok megkülönböztetése nemcsak elméleti, hanem klinikai szempontból is érdekes kérdés az autoimmun betegségek diagnózisában, kezelésében, annak követésében, valamint távlatilag megelőzésében és specifikus immunterápiájában is.



1. Ábra. A humán HSP60 hősokkprotein monomerjének térszerkezete. A diabetes betegek szérum autoellenanyagai a szalagszerkezettel jelölt fehérjeszakaszokhoz kötődtek.

Együttműködésben Prof. Füst Györggyel és munkatársaival (Semmelweis Egyetem III. sz. Belgyógyászati Klinika) a humán és a homológ mikobakteriális 60 kDa-os hősokk fehérje (HSP60) specifikus autoellenanyagok epitópspecifitását vizsgáltuk egészséges személyeknél és különböző autoimmun betegségekben. Az érintett térszerkezetének/hidropátiás tulajdonságainak fehérjék predikciója alapján kiválasztott régiókat lefedő, átlapoló peptidszakaszokat állítottunk tűhegy módszerrel, amelyek kötődését módosított ELISA kísérletekben szérummintákkal vizsgáltuk. Számos olyan humán HSP60 peptidszakaszt azonosítottunk, amelyekhez kötődni képes, arra specifikus ellenanyagokat az egészséges populáció is termel, miközben a homológ bakteriális peptidszakaszt felismerő ellenanyagok jelenlétét nem tapasztaltuk. Ezen autoellenanyagok jelenléte tehát nem fertőzés következménye, hanem feltehetően általános védő-ellenanyagként funkcionál.7

Crohn-betegségben és koronáriás szívbetegségben (coronary heart disease, CHD) szenvedő betegek, valamint egészségesek szérumellenanyag specifitását összehasonlítva jelentős különbségeket tapasztaltunk: megkülönböztettünk bakteriális HSP specifikus, humán HSP specifikus és keresztreagáló peptidszakaszokat. Crohn-betegség esetén az epitópspecifitás az egészséges szérumhoz volt hasonló. Ezzel szemben a bakteriális peptideket felismerő ellenanyagok kötődése szignifikánsan nagyobb mértékű volt. Ez összhangban van a betegség esetleges bakteriális eredetével. Koronáriás szívbetegek (CHD) esetében az ellenanyag felismerés mintázata a legtöbb humán HSP60 peptidszakaszra nézve az egészséges széruméhoz hasonlított. Ugyanakkor azonosítottunk egy CHD specifikus epitóprégiót is a humán HSP60 fehérjén. A bakteriális hősokk fehérje specifikus ellenanyagok nem voltak kimutathatóak, tehát a betegség kialakulásában bakteriális fertőzés valószínűleg nem játszik szerepet.<sup>8</sup> Az I. típusú diabetes mellitusban szenvedő gyermekek szérumában két olyan ellenanyag-populációt azonosítottunk, amely a humán HSP60 fehérje egy-egy szakaszát (394-413 és 435-454) specifikusan felismeri .<sup>9</sup>

A másodlagos szerkezet predikciója, valamint a fehérje háromdimenziós szerkezetének homológia modellezése (E. coli citrátszintáz) alapján potenciális epitóprégiókat lokalizáltunk a humán mitokondriális citrátszintáz enzimen. A kiválasztott, valószínűsített régiókat átlapoló dekapeptidekkel fedtünk le. Prof. Németh Péterrel és munkatársaival (Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet) egvüttműködésben a tűhegyen előállított peptidekkel egészségesek és autoimmun betegek szérumában IgG és IgM autoantitestek kötődését vizsgáltuk. Az autoimmun betegek és egészségesek szérumában különbséget detektáltunk az IgG molekulákhoz kötődő peptidek szekvenciájában. Különösen nagy eltérés (növekedés) mutatkozott az IgM fehérjéhez kötődő peptidek számában, szekvenciájában és a kötődés erősségében az autoimmun betegek csoportjában.10

A saját fehérje ellenes ellenanyagok jelenléte, koncentrációja és epitópspecifitása fontos információt nyújthat az adott fehérjével kapcsolatos autoimmun betegség kialakulásáról, a beteg állapotáról, a kezelés hatékonyságáról. A felismert epitópok azonosítása e betegségek specifikus immunterápiájának is alapja lehet, szemben a jelenleg gyakran alkalmazott általános immunszuppresszióval és gyulladásgátlással.

# 3.2. Citrullinált fibrin specifikus autoellenanyagok rheumatoid arthritisben

A rheumatoid arthritis (RA) ismeretlen eredetű, elsősorban a kéz és a láb kisízületeit szimmetrikusan érintő, autoimmun patomechanizmusú, krónikus, progresszív sokízületi gyulladás, mely az ízületek destrukciója miatt súlyos mozgáskorlátozottságot okoz. Genetikus adottságokon kívül hormonális és környezeti tényezők vezethetnek a betegség manifesztálódásához, illetve a nyugvó betegség fellobbanásához.

Az RA diagnosztikájában hangsúlyozott szerepet töltenek be az immunszerológiai laboratóriumi vizsgálatok. Az utóbbi években nagy specifitású, citrullinált fehérjéket, illetve peptideket felismerő autoantitesteket (ACPA) azonosítottak RA-s betegek szérumában. Nagyfokú specifitásuk alapján feltételezhető, hogy szerepük van a rheumatoid arthritis pathomechanizmusában.

A rheumatoid arthritis kialakulásban fontos szerepet játszó, esetenként Arg helyett Cit-t tartalmazó fibrin fehérje ( $\alpha$ - és  $\beta$ -lánc) antigénszerkezetét tanulmányozva Dr Guy Serre professzorral és munkatársaival (CNRS-Université Toulouse) folytatott közös kutatásaink során három immundomináns epitóprégiót azonosítottunk. A fibrin  $\alpha$ - és  $\beta$ -láncából

származó  $\alpha$ 36-50 és  $\beta$ 60-74 peptidek olyan sorozatát állítottuk elő, amelyben az arginin helyett esetenként citrullin szerepel. Az Arg/Cit tartalmú heptapeptidek szérum ellenanyag kötődésének összehasonlító tanulmányozása alapján jelentős különbséget tapasztaltunk az egészségesek és betegek mintái között. Megállapítottuk, hogy az  $\alpha$ láncból a Cit-Val-Val-Gln és a Val-Gln-Cit-His-Glu tetraés pentapeptidek, míg a  $\beta$ -láncból a Gly-Tyr-Cit-Ala-Cit pentapeptid új, a betegségre specifikus epitópokként viselkednek.<sup>11</sup> A citrullin helyett a natív arginint tartalmazó peptideket a betegek szérumellenanyagai nem ismerték fel.

E felismerés lehetővé teheti a betegség korai diagnosztizálásán kívül a pontos prognózis felállítását új peptid-konstrukciók (analógok, származékok, konjugátumok) kifejlesztése révén. Ugyancsak felvethető e vegyületek kipróbálása az autoantigén-specifikus B-sejtek eliminálására, az RA kezelésére alkalmas, új immunmodulációs stratégiák kidolgozására.

#### Köszönetnyilvánítás

Kutatásainkat az OTKA (68358, 68258, 68120), a GVOP-3.2.1-2004-04 0005/3.0 és az NKTH-ANR RAPEP\_09 programok támogatták.

#### Hivatkozások

- 1. Uray, K.; Price, M.R.; Hudecz, F. J. Peptide. Sci. 1998, 4, 319-326.
- 2. Uray, K.; Hudecz, F. Molecular Diversity 2012, 16, 103-112.
- Uray, K.; Price, M.R.; Majer, Zs.; Vass, E.; Hollósi, M.; Hudecz, F. Arch. Biochem. Biophys. 2003, 410, 254-260.
- Windberg, E.; Uray, K.; Illyés, E.; Skribanek, Zs.; Price, M.R.; Sebestyén, F.; Hudecz, F. J. Peptide Sci. 2004, 10, 56-
- 65.
  5. Schlosser, G.; Takáts, Z.; Vékey, K.; Pócsfalvi, G.; Malorni,
- A.; Windberg, E.; Kiss, A.; Hudecz, F. J. Peptide Sci. 2003, 9, 361-374.
- Tugyi, R.; Uray, K.; Iván, D.; Fellinger, E., Perkins, A.; Hudecz, F. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2005, 102, 413-418.
- Uray, K.; Hudecz, F.; Füst, G.; Prohászka, Z. Int. Immunol. 2003, 15, 1229-1236.
- Füst, G.; Uray, K.; Bene, L.; Hudecz, F.; Karádi, I.; Prohászka, Z. Cell Stress Chaperons 2012, 17, 215-227.
- Horváth, L.; Cervenák, L.; Oroszlán, M.; Prohászka, Z.; Uray, K.; Hudecz, F.; Baranyi, E.; Madácsy, L.; Singh, M.; Romics, L.; Füst, G.; Pánczél, P. *Immunol. Lett.* **2002**, *80*, 155-162.
- Nyárády, Z.; Czömpöly, T.; Bősze, S.; Nagy, G.; Petrohai, A.; Pál, J.; Hudecz, F.; Berki, T.; Németh, P. *Mol. Immunol.* 2006, *43*, 830-838.
- Iobagiu, C.; Magyar, A.; Nogueira, L.; Cornillet, M.; Sebbag, M.; Arnaud, J.; Hudecz, F.; Serre, G. J. Autoimmun. 2011, 37, 263-272.

### New results from the Research of Peptide Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences at Eötvös Loránd University

This paper provides an outline on the recent results obtained at the Research Group of Peptide Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences at Eötvös Loránd University. Selected examples illustrate the achievements in relation to a) the design and synthesis of biologically active peptides and peptide conjugates; b) perform structure-function studies for therapeutical applications and c) the development of immunodiagnostics. The research activities summarized in this communication are focused on three main fields:

• Cancer research: Targeting of antitumour drugs by chemical conjugation with oligo- and polypeptides possessing recognition unit to increase tumour cell specificity, lower toxic side effects. Analysis the antitumour effect of conjugates *in vitro* and *in vivo*. Investigation of the potential mechanism of action.

• TB research: Identification of linear epitopes suitable for early diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection. Synthesis of epitope peptide conjugates with carrier molecules for the development of immunoassays with various specificities/cross-reactivities (e.g. HIV). Conjugation of traditional or *in silico* selected antitubercular drugs with peptide carrier to increase their efficacy.

• Immunochemical studies: Design and synthesis of peptide "superantigens" for diagnostics and/or synthetic vaccine development. Target proteins: mucin glycoproteins (cancer), herpes simplex virus glycoprotein D, heat shock proteins, filaggrin, fibrin (rheumatoid arthritis), beta-amyloid (Alzheimer's disease).

During the last years the Research Group of Peptide Chemistry reported novel synthetic conjugation strategies as well as analytical methods in relation to the preparation and functional characterization of new bioconjugates. By systematic structurefunction studies new, biologically active conjugates of receptor binding (GnRH, somatostatin) or cell penetrating oligopeptides as well as polypeptides with antitumour (anthracyclines, folate antagonist, vinblastine or ferrocene derivatives) or antitubercular (e.g. INH, TB5) compound, with enzyme activator/substrate or epitope peptide. In case of the most active conjugates promising first studies were performed to understand the mechanism of action (e.g. intracellular degradation, interaction with DNA, effect on the tubulin system, identification of the role of "scavenger A" receptor, analysis of the conjugate induced protein expression profile. By these preliminary studies we have postulated some structural parameters that are potentially responsible for the biological activity, immunorecognition (e.g. binding, cellular uptake).

The results of the research projects attracted a number of MSc and PhD students. 13 PhD theses and > 50 master theses were completed between 2001 and 2011. The studies are closely connected with grants obtained from the Hungarian Academy of Sciences (since 1961) to support the research activities of the Research Group of Peptide Chemistry at Eötvös L. University (recently 174 mFt for the period of 2012-2016). In addition these studies are relying on the results of previous and present International collaborations including bilateral (British-Hungarian, Spanish-Hungarian, Indian-Hungarian, Italian -Hungarian, French-Hungarian) and multilateral FP6, WHO and COST Chemistry Actions (e.g. D13/007/00 Working Group and CM1106 Working Group).

### Kondenzált fázisú kvantum molekuladinamikai vizsgálatok a hidratált elektron modelljén keresztül

TÚRI László,<sup>a,\*</sup> MADARÁSZ Ádám,<sup>a</sup> Daniel BORGIS<sup>b</sup> és Peter J. ROSSKY<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Pázmány Péter sétány 1a, 1117 Budapest, Magyarország

<sup>b</sup>Pôle de Chimie Théorique, UMR-CNRS PASTEUR, Ecole Normale Supérieure, 24, rue Lhomond, 75231 Paris Cedex 05, France

<sup>c</sup>Department of Chemistry and Biochemistry and Institute for Computational Engineering and Sciences, University of Texas at Austin, Austin, TX 78712

### 1. Bevezetés

Vizes közegben, vagy általánosabban folyadékfázisban, lejátszódó fizikai és kémiai folyamatok jelentőségét többek között az adja, hogy a biomolekuláris történések túlnyomó része folyadékfázisban zajlik le. Ezek a folyamatok azonban a részt vevő molekulák nagy száma és mérete miatt rendkívül bonyolultak, a molekuláris szintű történések mechanizmusának, dinamikájának felderítése éppen ezért jelenleg még meghaladja a tudományos megismerés lehetőségeit. Bár a kísérleti módszerek elképesztő ütemű fejlődése következtében ma már femtomásodperces időskálán lejátszódó molekuláris történésekről szerezhetünk információt, ezen információknak a valós történésekkel történő megfeleltetése, azaz az észlelt jelek interpretálása a kísérletek kivitelezésével azonos bonyolultságú kihívást jelent. A kísérleti jelek értelmezéséhez elméleti, molekuláris modellekre van szükség. Az elméleti módszerek esetén a nehézséget az jelenti, hogy a vizsgált rendszer összes elektronja és atommagja viselkedésének leírását adó időfüggő Schrödinger egyenlet megoldása csak nagyon kicsi - néhány atommagot és néhány elektront tartalmazó - rendszerekre lehetséges. A kondenzált fázisokban lejátszódó, óriási számú részecske közreműködésével lejátszódó folyamatok elméleti vizsgálatát alapvetően két módon közelíthetjük meg. Egyrészt egyszerűsített modellek vizsgálatát hajtjuk végre, másrészt a vizsgálati, szimulációs módszerekben bizonyos fokú közelítéseket veszünk figyelembe. Az ELTE Kémiai Intézete Kémiai Informatikai Laboratóriumában mindkét közelítést egyidejűleg használjuk aktuális problémáink megoldására. A jelen munka célja egy, a folyadékfázisú fizikai és kémiai, vagy általánosabban relaxációs folyamatok részletei alapvető összefüggéseinek megértésére alkalmas modell, a folyadékfürdőbe helyezett egyetlen felesleg elektronból álló rendszer, a szolvatált (hidratált) elektron kvantum molekuladinamikai szimulációja, a szimulációs eredmények elemzése, és azok felhasználása a kísérleti adatok interpretálására.

A hidratált elektron egy olyan, kísérletileg is előállítható spéciesz,<sup>1</sup> melyben a folyadékfázisba elhelyezett oldott részecske, vagy általánosabban a reaktáns szerepét egyetlen felesleg elektron játssza. A hidratált elektron, mint egy vízfürdőbe "helyezett" próbarészecske, vizsgálata több más szempontból is izgalmas. Először is, a hidratált elektron egy sor jelenségben játszik fontos szerepet, leggyakrabban mint reaktív köztitermék. A példák sora a radiokémiától, a magaslégköri kémiától, az elektrontranszfer folyamatokig,

az elektrokémiáig, a fotoelektrokémiáig terjed.<sup>2</sup> A hidratált elektron, mivel atommagokhoz társuló szabadsági fokkal nem bír, a legegyszerűbb oldott részecskeként, valamint a legegyszerűbb redukálószerként is felfogható. Relatív következtében kísérleti egyszerűsége manipulálása, például gerjesztése jól kontrollálható. Ugyanez a praktikus szempont, a rendszer egyszerűsége, teszi a szolvatált elektront az elméleti kémikusok vizsgálatainak egyik közkedvelt tárgyává. A hidratált elektron azonban csak a még bonyolultabb folyadékfázisú rendszerekkel összehasonlításban tűnik egyszerűnek és könnven kezelhetőnek. Ez a megtévesztő egyszerűség a hidratált elektron rendszert folyamatosan a tudományos érdeklődés előterében tartja, amit a legrangosabb folvóiratokban megjelenő kísérleti és elméleti publikációk sora igazol.<sup>3-10</sup> Mivel a hidratált elektron dinamikája rendkívül gyors, a kísérletek kivitelezése (és azok értelmezése) technikailag nehézkesebb, mint más oldószerek esetén. Az oldószerek megváltoztatásával, más poláros oldószerek alkalmazásával (például metanol) a dinamika bizonyos részletei kizárhatók, más hozzájárulások, momentumok felerősíthetők, és hangsúlyozhatók. Ezért a hidratált elektron vizsgálata mellett más poláros oldószerekben szolvatált elektronok vizsgálata is hozzájárulhat a relaxációs folyamatok kulcs mozzanatainak megértéséhez.

# 2. A szimulációs módszer: kevert kvantumos-klasszikus molekuladinamikai szimulációk

A kondenzált fázisokban lejátszódó elemi fizikai történések modellezésének leghatékonyabb eszközei a különböző atomisztikus modelleken alapuló folyadékszimulációs technikák. Mivel a valóst megközelítő méretű szolvatált elektron rendszer teljes kvantummechanikai/dinamikai kezelése kivitelezhetetlen, munkánk során nyilvánvalóan elkerülhetetlen különböző szintű közelítések bevezetése. A hagyományos, klasszikus mechanikai törvényeken alapuló módszerek azonban nem képesek a részecskék között ható, alapvetően kvantumos kölcsönhatások megragadására. Ezért gyakran a tisztán klasszikus mechanikán alapuló módszereket meghaladó, úgynevezett kevert kvantumos-klasszikus módszerek alkalmazására van szükség. A kevert kvantumosklasszikus szimulációk során a rendszer egy részét, általában az oldószer részecskéit, a klasszikus mechanika szabályai szerint kezeljük, a rendszer kémiai szempontból legfontosabb részletére, például az oldott részecskére, explicit módon megoldjuk a Schrödinger-egyenletet. A kevert kvantumos-

\*Tel.: 372-2500/1506; fax: 372-2592; e-mail: turi@chem.elte.hu

klasszikus molekuladinamikai módszerek kidolgozásában és tesztelésében alkalmazható legegyszerűbb modell egy klasszikus fürdőbe helyezett, a kvantummechanika elvei szerint kezelt szolvatált elektron.

A következőkben vázlatosan bemutatjuk szolvatált elektron szimulációjára általunk alkalmazott számítási módszer legfontosabb alkotórészeit. A számítások pontosabb leírása az irodalomban megtalálható.<sup>11</sup> A molekuladinamikai szimulációk során a klasszikus folyadékszimulációs technikák általános eszköztárát vesszük igénybe, egy kocka alakú szimulációs dobozt, a periodikus határfeltételeket, illetve a minimum kép (minimum image) konvenciót.12 Bár munkánk során nemcsak végtelen, háromdimenziós rendszerek (a tömbfázis) szimulációját hajtjuk végre, hanem határfelületi szimulációkat is, valamint véges méretű molekulafürtöket is vizsgálunk, az előbb felsorolt technikai eszközök megfelelőképp módosíthatók az aktuális határfeltételek mellett vizsgált problémában. Felületek szimulációjakor például a periodikus határfeltételeket az egyik irányban (a felület irányában) kell megfelelőképpen módosítani. A szimulációk során az oldószermolekulákat a klasszikus mechanika törvényei szerint kezeljük, míg az elektron kezelésében a kvantummechanika elveit követjük. Az oldószermolekulák kölcsönhatását atomokon centrált potenciálokkal írjuk le. A víz-víz kölcsönhatás modellezésére egy egyszerű, három kölcsönhatási helyet tartalmazó, intramolekuláris rezgési, szabadsági fokokat is figyelembe vevő klasszikus potenciált használunk.<sup>13,14</sup> A kvantumos elektron és a klasszikus oldószermolekulák kölcsönhatását úgynevezett pszeudopotenciálokkal írjuk le.<sup>15</sup> A pszeudopotenciálok kiválasztása a szimulációs technika döntő fontosságú része, ahogy ezt rövidesen illusztráljuk majd. Szimulációinkban az általunk kidolgozott elektron-vízmolekula pszeudopotenciált alkalmazzuk.<sup>16,17</sup> A szimulációk legtöbbjében a hosszú távú kölcsönhatások hatását figyelmen kívül hagyjuk, ami a gyakorlatban azt jelenti, hogy a klasszikus-klasszikus és a klasszikuskvantumos kölcsönhatásokat a szimulációs cella felének megfelelő távolságban egy nullához tartó sima levágási függvény alkalmazásával nullához közelítjük.<sup>18</sup> A felesleg elektron hullámfüggvényét egyszerűbb függvények lineáris kombinációjaként (az ún. síkhullám-bázison) egy kocka diszkrét rácspontjaiban reprezentáljuk. A kocka méretét és a rácspontok számát az adott probléma és a problémában szimulált oldószermolekulák száma szabja meg. Ez utóbbi ma már néhány száztól néhány ezer molekuláig terjed. A rácspontok száma szimulációinkban általában 16×16×16, 32×32×32 vagy 64×64×64. Az adott magkonfigurációhoz tartozó időfüggetlen Schrödinger-egyenlet megoldásához, mely mátrix diagonalizálással ekvivalens, egy iteratív Lánczos-eljárást alkalmazunk.<sup>11,17</sup> Az adiabatikus (egyetlen elektron poteniálfelületen haladó) dinamika során a klasszikus részecskékre a klasszikus részecskéktől ható klasszikus erő és a kvantumos elektron adott magkonfigurációhoz tartozó betöltött állapotától származó kvantumos erő összege hat.<sup>11,17</sup> A kvantumos és a klasszikus erők ismeretében a klasszikus fürdő mozgásegyenleteit a Verlet-módszernek megfelelően integráljuk.<sup>12</sup> Szimulációinkat a mikrokanonikus sokaságban hajtjuk végre, az időlépés 1 fs. A szimulációk során nem használunk töltéskompenzációt, ami a közönséges ionokat tartalmazó oldatok szimulációjának konvencionális módja. A szimulációk mögötti implicit feltételezés szerint a vizsgált rendszerekben lokalizált töltések híg oldatait modellezzük.

A kevert kvantumos-klasszikus molekuladinamikai szimulációk legfontosabb információit a szimulációs trajektóriák hordozzák. A trajektóriák az idő függvényében megadják a rendszer viselkedését, az oldószermolekulák koordinátáit, sebességét, valamint az elektron hullámfüggvényét. Ezen információk statisztikai analízisével juthatunk el a rendszerre jellemző, kísérletekkel is ellenőrizhető fizikai tulajdonságokhoz.

### 3. Eredmények

### 3.1. A hidratált elektron szerkezete

A hidratált elektron szerkezetére vonatkozó széles körben elfogadott modell szerint az elektron a tiszta víz kicsiny üregeiben lokalizálódik oly módon, hogy a vízmolekulák hidrogénatomjai az elektron irányába orientálódnak. Az üreg-modell szerint a hidratált elektron oldódása tehát nagyon hasonló a hétköznapi anionok, például a kloridion oldódásához. Elektron-spin rezonancia<sup>19</sup> és rezonancia Raman spektroszkópiás mérések<sup>20</sup> eredményei is konzisztensek az üreg-modellel. A legtöbb szimuláció, így az általunk kidolgozott pszeudopotenciállal elvégzett számítás is üreg-szerkezetet jósol, ahogy azt az 1. ábra is mutatja.



1. Ábra. A hidratált elektron üregszerkezete a molekuladinamikai trajektória egy pillanatfelvételén

Az ábrán piros gömbök jelölik az oxigénatomokat, fehérek a hidrogénatomokat, míg az ábra közepén látható az a felület, melyen belül a felesleg elektron 80 %-os valószínűséggel tartózkodik.

Egy nemrégiben a Science című folyóiratban megjelent molekuladinamikai szimuláción alapuló tanulmány azonban ettől drámaian eltérő, alternatív szerkezetre következtetett.<sup>9</sup> Ezek szerint az elektron nem az oldószer üregeiben lokalizálódik, hanem számos vízmolekulára kiterjedő módon delokalizálódik, s eközben az általa lefedett térrészben lokálisan megnöveli a víz sűrűségét. Az üreg-szerkezet és a delokalizált szerkezet különbsége legérzékletesebben az elektron-hidrogénatom párkorrelációs függvényen szemléltethető (2. ábra). Ez a függvény a víz hidrogénatomjainak valószínűségi eloszlását adja meg a felesleg elektron eloszlásának középpontja körül. Az ábrán jól kivehető, hogy az üreg-szerkezet esetén az elektron ~1 Å sugarú környezetében a hidrogénatomok megtalálási valószínűsége zérus,<sup>17</sup> a delokalizált szerkezet esetén viszont a hidrogénatomok szabadon behatolhatnak a felesleg elektron felhőjébe.<sup>9</sup>



 Ábra. A hidratált elektron szimulált elektron-hidrogén párkorrelációs függvénye üregszerkezet (piros görbe) és delokalizált szerkezet (kék görbe) esetén.

Mivel ez a tanulmány alapvetően kérdőjelezte meg a közel száz éve fennálló modellt, a cikk állításait részletes analízisnek vetettük alá.21 A probléma vizsgálata során egyszerű modellekre hajtottunk végre egzakt számításokat (például, egy elektron Schrödinger egyenletének megoldása egy vízmolekula és egy külső potenciál jelenlétében). Eredményeink azt mutatták, hogy a kevert kvantumosklasszikus szimulációs módszer kritikus eleme az elektron és a vízmolekula kölcsönhatását leíró effektív potenciál, az ún. pszeudopotenciál. A fenti cikkben leírt delokalizált szerkezet az ott alkalmazott kölcsönhatási potenciál inkonziszetens levezetésének a következménye, mellékterméke. Így ezt az eredményt csak nagy elővigyázatossággal szabad kezelni! Hasonló következtetésre jutott egy másik tanulmány is magas szintű ab iníció számításokkal összehasonlításban.22 Meg kell azt is jegyezni, hogy egy nemrég megjelent összehasonlító tanulmány kimutatta, hogy a hidratált elektron fontos fizikai tulaidonságainak reprodukálásában az általunk használt, üreg-szerkezetre vezető pszeudopotenciál messze megbízhatóbb az újonnan javasolt modellnél.23 Csak érdekességképpen, a felesleg elektron eloszlása méretének jellemzésére alkalmas effektív elektronsugár kísérleti értékét számításaink pontosan reprodukálják (2,45 Å vs. 2,42 Å kísérleti érték),<sup>17,24</sup> míg a delokalizált szerkezet jóval nagyobb értéket (2,69 Å) jósol.<sup>23</sup> A probléma sokszínűségét bizonyítja, hogy nemrég jelent meg egy új elektron-vízmolekula pszeudopotenciál, mely az előző két potenciállal szemben polarizálható vízmolekulákat tartalmaz.25 Ez jelentős előrelépés az előző potenciálokhoz képest. A legújabb potenciállal végrehajtott hidratált elektron szimulációk eredményei,25 valamint több-elektronos ab iníció kvantum molekuladinamikai szimulációk eredményei<sup>26</sup> is üregszerkezetre engednek következtetni.

Az utóbbi években a területen kutatók figyelme egyre inkább a véges méretű hidratált elektron rendszerek, víz

molekulafürt-anionok felé fordult.27 Ezek a molekulafürtök a töltött molekuláris rendszerek egyik igen érdekes csoportját alkotják. A víz molekulafürt-anionok a hidratált elektron modelljének is tekinthetők átmenetet képezve a gázfázisú és a folyadékfázisú rendszerek között. Mind a véges méretű víz molekulafürt-anionok, mind a hidratált elektron központi szerepet játszanak egy sor fontos fizikai folyamatban, ahogy azt egy nemrégiben megjelent összefoglaló dolgozat illusztrálja a vizes közegekben elektronok által inicializált fizikai és kémiai folyamatok áttekintése során.<sup>2</sup> Legújabb kutatásaink középpontjában a néhány vízmolekulából és egy felesleg elektronból álló, véges méretű hidratált elektron rendszerek, a víz molekulafürt-anionok fizikai tulajdonságainak megértése áll. A víz molekulafürt-anionok minden szempontból kielégítő jellemzése hosszú időn keresztül problematikusnak bizonyult. A legelső kísérleti<sup>27</sup> és elméleti munkák<sup>28</sup> óta a hangsúly az elektronszerkezet és az ezzel összefüggő tulajdonságok felderítésén volt. Elméleti tanulmányok két, könnyen megkülönböztethető izomer létét jósolták meg (3. és 4. ábra).28



3. Ábra. Az 500 vízmolekulából álló fürt anion felületi elektronállapotú izomerje a megfelelő elektroneloszlásokkal. A bíbor színű felület az elektronsűrűség 80 %-át magába foglaló izofelületet jelöli.



4. Ábra. Az 500 vízmolekulából álló fürt anion belső elektronállapotú izomerje a megfelelő elektroneloszlásokkal. A bíbor színű felület az elektronsűrűség 80 %-át magába foglaló izofelületet jelöli.

A felületi elektronállapotú fürtökben a molekulafürt molekuláinak konfigurációja a felesleg elektront egy olyan

állapotban stabilizálja, mely elektronsűrűsége túlnyomórészt a molekulafürtön kívül található. Ezzel szemben a belső elektronállapotú molekulafürtök a felesleg elektront a fürt belsejében kialakuló kompakt oldószerüregben kötik meg. Ez utóbbi állapot analóg a tömbfázisban észlelhető hidratált elektron állapotával. Meglepő módon a növekvő méretű víz molekulafürt-anionokon végrehajtott kísérletek az észlelt fizikai tulajdonságok (vertikális ionizációs energia, abszorpciós spektrumok) törés nélküli konvergálását jósolták a tömbfázisú hidratált elektron tulajdonságaihoz.<sup>29,30</sup> Ez alapján a korai kísérleti munkák egyöntetűen belső elektronállapotot tulajdonítottak az észlelt víz molekulafürtanionoknak.

A képet tovább bonyolítja, hogy a folytonos dielektrikumok elméletén alapuló egyszerű modellek szerint mindkét elektroneloszlás konzisztens lehet a kísérleti észlelésekkel.<sup>31</sup> A negatívan töltött víz molekulafürt-anionok jelentőségét illusztráló legújabb kísérleti<sup>3,4,32,33,34</sup> és elméleti is munkák<sup>5,35,36,37</sup> a probléma újabb részleteire világítottak rá. Az általunk elvégzett szimulációk bebizonyították, hogy a felesleg elektron lokalizációja a felületi vagy a belső elektronállapotban a fürt méretétől és belső energiájától függ.<sup>5,35</sup> Kisebb méretű fürtök a felesleg elektront a felületükön stabilizálják, de felületi állapot jöhet létre nagyobb fürtméreteknél is, nagyobb belső energia mellett. A tanulmány szintén megmutatta, hogy a felületi állapotú molekulafürtök és a belső állapotú fürtök drámaian eltérő fizikai tulajdonságokkal rendelkeznek. Így ezek a tulajdonságok elvileg alkalmasak lehetnek az izomerek megkülönböztetésére. A fürt-anionok szerkezetével kapcsolatos jellemző példa a felesleg elektron méretének fürtmérettől való függése. A kísérleti eredmények statisztikai analízise arra utal, hogy a molekulafürtökben az elektron mérete fokozatosan csökken a fürt méretének növekedésével.<sup>38</sup> Szimulációink tanulsága szerint a felületi állapotú fürtök mutatnak ilyen viselkedést, míg a belső állapotú fürtök esetén az elektron mérete független a mérettől, értéke jól megegyezik a tömbfázisú hidratált elektron sugarával. Ezek a tendenciák jól látszanak az 5. ábrán.<sup>5,35</sup> Ez az eredmény tehát arra utal, hogy a kísérleti eredmények kezdeti értelmezését, amennyiben azok belső állapotot tételeztek fel a víz molekulafürt anionokban, kritikusan kell fogadni.



5. Ábra. A felesleg elektron sugara a víz-molekulafürt anionok mérete függvényében molekuladinamikai szimulációkból. A kék szimbólumok mutatják a felületi állapotú fürtöket, míg a pirosak a belső állapotú izomernek felelnek meg.

### 3.2. A hidratált elektron energiája

A hidratált elektron legfontosabb energetikai jellemzője felesleg elektron vizes fázisból történő állandó magelrendeződés melletti eltávolításához szükséges energia, a vertikális ionizációs energia (VIE). A legelső kísérleti munkák véges méretű molekulafürt anionok ionizációjához szükséges energia méretfüggéséből, a végtelen fürtméretre történő extrapolációval 3,3 eV értékre következtettek.<sup>30</sup> A legújabb ultragyors molekulafürt-mérések a VIE értékét a 3,3-4,0 eV intervallumba helyezik.4,33,34 A tömbfázisú hidratált elektron VIE értékének közvetlen kísérleti meghatározása csak az utóbbi években vált lehetővé. Ezek a mérések 3,3-3,5 eV körüli értéket eredményeztek.8,39,40 A jó egyezés a molekulafürt anionok extrapolált VIE értéke és a közvetlen mérések között tovább erősítette azt az elképzelést, miszerint a felesleg elektronok a fürt-anionok belsejében lokalizálódnak. A mérések során azonban legalább további háromféle, különböző ionizációs energia - méret összefüggést is felfedeztek a fotoelektron spektrumokban (6. ábra).<sup>4</sup> Ezek a tendenciák arra utalnak, hogy az egyes csoportokon belül valamilyen azonos szerkezeti hasonlóságnak, kötésbeli mintázatnak kell fellépnie. A víz-molekulafürt anionok tanulmányozásának egyik legfőbb kihívásává az utóbbi években a kísérletileg észlelt, különböző típusú fürt izomerek energetikai eltéréseinek magyarázata, a kötési mintázatok azonosítása vált. Mint azt az előző részben már tárgyaltuk, az elektront legerősebben kötő mintázatot (I izomer) belső elektronállapotú izomerként posztulálták.<sup>4</sup> A valamivel gyengébben kötő izomert (II izomer) felületi állapotú fürtnek feltételezték, míg egy nagyon gyengén kötő csoportot (III izomer) metastabil fürtként aposztrofáltak.<sup>4</sup> Későbbi vizsgálatok arra utaltak, hogy az I izomer jele is két jelsorozatból tevődik össze (Ia és Ib izomerek).34 A 6. ábra a fürtméret negatív köbgyökének (a fürt reciprok sugarának) függvényében mutatja a kísérleti ionizációs energiákat. Ez az ábrázolásmód a folytonos dielektrikum-elmélet nyomán honosodott meg a területen, ahol is az összefüggés ebben az ábrázolásban lineáris.<sup>28,31</sup> A független változó zérus értékénél leolvasott tengelymetszet adja a végtelen méretre extrapolált VIE értéket.



**6. Ábra.** A felesleg elektron vertikális ionizációs energiája a víz molekulafürt-anionok mérete függvényében, ultragyors fotoelektron spektroszkópiás mérésekből.

Molekuladinamikai szimulációink a felületi és belső állapotú

fürtökre figyelemre méltó eredményekkel szolgáltak.5,35,41 Először is a számítások jól közelítették a kísérleti mérések tartományát. Ezen túlmenően a szimulációk szerint mindkét izomer közel azonos végtelen mérethez tartozó VIE értékre extrapolál. Bár ezek az értékek valamivel meghaladják a kísérleti intervallum felső határát, az eredmények kvalitatív üzenete fontos: tisztán az energia kiszámításából nem dönthető el egyértelműen, hogy a kísérletekben milyen fürt izomert állítottak elő és észleltek.5,35 Polarizálható vízmodellel nemrégiben végrehajtott egyelektronos kevert kvantumos-klasszikus szimulációk, valamint többelektronos kvantum molekuladinamikai szimulációk vezettek.36,37 eredménvei hasonló következtetésre Megjegyezzük, hogy az utóbbi munka minden kétséget kizáróan a jelenlegi legnagyobb pontosságú elméleti eredményeket szolgáltatta a területen. Éppen ezért a 7. ábrán összefoglaltuk az általunk elvégzett szimulációk VIE értékeit, 5,35 összehasonlításban a több-elektronos számítások eredményeivel.37 A dielektrikumok elméletéből származó lineáris összefüggést a molekuladinamikai szimulációk jól reprodukálják. Megjegyezzük, hogy az irodalomban az utóbbi időben számos ab iníció molekuladinamikai tanulmány is megjelent.<sup>42,43,44</sup> Ezek jó egyezést mutatnak az egy-elektronos kezelésen alapuló modellünkkel.



7. Ábra. A felesleg elektron vertikális ionizációs energiája a vízmolekulafürt anionok mérete függvényében molekuladinamikai szimulációkból. A kék szimbólumok mutatják a felületi állapotú fürtöket, míg a pirosak a belső állapotú izomernek felelnek meg. A tele szimbólumok egy-elektron kevert kvantumos-klasszikus szimulációkból,<sup>5,35</sup> míg az üres szimbólumok több-elektron szimulációból származnak.<sup>37</sup> Az üres fekete szimbólumok valószínűsíthetően metastabil fürtökhöz tartoznak.<sup>37</sup>

Fontos ezen a ponton visszautalni arra, hogy szimulációink szerint a felületi elektronállapottal rendelkező fürtök fizikai tulajdonságainak (különösképpen az elektron sugarának) méretfüggése felel meg leginkább a kísérletileg észlelt I izomer tendenciájának. Az újabb kísérletekben<sup>34</sup> felismert Ia és Ib jelű izomerek léte felveti azt a lehetőséget is, hogy a gyengébben kötő Ia valójában a korábban észlelt I izomer, és így felületi állapotú, míg a csak néhány tized eV-tal erősebben kötő Ib fürttípus belső állapotban lokalizálja a felesleg elektront. Utóbb az is világossá vált, mint ahogy azt Neumark és kollégái kísérletileg illusztrálták, hogy a molekulafürt anionok állapotát a méreten és hőmérsékleten kívül, a fürt-anion előállításának körülményei is befolyásolják.<sup>4</sup> Így könnyen elképzelhető, hogy alacsony hőmérsékletű molekulafürt-anionok metastabil, nem teljesen relaxált állapotban stabilizálják az elektront. Ezt a feltételezést szimulációs munkánkkal sikerült alátámasztani,<sup>41</sup> melyet megerősített egy hasonló *ab iníció* molekuladinamikai tanulmány is.<sup>45</sup>

A teliesség kedvéért megiegyezzük, hogy a véges méretű molekulafürt anionok két, általunk felderített lokalizációs módjának, a felületi állapotnak és a belső állapotnak, két különböző, végtelen méretű határeset felel meg. Míg a molekulafürt-anionok belső elektronállapotai a tömbfázisú hidratált elektron állapotához tartanak a fürt méretének növelésével, a felületi állapot végtelen méretre extrapolált megfelelője a víz/levegő határfelületen stabilizálódó felesleg elektron. A hidratált elektronnal történő összehasonlítás kedvéért szimulációs vizsgálatokat hajtottunk végre 300 K hőmérsékletű víz/levegő határfelületen, 200 K hőmérsékletű túlhűtött víz/levegő határfelületen, 200 K hőmérsékletű jég/levegő határfelületen és 100 K hőmérsékletű amorf jég/levegő határfelületen stabilizálódó felesleg elektron tulajdonságainak jellemzésére.46 Hasonlóan a negatívan töltött molekulafürt-anionok viselkedéséhez, a hőmérséklet fontos szerepet játszik az elektron lokalizációs módjának meghatározásában. Míg a 300 K hőmérsékletű víz/levegő határfelületen a felesleg elektron a felületről lassan (~ ps időskálán) a tömbfázis belsejébe, belső állapotba diffundál, az alacsonyabb hőmérsékletű rendszerek esetén az elektron valószínűleg metastabil felületi állapotban stabilizálódik. A 200 K hőmérsékletű túlhűtött víz/levegő határfelületen és a 200 K hőmérsékletű jég/levegő határfelületen relaxáló elektron egyensúlyi tulajdonságai hasonlóak egymáshoz, és kiválóan korrelálnak a 200 K hőmérsékletű molekulafürt anionok végtelen méretre történő extrapolációjával megjósolt fizikai tulajdonságokkal.46

### 3.3. A hidratált elektron dinamikája

Mint a bevezetésben arra már utaltunk, a hidratált elektron kiváló modell lehet folyadékfázisban lejátszódó relaxációs folyamatok alapvető törvényszerűségeinek felderítésében. Fontos ezzel összefüggésben megjegyezni, hogy a hidratált elektronnal kapcsolatos leggyorsabb elemi történések jellemzően a 10<sup>-15</sup> s időskálán zajlanak le, így megfigyelésükhöz rendkívül fejlett kísérleti technikákra van szükség. A különböző, lehetséges relaxációs folyamatok közül az alapállapotú, egyensúlyi hidratált elektron első gerjesztett állapotába történő gerjesztését követő relaxáció vizsgálata különösen érdekesnek bizonvult. A folvamat során a következő elemi történéseket kell számításba venni. Az alapállapotú egyensúlyi hidratált elektron energiaszintjei folyamatosan fluktuálnak az oldószerrészecskék szakadatlan mozgása következtében. A betöltött alapállapot és az üres gerjesztett állapot közötti energiakülönbség, mindazonáltal, felvesz egy jól meghatározott átlagértéket. A gerjesztő fényimpulzus hatására az elektron az első gerjesztett állapotba kerül, megváltozik elektroneloszlása, s ezáltal nem-egyensúlyi oldószerkörnyezetben találja magát. Az oldószer és a gerjesztett állapotú "oldott részecske" kölcsönösen relaxálnak, megtörténik a gerjesztett állapot hidratációja. Ennek során a betöltött gerjesztett állapot és az üres alapállapot energiakülönbsége folyamatosan

csökken. A csökkenéssel párhuzamosan megnő az elektron készsége arra, hogy az oldószer mozgásának következtében fellépő energiafluktuációk segítségével egy sugárzásmentes elektron-átmeneti lépés során átugorjon az alapállapotba. Amennyiben az elektron átlépése megtörténik, most a létrejövő alapállapotú elektron talál nem-egyensúlyi oldószer eloszlást maga körül, s ez újabb folyadék-relaxációs folyamatot indukál. Ezek a folyamatok azonban nem választhatók szét teljesen a kísérleti jelekben. A részletes molekuláris mechanizmus megalkotására az atomisztikus szimulációk teremtik meg a lehetőséget.

Munkánk során a felesleg elektron vizes közegben mutatott relaxációs tulajdonságainak vizsgálatára kidolgoztunk egy új kvantummechanikai eljárást, mely a Fermi-féle aranyszabályból kiindulva gerjesztett elektronállapotok megszűnésének sebességére vonatkozó számításokat tesz lehetővé.<sup>47</sup> A formalizmus idő-autokorrelációs függvényeket használ, melyek a kevert kvantumosklasszikus molekuladinamikai szimulációkból viszonylag könnyen kinyerhetőek, valamint relatíve egyszerűen korrigálhatók kvantummechanikai effektusokra. Ezen formalizmus felhasználásával megmutattuk, hogy az egyensúlyi, gerjesztett állapotú hidratált elektron élettartama drámaian csökken a formalizmusban kulcsszerepet játszó időkorrelációs függvények kvantumos korrekciójának hatására.47 A kvantumosan korrigált élettartamok jóval 100 fs alatt találhatók. Eredményeink szerint tehát az egyensúlyi alapállapotból első gerjesztett állapotba juttatott elektron relaxációja során a gerjesztett állapot elektroneloszlásához adaptálódó folyadék relaxációja a domináns folyamat. A folyadék relaxációja során a két elektronállapot közötti energiakülönbség folyamatosan csökken, s ez egyre gyorsuló elektronátmenetet okoz. A gerjesztett állapot azonban így nem kerül egyensúlyba, addigra az alapállapotba történő elektronátmenet gyakorlatilag befejeződik. Az események analízise során felállítottunk egy kinetikai modellt, mely az elektronátmenet energiakülönbségtől való függése mellett a folyadék relaxációjának hatását is figyelembe vette.48



8. Ábra. Gerjesztett állapotú felesleg elektron túlélési valószínűsége a gerjesztett állapotban az alapállapotba történő elektron-átmeneti lépést megelőzően. A szaggatott görbét klasszikus idő-autokorrelációs függvényekből számítottuk, a folytonos görbe számításakor a magok mozgásával kapcsolatos kvantummechanikai korrekciókat is figyelembe vettűnk.<sup>48</sup>

A kinetikai modell alkalmazásával megalkottunk egy túlélési valószínűségi függvényt (8. ábra), mely megadja, hogy az alapállapotból az első gerjesztett állapotba juttatott elektron milyen valószínűséggel "él túl" a gerjesztett állapotban t hosszúságú időt. A függvény képe alatti terület adja a gerjesztett állapot élettartamát, s mint ilyen közvetlenül összehasonlítható a kísérleti eredményekkel. Szimulációs eredményeink (330 fs élettartam)<sup>48</sup> teljesen konzisztensnek bizonyultak a kísérletileg észlelt gerjesztett állapotú élettartamokkal (300-500 fs).6,49,50,51 A következő lépésben szimulációk végrehajtását tervezzük gerjesztett állapotú molekulafürt-anionok élettartamának meghatározására. Ezen számítások motivációjául az szolgál, hogy a kísérletek az I izomer esetén nagyon rövid élettartamot (<100 fs) jósolnak.<sup>4</sup> A kérdés tehát ismét visszavezet a víz molekulafürt-anionok izomerjeihez (felületi vs. belső elektronállapotú fürtök). Azt várjuk, hogy a felületi állapotú fürtök esetén találunk majd rövid élettartamokat, a belső állapotokra vonatkozó élettartamok pedig összevethetőek lesznek a tömbfázisban talált 330 fs élettartammal. Előzetes szimulációink alátámasztják várakozásainkat.

### 4. Diszkusszió, következtetések

Jelen munkánkban hidratált elektron rendszerekkel kapcsolatos szimulációs tanulmányaink eredményeit foglaltuk össze. Szimulációink a kísérletekkel kiváló összhangban álló eredményeket szolgáltattak, annak ellenére, hogy a jelen munkában használt egy-elektronos közelítés természetesen limitált. Eredményeink szépen illusztrálják a módszer alkalmazhatóságát a kísérleti eredmények kvalitatív értelmezésére. Fontos eredmény, hogy a hidratált elektron legfontosabb tulajdonságainak megértésére az üregmodell továbbra is kiválóan alkalmas. Ezen túlmenően számításaink lehetőséget nyújtanak arra is, hogy a kísérletek által nem felderíthető molekuláris részletekre fény derüljön. Külön kiemelendő a véges méretű hidratált elektron molekulafürtök szerkezetének értelmezése, a felületi és belső elektronállapotú fürt-anionok jellemzése, és annak illusztrálása, hogy ezen izomerek fizikai tulajdonságai jelentős mértékben eltérnek egymástól. Elvileg ez lehetővé teszi kísérleti megkülönböztetésüket. A hidratált elektron rendszer dinamikai viselkedésének széles területeken használhatók. implikációi sugárzásmentes elektronátmenetek tanulmányozásának legegyszerűbb modellje a hidratált elektron. Még ebben az egyszerű modellben is számos folyamat játszódik le egy időben, s ezek megkülönböztetése kísérletileg nem lehetséges. Szimulációink részletes képet adnak a relaxáció mechanizmusáról. Az elektronátmenetet az elektront körülvevő folyadék relaxációja hajtja, miközben az elektron hidratálódik, az elektron-átmenet sebessége fokozatosan növekszik, s közben a már alapállapotba került elektronpopuláció körül is folyadék relaxáció zajlik, egészen az egyensúly eléréséig.

### Köszönetnyilvánítás

Jelen dolgozat szerzői köszönetüket fejezik ki a különböző forrásokból származó kutatási támogatásokért, melyek közül ki kell emelni az OTKA által nyújtott kutatási támogatásokat (T49715, K75285).

### Hivatkozások

- 1. Hart, E. J.; Boag, J. W. J. Am. Chem. Soc. 1962, 84, 4090-4095.
- 2. Garrett, B. C. et al. Chem. Rev. 2005, 105, 355-389.
- Paik, D.H.; Lee, I.-R.; Yang, D.-S.; Baskin, J. S.; Zewail, A. H. Science 2004, 306, 672-65.
- 4. Verlet, J. R. R.; Bragg, A. E.; Kammrath, A.; Cheshnovsky, O.; Neumark, D. M. *Science* **2005**, *307*, 93-96.
- Turi, L.; Sheu, W.-S.; Rossky, P. J. Science 2005, 309, 914-917.
- Wang, C.-R.; Lu, Q.-B. Angew. Chem. Intl. Ed. 2007, 46, 6316-6320.
- 7. Neumark, D. M. Nature Chem. 2010, 2, 247-248.
- Siefermann, K. R.; Liu, Y.; Lugovoy, E.; Link, O.; Faubel, M.; Buck, U.; Winter, B.; Abel, B. *Nature Chemistry*, 2010, 2, 274-27.
- Larsen, R. E.; Glover, W. J.; Schwartz, B. J. Science, 2010, 329, 65-69.
- Siefermann, K. R.; Abel, B. Angew. Chem. Int. Ed. 2011, 50, 5264-5272.
- 11. Webster, F. A.; Rossky, P. J.; Friesner, R. A. Comput. Phys. Commun. 1991, 63, 494-522.
- Allen, M. P.; Tildesley, D. J. Computer Simulation of Liquids, Clarendon: Oxford, 1987.
- Berendsen, H. J. C.; Postma, J. P. M.; van Gunsteren, W. F.; Hermans, J. in *Intermolecular Forces*; Pullman, B. Ed.; Reidel: Dordrecht, 1981, 331-342.
- 14. Toukan, K.; Rahman, A. Phys. Rev. B 1985, 31, 2643-2648.
- 15. Phillips, J. C.; Kleinman, L. Phys. Rev. 1959, 116, 287-294.
- Turi, L.; Gaigeot, M.-P.; Levy, N.; Borgis, D. J. Chem. Phys. 2001, 114, 7805-7815.
- 17. Turi, L.; Borgis, D. J. Chem. Phys. 2002, 117, 6186-6195.
- Schnitker, J.; Rossky, P. J. J. Chem. Phys. 1987, 86, 3462-3470
- 19. Kevan, L. J. Phys. Chem. 1981, 85, 1628-1636.
- Tauber, M. J.; Mathies, R. A. J. Phys. Chem. A 2001, 105, 10952-10960.
- 21. Turi, L.; Madarász, Á. Science, 2011, 331, 1387-1387.
- Jacobson, L. D.; Herbert, J. M. Science, 2011, 331, 1387-1387.
- 23. Herbert, J. M.; Jacobson, L. D. J. Phys. Chem. A 2011, 115, 14470-14483.
- 24. Coe, J. V.; Williams, S. M.; Bowen, K. H. Int. Rev. Phys. Chem. 2008, 27, 27-51.
- Jacobson, L. D.; Herbert, J. M. J. Chem. Phys. 2010, 133, 154506.
- Boero, M. Parrinello, M.; Terakura, K.; Ikeshoji, T.; Liew, C. C. Phys. Rev. Lett. 2003, 90, 226403.

### Model studies of condensed phase quantum molecular dynamics: the hydrated electron

Excess electrons are known to stabilize in water as hydrated electrons. The localization and the hydration of excess electrons are of fundamental importance in condensed phase chemistry and physics with direct implications in, among other fields, electrochemistry, photochemistry, radiation chemistry and electron transfer in condensed phases and in biological systems. Experiment and theory contribute parallel to the understanding of this species. Since in many cases solvated electron properties are reflected only by indirect experimental information, theory has a central role in interpreting these data. The solvated electron, and in particular, the hydrated electron, forms a model system in several respects. Besides being the simplest reducing agent, the hydrated electron can be thought of as the simplest possible solute having only a single electronic degree of freedom. The coupling of the excess electron state(s) to solvent dynamics is also directly manifest in

- 27. Armbruster, M.; Haberland, H.; Schindler, H. G. Phys. Rev. Lett. 1981, 47, 323-326.
- 28. Barnett, R. N.; Landman, U.; Cleveland, C. L.; Jortner, J. J. Chem. Phys. **1988**, 88, 4429-4447.
- 29. Ayotte, P.; Johnson, M. A. J. Chem. Phys. 1997, 106, 811-814.
- Coe, J. V.; Lee, G. H.; Eaton, J. G.; Arnold, S. T.; Sarkas, H. W.; Bowen, K. H.; Ludewigt, C.; Haberland, H.; Worsnop, D. R. J. Chem. Phys. **1990**, *92*, 3980-3982.
- 31. Makov, G.; Nitzan, A. J. Phys. Chem. 1994, 98, 3459-3466.
- Zappa, F.; Denifl, S.; Mähr, I.; Bacher, A.; Echt, O.; Märk, T. D.; Scheier, P. J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 5573-5578.
- Griffin, G. B.; Young, R. M.; Ehrler, O. T.; Neumark, D. M. J. Chem. Phys. 2009, 131, 194302.
- Ma, L.; Majer, K.; Chirot, F.; von Issendorff, B. J. Chem. Phys. 2009, 131, 144303.
- Madarász, Á.; Rossky, P. J.; Turi, L. J. Chem. Phys. 2009, 130, 124319.
- 36. Jacobson, L. D.; Herbert, J. M. J. Am. Chem. Soc. 2011, 133, 19889-19899.
- Barnett, R. N.; Giniger, R.; Cheshnovsky, O.; Landman, U. J. Phys. Chem. A. 2011, 115, 7378-7391.
- 38. Bartels, D. M. J. Chem. Phys. 2001, 115, 4404-4405.
- Shreve, A. T.; Yen, T. A.; Neumark, D. M. Chem. Phys. Lett. 2010, 493, 216-219.
- Tang, Y.; Shen, H.; Sekiguchi, K.; Kurahashi, N.; Mizuno, T.; Suzuki, Y.-I.; Suzuki, T. Phys. Chem. Chem. Phys. 2010, 12, 3653-3655.
- 41. Madarász, Á.; Rossky, P. J.; Turi, L. J. Phys. Chem. A 2010, 114, 2331-2337.
- Frigato, T.; VandeVondele, J.; Schmidt, B.; Schütte, C.; Jungwirth, P. J. Phys. Chem. A 2008, 112, 6125-6133.
- Marsalek, O.; Frigato, T.; VandeVondele, J.; Bradforth, S. E.; Schmidt, B.; Schütte, C.; Jungwirth, P. J. Phys. Chem. B 2010, 114, 915-920.
- 44. Marsalek, O.; Uhlig, F.; Frigato, T.; Schmidt, B.; Jungwirth, P. *Phys. Rev. Lett.* **2010**, *105*, 043002.
- Marsalek, O.; Uhlig, F.; Jungwirth, P. J. Phys. Chem. C 2010, 114, 20489-20495.
- Madarász, Á.; Rossky, P. J.; Turi, L. J. Chem. Phys. 2007, 126, 234707.
- 47. Borgis, D.; Rossky, P. J.; Turi, L. J. Chem. Phys. 2006, 125, 064501.
- Borgis, D.; Rossky, P. J.; Turi, L. J. Chem. Phys. 2007, 127, 174508.
- 49. Kee, T. W.; Son, D. H.; Kambhampati, P.; Barbara, P. F. J. *Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 8434-8439.
- Kambhampati, P.; Son, D. H.; Kee, T. W.; Barbara, P. F. J. Phys. Chem. A 2002, 106, 2374-2378.
- 51. Wang, C.-R.; Hu, A.; Lu, Q.-B. J. Chem. Phys. 2006, 124, 241102.

solvated electron dynamics. The anticipated relative simplicity is an attractive feature of the hydrated electron system, and it makes the hydrated electron an ideal candidate for a symbiotic interplay between experiment and theory. In the present work we study the basic molecular level picture and principles underlying the condensed phase dynamics via mixed quantum-classical molecular dynamics simulations of the hydrated electron. The simulation technique, where the hydrated electron is treated quantum mechanically and the solvent molecules via classical mechanics represent a reasonable compromise between accuracy and computational demand. The standard simulations tools of the simulation model are also overviewed in the paper. The remaining discussion of the paper focuses on the most critical issues and still unresolved questions about the basic aspects of the physics of the hydrated electron systems that also have direct general implications for condensed phase dynamics.

First, we examine the structure of the hydrated electron, namely the traditional cavity model that has been recently challenged. We point out that the most sensitive part of the computational method is the electron-water molecule pseudopotential. We performed exact quantum mechanical model calculations examining a recently implemented pseudopotential that leads to a delocalized electron distribution over several water molecules in a region of enhanced water density. We illustrate that the simulations predicting noncavity structure are based on a model potential that contains inaccuracies. The reported simulated properties of the hydrated electron are shown to be very sensitive to this problem. Based on the analysis and the following simulations, we believe that the cavity picture is still a viable model for the hydrated electron. Next, we turn our attention to the structural aspects of finite size hydrated electron systems, water cluster anions. An aggregate of few water molecules and an excess electron form water cluster anions, which might also be considered as simpler models for the fully hydrated electron. Since the earliest experimental and theoretical studies, the focus has been on the electronic structure and the related physical properties of water cluster anions. Theory has predicted two distinct types of cluster isomers: surface-bound (SB) state clusters, where the cluster configuration supports a localized excess electronic ground state with electron distribution outside the molecular frame, and clusters with compact interior-bound (IB) electronic states in a solvent void, more similar to those characteristic of the bulk hydrated electron. Our simulations show that the localization of the excess electron in a surface state or in an interior state depends on both the cluster size and the internal energy of the cluster. Smaller clusters preferentially stabilize the excess electron in a surface state. Surface state clusters can also be formed in larger clusters with increasing internal energy. We also demonstrate that the set of surface states and the set of interior states exhibit unique, clearly distinguishable signatures in the simulation data.

Next we turn toward the energetics of the hydrated electron. We analyze the size dependence of the vertical detachment energy (VDE) of the excess electrons from water cluster anions. Sophisticated experiments on size selected clusters observe at least three characteristic cluster anion classes appearing as three distinctly different trends in the variation of the vertical electron detachment energy with size. These systematic trends clearly suggest the presence of common structural patterns within each class. A main challenge in the field is to identify the source of this regularity in the properties of water cluster isomers. Cluster simulations testify that the VDE of interior state clusters are somewhat larger than those for the surface state clusters. We predict that it would be difficult to distinguish these isomers based solely on VDE data. Nevertheless, the computed results nicely agree with experimental photo-electron spectroscopy results, and the latest, more sophisticated ab initio molecular dynamics simulations. It is found that the data for the surface state clusters correspond closely to the experimentally observed energetic, spectral, and structural trends with cluster size for one of the strongest binding motif. The positive identification of interior state clusters still presents a challenge. We also illustrated that in addition to the internal energy and cluster size, the experimental conditions of the formation of cluster anions can influence the observed state and physical properties. The extension of our cluster anion work concentrates on the relaxation of a ground state excess electron at interfaces of different phases of water with air. The investigated systems include ambient water/air, supercooled water/air, Ih ice/air and amorphous solid water/air interfaces. In the case of the ambient liquid interface the electron slowly (on the 10 ps timescale) diffuses into the bulk to form an interior-bound state. In each other case, the excess electron persists on the interface in surface-bound states.

The last part of the paper is devoted to dynamical issues that are relevant in a wider context of condensed phase relaxation dynamics. In particular, here we study the lifetime of an excited state hydrated electron following an excitation from its equilibrium ground state. The analysis is based on a new, alternative form of the Fermi golden rule formula defining the non-adiabatic transition rate between two quantum states. The formula involves quantum time correlation functions that are computed from the classical correlation functions of molecular dynamics simulations and the subsequent quantum corrections for the nuclear degrees of freedom. The resulting excited state lifetime for a hypothetical equilibrium excited state appears to be extremely short, in the sub-100 fs regime. We conclude that the electronic transition to the ground state after the excitation is strongly influenced, in fact dominated, by solvent reorganization dynamics in the excited state. In the subsequent kinetic analysis the quantized, gap-dependent rates are computed and applied in a phenomenological kinetic equation. This equation provides the survival probability function of the excited state electron that then yields an effective excited state lifetime of around 300 fs for the non-equilibrium process in pump-probe experiments. This value is consistent with the findings of several experimental groups and previous theoretical estimates.

The authors of the present work gratefully acknowledge the financial support from the National Research Fund of Hungary (OTKA) under Contracts Nos. T49715 and K75285.

### A légköri aeroszol jelentősége és hatásai

SALMA Imre, <sup>a,\*</sup> BORSÓS Tibor<sup>a</sup> és NÉMETH Zoltán<sup>a</sup>

<sup>a</sup> ELTE Kémiai Intézet, Környezetkémiai és Bioanalitikai Laboratórium, Pázmány stny. 1/A, 1117 Budapest

### 1. Bevezetés

Az elmúlt 1–2 évtized során megélénkült a tudományos érdeklődés a légköri aeroszol iránt. Ez annak köszönhető, hogy felismertük és tudatosítottuk az aeroszol részecskék éghajlatváltozásban játszott szerepét, valamint az emberi egészségre kifejtett hatását. A légköri aeroszol jelentőségének és hatásainak tanulmányozásával 1992 óta foglalkozik a kutatócsoportunk Salma Imre vezetésével. Jelen összefoglalóban az elmúlt négy év eredményei közül emelünk ki néhányat, amelyekkel hozzájárultunk a Környezetkémiai és Bioanalitikai Laboratórium sikeres működéséhez.

### 2. Nanorészecskék a levegőben

Az 1-100 nm mérettartományban lévő aeroszol részecskék találhatóak legnagyobb számban a levegőben. Ezek az ún. ultrafinom részecskék természetes és antropogén úton is keletkeznek. Fő természetes képződési folyamatuk a légköri nukleáció. Ez egy elsőrendű fázisátmenet, amikor légnemű légköri összetevők (SO<sub>2</sub>, VOC: Volatile Organic Compounds, illékony szerves vegyületek) keverékében fotokémiai oxidációval kisebb egyensúlyi gőznyomású, tehát kondenzációra képes gőzök (például H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) keletkeznek, majd további légköri összetevőkkel (H<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>R, NHR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>, VOC) kölcsönhatásban szilárd és/vagy folyékony fázis megjelenését, vagyis új aeroszol részecskéket eredményeznek. Az ultrafinom részecskék antropogén forrásai elsősorban magashőmérsékletű folyamatokból származó, közvetlen emissziót jelentenek. Legfontosabbak a közúti közlekedés, a háztartási fűtés és tüzelés, valamint a hulladékégetés. Az utóbbi időben a nanotechnológia és termékeinek terjedése szintén járulékot képezhet belső terekben. Nukleációval keletkező részecskék átmérője 2-3 nm körüli, míg az emisszióból származó részecskék általában 20 nm-nél nagyobbak. Elsősorban ammónium-szulfátból és -nitrátból, valamint szerves vegyületekből állnak. Városokban újabb kémiai anyagok, főleg korom és további szerves vegyületek keverednek az említett összetevőkhöz.

### 2.1. Éghajlati, környezeti és egészségügyi hatások

A légköri aeroszol leginkább a felhőkondenzációs magvakon (CCN, Cloud Condensation Nuclei) keresztül alakítja a Föld éghajlatát. A feláramló levegő lehűl, és a benne található vízgőz túltelítetté válik. A vízgőz aeroszol részecskékre kondenzálódik, és cseppek jönnek létre. A természetben előforduló túltelítettségek (amelyek kisebbek 2–3%-nál) esetén az átmenethez szükség van aeroszol részecskékre. Ha nincsenek jelen aeroszol részecskék (vagy elektromos töltések) a levegőben, akkor a túltelítettség önmagában nem eredményez felhőket. Kondenzációs magvakként főleg a 100-200 nm átmérőjű részecskék hatásosak, de ezek csaknem fele nukleáció utáni növekedéssel alakul ki. A felhők jelentős mértékben visszaverik a napfényt az űrbe, ami fontos szerepet játszik a Föld energiamérlegében. A Föld légkörében lévő vízgőz teljes mennyisége lényegében állandó, de az ultrafinom aeroszol részecskék száma jelentősen nőhet - például az emberi tevékenység hatására. Ilvenkor az állandó mennyiségű vízgőzből sokkal több felhőcsepp alakul ki, ami azt jelenti, hogy a cseppek mérete kisebb, számuk pedig nagyobb lesz. Az ilyen felhők egyrészt jobban visszaverik a napsugárzást, másrészt az átlagos élettartamuk hosszabb, tehát a fényvisszaverő hatásukat is hosszabb ideig fejtik ki. A kisebb cseppeket tartalmazó felhőkből ráadásul ritkábban hullik csapadék, mert a sok csepp nem tud kellően nagyra nőni a vízpára korlátozott mennyisége miatt ahhoz, hogy távozzon a levegőből. Az aeroszol részecskék tehát egyrészt befolyásolják a víz körforgását, másrészt hűtő hatásúak. Ezzel komolyan ellensúlyozzák az üvegházhatású gázok melegítő hatását, és hozzájárulnak az élhető éghajlat fenntartásához és szabályozásához. Jelenlegi ismereteink az ultrafinom aeroszolról meglehetősen hiányosak, ami az éghajlati modellek egyik legnagyobb bizonytalanságát eredményezi.

Az ultrafinom aeroszol egészségügyi többletkockázatot emberre a jelenthet nagyobb részecskékkel az összehasonlítva. A részecskék légzéssel kerülnek a tüdőbe, ahol kiülepedhetnek. Egynapi belélegzett térfogat egészséges felnőtt esetén tipikusan 20 m3 körüli levegőt jelent, amely 100 milliárd nagyságrendű részecskét tartalmaz városokban, amelynek szerencsére csak kis hányada ülepedik ki a tüdőben. A légzőszervek védekező mechanizmusai (például a falósejtek) nincsenek felkészülve ilyen nagyságrendű idegen anyag hatásos eltávolítására a tüdőből. A legkisebb, néhány nanométer nagyságú részecskék ráadásul átjuthatnak a sejtmembránon is, bekerülhetnek a vérkeringésbe, amely egyrészt elszállítja őket szervezetünk más, érzékeny részeibe (például a központi idegrendszerbe, csontvelőbe), másrészt a részecskék megváltoztathatják a vér bizonyos tulajdonságait, például az alvadékonyságot. Mindezeknek súlyos egészségügyi következményei lehetnek. Az ultrafinom részecskék nagy fajlagos felülettel rendelkeznek, ezáltal a szervezetben katalizátorként viselkedhetnek, és elősegíthetik az oxidatív stressz kialakulását. Az aeroszol részecskék felületén kémiai reakciók játszódhatnak le, és gyökök keletkeznek, melyek képesek a fehérjéket oxidálni, a lipideket peroxidálni, a DNS szerkezetét megváltoztatni. In vivo létrejöhetnek reaktív oxigéntartalmú részecskék, melyek befolyásolhatják a szervezet redoxi folyamatait. Az ultrafinom aeroszol részecskék koncentrációja egyelőre nem szerepel a levegőminőségi mutatók között sem hazánkban, sem a fejlettebb gazdaságú országokban.

<sup>\*</sup> Tel.: +1 372–26–15; e-mail: salma@chem.elte.hu

### 2.2. Eredmények

A légköri nukleációból és a közvetlen emisszióból származó részecskék kölcsönhatásban vannak egymással. Ez a kapcsolat városokban markánsan jelentkezik. Az összefüggések és a fent említett hatások jobb megértése végett szükséges a képződési típusok elkülönítése, ami a részecskék méreteloszlása időváltozásának tanulmányozásával megvalósítható. A kapcsolódó kutatási projekt fő célkitűzései teljesen új ismereteket érintettek, mert az újrészecske-képződésről és az ultrafinom aeroszol tulajdonságairól Budapesten semmilyen információval nem rendelkeztünk korábban. Főbb eredményeink ezen a területen a következőek:<sup>2,5,6,9</sup>

### 2.2.1.

Meghonosítottuk az ultrafinom aeroszol részecskék méréstechnikáját és a kapott adatok kiértékelési módszereit. Az ultrafinom aeroszol részecskék méret szerinti elkülönítése az eddig, általánosan használt aerodinamikai elvek helyett elektrosztatikai elven alapul. Több kísérleti módszert alkalmazunk, amelyek központi részét egy DMPS (Differential Mobility Particle Sizer, azaz elektromos mozgékonyságon alapuló részecskeméret szeparátor) alkotja. Tudomásunk szerint az egyetlen kutatócsoport vagyunk Magyarországon, amelyik saját mérőrendszerrel képes légköri aeroszol részecskék méreteloszlását kísérletileg meghatározni a 6–100 nm átmérőtartományban. A beszámolási időszakban a mérőrendszerrel folyamatos terepi méréseket végeztünk Budapest több helyszínén, például belvárosi utcakanyonban (Rákóczi út 5., 2 hónap), nyitott, belvárosi helyszínen (ELTE Lágymányosi Telephely a Duna partján, 1 év 2 hónap), a Várhegy-alagútban (2 hét), városi háttérben (KFKI Telephely, 2 hónap) és további, beltéri mikrokörnyezetekben (előadóterem, tornaterem).

### 2.2.2.

Első alkalommal azonosítottunk légköri nukleációt Budapesten. A legelső eseményt az 1. ábrán mutatjuk be, amely a nanométer méretű részecskék koncentrációjának időváltozását szemlélteti 2008. november 8-án, szombaton és 9-én, vasárnap. A részecskék számát színekkel ábrázoltuk. November 7-én délután hidegfront vonult át a főváros felett. Ennek hatására a város levegője kitisztult. Az ábrán jól látszik, hogy ez a folyamat szombat hajnalban is tartott. Szombat reggel azonban megnőtt a gépjárműforgalom, és a kibocsátott légszennyező gázok koncentrációja újra növekedett. A szennyező gázok elegyét 8 óra után már erősebb napsütés érte. A napsugárzás hatására kémiai reakciók játszódtak le a levegőben. A reakciók a gázokat általában kevésbé illékony, tehát kondenzálódó gőzökké alakítják. A gőzök a meglévő aeroszol részecskék felületére kondenzálódnának, azonban a levegőben lévő részecskék koncentrációja abban az időszakban a hidegfront miatt kicsi volt, és így nem állt rendelkezésre elegendően nagy felület a kondenzáció számára. A gőzök koncentrációja a levegőben egyre nőtt.





Hamarosan kialakultak a nukleáció feltételei. Új és rendkívül kis méretű aeroszol részecskék keletkeztek. A létrejött részecskék tovább nőttek a nap folyamán, mert a gőzök ezután már a nanorészecskékre is kondenzálódtak, illetve a részecskék egymással is ütköztek és összetapadtak (koagulálódtak). A növekedés néhány órától akár több napig is tarthat a légköri koncentrációktól, a kondenzálódó gőzök forrásai és nyelői versenygésétől, valamint a helyi meteorológiai viszonyokól függően.

### 2.2.3.

A vizsgálatok kezdete óta többféle típusú banángörbét mértünk, és leírtuk a részecskék fotokémiai növekedésétől való megkülönböztetés fontosságát. Azonosítottunk olyan eseményt, amikor a Duna felől érkező légáramlat csupán behozta a "nukleálódó felhőt" az utcakanyonba, és a szélirány ellentétesre változásával a mért jelenség megszűnt, illetve kialakult olyan helyzet is, amikor az utcakanyon részese volt egy kiterjedt nukleációs jelenségnek. A városi háttérben észleltünk többszörös indulást mutató újrészecskeképződést, valamint bizonyítottuk, hogy szennyezett környezetben is lejátszódik nukleáció. Meghatároztunk olyan növekedési görbéket is, amelyek több napig zavartalanul folytatódtak.

### 2.2.4.

A nukleációt és a részecskék növekedését sikerült jellemeznünk több, mint egy éves, folyamatos mérés

adatainak feldolgozásával. Megállapítottuk, hogy a légköri nukleáció Budapesten nem ritka jelenség; előfordulása a Duna környezetében éves szinten 27%. (Nukleációs gyakoriságnak nevezzük a nukleációs napok arányát a releváns napokhoz viszonyítva.) A nukleációs gyakoriság jelentős évszakos változékonysággal rendelkezik: tavasszal 44%, míg télen 7,3%. A havi átlagos nukleációs gyakoriság eloszlását az ELTE Lágymányosi Telephelyén a 2. ábrán tüntettük fel.



2. Ábra. A havi átlagos nukleációs gyakoriság változása Budapest belvárosában

A nukleációs gyakoriság időváltozása helyi körülményektől függ elsősorban, úgymint a napsugárzás, hőmérséklet, relatív páratartalom, biogén emisszió, szélsebesség, keveredési réteg magassága, illetve az aeroszol részecskék koncentrációja és méreteloszlása. Számításaink azt mutatják, hogy a nukleációs jelenség kialakulását a kondenzációs nyelő (meglévő aeroszol populáció), a biogén emisszió és a napsugárzás határozza meg leginkább. A kondenzációra képes gőzök (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O és NH<sub>3</sub>), illetve a fő elővegyület (SO<sub>2</sub>) koncentrációjának kisebb a hatása. Az új aeroszol részecskék képződése összefüggésbe hozható néhány regionális korlátozót térbeli kiterjedésű területeken (utcakanyonokban) a mikrometeorológia gyakran játszik közvetítő szerepet.

### 2.2.5.

Az újrészecske-képződés intenzitása 1,65 és 12,5 cm<sup>-3</sup> s<sup>-1</sup> között változik; átlagértéke és szórása (4,2±2,5) cm<sup>-3</sup> s<sup>-1</sup>. A 6 nm átmérőjű aeroszol részecskék növekedési sebessége jelentős: 2,0-től 13,3 nm h<sup>-1</sup> értékű; (7,7±2,4) nm h<sup>-1</sup> átlagértékkel és szórással. Az értékek a nukleáció levegőminőségi következményeire is rávilágítanak. A "nukleációs felhő" horizontális kiterjedése időnként eléri a főváros lineáris méretét, de gyakran jelentős térbeli különbségek alakulnak ki a városon belül. A nukleációs gyakoriság tehát összevethető, de nem azonos a város különböző környezeteiben. Ilyen részletes és hosszú idejű adatsorból származó jellemzéssel csupán 5–6 nagyváros rendelkezik világszerte.

2.2.6.

Meghatároztuk, hogy a részecskeszám-koncentráció jelentősen eltér a város egyes területein. Városi háttérhelyen az aeroszol részecskék számának napi medián koncentrációja

 $4,3 \times 10^3$  cm<sup>-3</sup>, a belvárosban  $11,8 \times 10^3$  cm<sup>-3</sup>, egy belvárosi utcakanyonban  $23 \times 10^3$  cm<sup>-3</sup>, míg a Várhegy-alagútban a medián elérte a  $143 \times 10^3$  cm<sup>-3</sup> értéket. A legnagyobb mért (10 perces) adat az alagútban  $463 \times 10^3$  cm<sup>-3</sup> volt. Az ultrafinom aeroszol részecskék átlagos járuléka a teljes részecskeszámhoz meglehetősen nagy: 80% körüli, és csupán kismértékben, vagyis 79% és 86% között változik a különböző helyszíneken. Ennek az emberi légző szervekben történő kiülepedésben van jelentősége. Meghatároztuk a részecskék koncentrációjának átlagos, tipikus napi menetét különböző időszakokban (nukleációs nap, munkanap, hétvége, különböző évszakok), és megállapítottuk ennek relevanciáját a városlakók részecskeszám-expozíciója szempontjából.

### 2.2.7.

Megállapítottuk, hogy a méreteloszlásokban általában az Aitken-módus és az akkumulációs módus azonosítható, változó, de napi átlagot tekintve közel azonos relatív koncentrációban. A módusokat természetes és antropogén emissziós forrásokhoz kapcsoltuk. Időszakosan megjelenik a nukleációs módus, amely átlagosan 2,7-szeresére növeli a meglévő részecskék koncentrációját. A közúti közlekedésből származó emissziót a helyi meteorológiai viszonyok, illetve a mesterséges szellőztetés jelentősen befolyásolja.

### 3. A légköri humusszerű anyag

A finom frakciójú aeroszol részecskék (aerodinamikai átmérőjük  $d < 2.5 \,\mu\text{m}$ ) tömegének 60–80%-át a szerves anyag alkotja. A részecskék az ezret meghaladó számú szerves vegyületet tartalmaznak. Poláris funkciós csoportok (különösen a karboxilcsoport) jelenléte miatt számos érintett szerves vegyület vízben jól oldódik (1 g-nál több 100 g vízben). A leggyakrabban előforduló vízoldható szerves vegyületek a kis molekulatömegű dikarbonsavak, míg a legnagyobb tömegjárulékkal rendelkező csoport a légköri humusszerű anyag (HULIS, Humic-Like Substances). A HULIS egy keverék (amit azért nevezünk így, mert UV-Vis spektrometriai és termoanalitikai tulajdonságai első közelítésben hasonlítanak a talajban és vízi környezetben lévő humuszanyagok tulajdonságaira, például a huminsavra és a fulvósavra). Többféle elmélet is létezik a HULIS keletkezésének a magyarázatára: 1) cellulózból és ligninekből termikus degradációval (biomassza égetés), 2) terpénekből és izoprénből fotokémiai reakciókat követő oligomerizációval, vagy 3) aromás vegyületek légköri kémiai reakcióiból. A légköri aeroszol részecskék szervesanyag-tartalmának kutatását, ezen belül a vízoldható frakció tanulmányozását módszertani és gyakorlati, illetve elvi problémák egyaránt nehezítik.

### 3.1. Környezeti jelentőség

A HULIS egyik legfontosabb környezeti tulajdonsága a felületi aktivitás, amely megkülönbözteti a többi szervetlen és szerves aeroszol összetevőtől. Jelentősen módosítja ugyanis a levegő-oldatcsepp határfelület tulajdonságát, és ezáltal több transzportfolyamatot (például kondenzációt, párolgást vagy gázok oldódását) és kémiai reakciót befolyásol, végső soron pedig hatást gyakorol az aeroszol populáció vízzel történő aktiválását előidéző kritikus túltelítettségre.

### 3.2. Eredmények 3,4,7,11-14

### 3.2.1.

Megállapítottuk, hogy a budapesti finom aeroszol szervesszén-tartalmának átlagosan 20%-át, valamint a vízoldható szerves szénnek átlagosan 62%-át HULIS alkotja. A városi eredetű HULIS kevesebb oxigéntartalmú csoportot és több telítetlen kötést tartalmaz, mint a vidéki aeroszolból, illetve a vízi környezetből izolált HULIS, és a különbség monoton módon nő a minták feltüntetett sorrendjében. A HULIS-ban lévő C átlagosan 35%, 48% és 70%-kal járult hozzá a WSOC mennyiségéhez vidéki, városi és trópusi biomassza égetésből származó aeroszol minták esetében. Meghatároztuk a szerves anyag/szerves szén (OM/OC) tömegkonverziós tényezőt biomassza égetésből származó HULIS esetében (ami a tömegmérleg számításokban elengedhetetlen), és 2,04±0,06 átlagértéket kaptunk. Mindebből a keletkezési mechanizmusok közötti, továbbá az elővegyületek emissziós forrása és forrásintenzitása közötti különbségekre következtettünk.

### 3.2.2.

Meghatároztuk a HULIS látszólagos disszociációs fokának koncentrációfüggését, és a van't Hoff-faktor értékének koncentrációfüggését, amelyek a felhőcseppek képződési folyamatainak, illetve aktiválódásának modellezése szempontjából nagyon fontosak. Koncentrált (HULIS > 5 g  $L^{-1}$ ) oldatokban a disszociációs fok (és vele együtt a van't Hoff-faktor is) gyengén függ a koncentrációjától, és mintegy 15% értékű. Bizonyítottuk, hogy a HULIS éghajlati hatását befolyásoló felületi aktivitás nagyobb koncentrációkban gyors és igen jelentős (akár 69%-ra is csökkentheti a csepplevegő fázishatáron a felületi feszültséget), míg közepes koncentrációkban nem érvényesül, mert az egyensúlyi állapot eléréséhez szükséges idő hosszú (több óra), és ez általában nem áll rendelkezésre valós légköri folyamatokban.

### 3.2.3.

Megvizsgáltuk a légköri humusszerű anyag (HULIS) kiralitásának és keletkezési mechanizmusának kapcsolatát, és megerősítettük a vidéki, városi és trópusi biomassza égetés környezetekben korábban javasolt képződési folyamatokat. Első alkalommal használtunk kiroptikus (ECD és VCD) spektroszkópia módszereket szerves vegyületeket tartalmazó aeroszol részecskék kutatására. Az ECD spektrumokban a városi mintánál gyakorlatilag az alapvonalat mértük; a vidéki mintánál gyenge jelet kaptunk. A biomassza égetésből származó HULIS és a standard fulvósav esetén sem mutatkozott effektus. A VCD spektrumokban a városi és vidéki minták nem mutattak optikai aktivitást, míg a biomassza égetésből származó HULIS spektrumában nagy, negatív sávot kaptunk a karboxilcsoport elnyelésének megfelelő hullámszámnál. Az ECD és VCD spektrumok, valamint az UV és IR abszorbancia spektrumok azt sejtetik, hogy a biomassza égetésből származó HULIS jobban hasonlít a standard fulvósavra, mint a másik két típusú HULIS-ra, ami összefüggésben áll hasonló eredetükkel: a biomassza termikus degradációjával, illetve anaerob biodegradációjával.

### 3.2.4.

A szubkritikus vízgőz-telítettségi tartományban, nemzetköri együttműködésben végzett kísérleti vizsgálataink alapján a HULIS nem elfolyósodó anyag, amelynek néhányszor 100 nm átmérőjű részecskéi 1,6-szoros méretűre képesek nőni a telítettséghez közeli relatív páratartalomnál. Az eredmények a globális levegőkémiai modellek, illetve felhőképződési modellek bemenő adatát pontosítja.

### 3.2.5.

Meghatároztuk a HULIS széntartalmának és a WSOC-nek a tömeg méreteloszlását a 0,053–9,9 µm aerodinamikai átmérőtartományban. Az előbbi eloszlást a 3. ábrán mutatjuk be.



**3. Ábra.** A HULIS széntartalmának tömeg méreteloszlása Budapest belvárosában.

Mindkét eloszlásában három módust azonosítottunk. A módusok mértani átlagos aerodinamikai átmérője WSOC esetében 6,4; 1,72 és 0,37 µm, míg a HULIS széntartalom esetében 6,4; 1,22 és 0,31 µm volt. A durva módus mindkét esetben jelentős relatív koncentrációt képviselt, és a szén tömegének 20-30%-át adta. A HULIS esetében azonban közvetett jelek arra utalnak, hogy nem az ismert módon, tehát a környezetben található vízoldható szerves anyagból keletkezik aprózódással. Az előzetes eredmények igazolása és a felvetés tisztázása további kísérleteket igényel. A méreteloszlásokban az akkumlációs módus dominált közel 80%-os járulékkal. Az akkumlációs módus két almódusra hasadt fel: kondenzációs és a csepp módusra a vízoldhatóságának köszönhetően. A WSOC esetében a kondenzációs módus a WSOC tömegének 51%-át, míg a csepp módus a tömeg 28%-át képviselte. A HULIS esetében a kondenzációs módus járuléka a HULIS teljes tömegéhez 52%, míg a csepp módus járuléka 32%.

### 4. Különleges beltéri mikrokörnyezetek

Különleges aeroszol típusok kémiai és fizikai tulajdonságainak és időváltozékonyságának meghatározása, fő forráseredetük azonosítása és az egészségügyi hatások jobb megismerése érdekében kutatómunkát végeztünk speciális belső terekben, amelyek nagyobb városi populációt vagy kiemelt korosztályt érintenek Budapesten.

### 4.1. A budapesti metró

mikrokörnyezetekben Α közlekedési а levegő szennyezettsége gyakran nagyobb, mint más belvárosi vagy városi háttérhelyeken. Közülük a földalatti közösségi közlekedés (a metró) különleges és kiemelt helyet foglal el zárt jellege, korlátozott szellőzése, sajátos emissziós forrásai és környezeti/meteorológiai viszonyai, valamint az utasok nagy száma miatt. A budapesti metró a világ legelső földalatti vasútjai közé tartozik. A rendszer jelenlegi hossza 33 km, amelynek 84%-a alagútban helyezkedik el. A metróvonalakhoz 39 állomás és 1 csomóponti állomás tartozik. A földalatti vasúton elektromos szerelvények közlekednek 4:30 és mintegy 23:40 óra között. A földalatti vasút a városi közlekedés fontos részét képezi; a közösségi utazások 22%-át bonyolítja, ami munkanapokon körülbelül 1 millió egységutazást jelent. Egy átlagos utazás 8-10 percig tart a metróban. Magyarországon elsőként jellemeztük a budapesti metróban kialakuló aeroszol fizikai tulajdonságait nagy időfelbontással, kémiai összetételét több méretfrakcióban, és meghatároztuk fő forrástípusait, valamint a szerelvényvezetőkre és az utasokra kifejtett egészségügyi hatását az Astoria megállóban. Főbb kutatási eredményeink ezen a területen a következőek.8,10

### 4.1.1.

A metróban gyűjtött, durva frakciójú  $(PM_{10-2,0})$ ), illetve finom frakciójú  $(PM_{2,0})$  aeroszol részecskék kémiai összetételét és az összetevők dúsulási tényezőit az 1. és 2. táblázatban foglaltuk össze.

 Táblázat. Az Astoria megállóban gyűjtött, PM<sub>10-2.0</sub> mérettartományú aeroszol részecskék kémiai összetétele ng m<sup>-3</sup> egységben, az összetevők felszíni kőzethez viszonyított dúsulási tényezője (Dúsulás 1), illetve a belvárosi aeroszol részecskékhez viszonyított dúsulási tényezője (Dúsulás 2) alumíniumra mint referencia elemre vonatkoztatva.

Aeroszol	PM <sub>10-2,0</sub> mérettartomány				
összetevő	Koncentráció	Dúsulás 1	Dúsulás 2		
Mg	296	2.3	1.2		
Al	531	_	-		
Si	2.09*	1.2	1.5		
S	978	597	3		
Cl	305	352	2		
K	318	1.9	1.7		
Ca	2.57*	11	1.8		
Ti	47	1.6	1.3		
Cr	35	53	8		
Mn	310	49	20		
Fe	33.5*	101	32		
Ni	29	59	20		
Cu	496	1343	15		
Zn	118	245	2		
Br	13	797	4		
Ba	145	51	5		
Pb	47	612	6		
PM	83.6*	13	4		

\* Az adatok mértékegysége μg m<sup>-3</sup>.

Megállapítottuk, hogy a PM<sub>10</sub> méretfrakcióban az aeroszol tömeg 42%-át Fe alkotja, a korom, Ca és Si tömegjáruléka egyenként 2,5% körüli, a S 1,6%-kal járul hozzá a tömeghez, amelyet a Cu, Al, Mn, K és Mg elemek követnek egyenként mintegy 0,5% körüli tömegkoncentrációkkal. Az aeroszol részecskékben kimutattunk olyan elemeket is mindkét frakcióban, amelyek kis koncentrációban vannak jelen, de egészségügyi hatásuk miatt mégsem hanyagolhatók el: például a Cr és a Ni. Azt tapasztaltuk, hogy a metró állomásterében leginkább a Fe, Mn, Ni, Cu és Cr koncentrációja nagyobb rendre 32-, 20-,

20-, 15- és 8-szoros mértékben, mint a felszíni (külső) levegőben. A korom koncentrációja viszont kisebb volt. Az aeroszol tömegkoncentráció napi menetén két csúcsot azonosítottunk a reggeli és délutáni csúcsforgalomnak megfelelően. Ekkor az aeroszol-koncentráció meghaladta a 250 μg m<sup>-3</sup> értéket. Az üzemidőre vonatkoztatott átlagérték 155 μg m<sup>-3</sup>, ami 2,7-szer nagyobb a külső terekre vonatkozó, 24 órás PM<sub>10</sub> egészségügyi határértéknél.

2. Táblázat. Az Astoria megállóban gyűjtött, PM<sub>2,0</sub> mérettartományú aeroszol részecskék kémiai összetétele ng m<sup>-3</sup> egységben, az összetevők felszíni kőzethez viszonyított dúsulási tényezője (Dúsulás 1), illetve a belvárosi aeroszol részecskékhez viszonyított dúsulási tényezője (Dúsulás 2) alumíniumra mint referencia elemre vonatkoztatva

Aeroszol	PM <sub>2.0</sub> mérettartomány				
összetevő	Koncentráció	Dúsulás 1	Dúsulás 2		
Mg	130	6	-		
Al	93	_	-		
Si	442	1.4	2		
S	828	3027	1.1		
Cl	104	722			
K	127	4	1.3		
Ca	413	10	2		
Ti	25	5	3		
Cr	15	136			
Mn	148	143	27		
Fe	15.5*	285	43		
Ni	8	101	11		
Cu	190	3096	11		
Zn	50	661	2		
Pb	21	1975	2		
PM	33.0*	30	1.5		

\* Az adatok mértékegysége μg m<sup>-3</sup>.

### 4.1.2.

Kimutattuk, hogy az állomástérben lévő aeroszol részecskék nagyobbak (30–40  $\mu$ m átmérőjűek), és nehezebbek a belvárosi aeroszolhoz viszonyítva. A PM<sub>10</sub> méretfrakciójú aeroszol tömeg 72%-át durva részecskék alkotják, szemben a belvárosi aeroszollal, amelyre vonatkozó érték 59%. Mindez azt jelenti, hogy az állomástérben különös, a külső aeroszol részecskéktől kémiai összetételben és méretben is eltérő részecskékkel van dolgunk. A sajátosságok miatt, ennek az aeroszolnak a megszokottól eltérő környezeti és egészségügyi hatásai lehetnek.



4. Ábra. Egy PM<sub>20</sub> méretfrakciójú, vasoxidból álló aeroszol részecskéről mágneses rezgő módban készült atomi erőmikroszkópos felvétel topográfiai képe (a), amplitúdó képe (b) és fázisképe (c). A felvételek alatti ábrák a profilokat mutatják a vízszintes vonal mentén. A topográfiai képen megfigyelhetjük, hogy az adott részecske körülbelül 25 nm vastag, és az alapfelületéből 5–10 nm magasságú göbök állnak ki.

### 4.1.2.

Kimutattuk, hogy az állomástérben lévő aeroszol részecskék nagyobbak (30–40 µm átmérőjűek), és nehezebbek a belvárosi aeroszolhoz viszonyítva. A PM<sub>10</sub> méretfrakciójú aeroszol tömeg 72%-át durva részecskék alkotják, szemben a belvárosi aeroszollal, amelyre vonatkozó érték 59%. Mindez azt jelenti, hogy az állomástérben különös, a külső aeroszol részecskéktől kémiai összetételben és méretben is eltérő részecskékkel van dolgunk. A sajátosságok miatt, ennek az aeroszolnak a megszokottól eltérő környezeti és egészségügyi hatásai lehetnek.

### 4.1.3.

Bizonyítottuk, hogy az említett fémek fő emissziós forrása a metróban található: a vasúti sínek, főképpen pedig az áramszedő acél sín anyagának kopása, a földkéreg és konstrukciós anyagok eróziója és diszperziója. A korom a szellőzés révén kerül a metróba a külső levegővel együtt. Az aeroszol részecskék átmenetifém (Fe, Mn, Ni, Cu és Cr) tartalma 10–30-szoros dúsulással bír a belvárosi, kültéri aeroszolhoz viszonyítva. Ugyanakkor, az átmenetifémek vízoldhatósága kisebb a metróban a belvárossal összehasonlítva. A PM<sub>10</sub> méretfrakciójú Cr esetében 2%, a belvárosban mért 12%-kal szemben. Mindez eltérő egészségügyi mechanizmust jelez.

### 4.1.4.

Speciációs analitikai módszerekkel meghatároztuk, hogy a  $PM_{2,0}$  méretfrakciójú Cr tömegének 7%-a Cr(VI) formájában van jelen, ami eltér a kültéri körülményektől, ahol Cr(III) fordul elő. A Cr(III) esszenciális tápanyag, míg a Cr(VI) az egyik legveszélyesebb toxikus forma. Hasonlóan, a metróban lévő Fe-tartalmú részecskék döntő részben hematitot (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)

tartalmaznak, szemben a kültéri aeroszollal, ahol magnetit (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) található. Méréseink azt mutatják, hogy a metróban lévő aeroszol részecskék nemcsak szögletesebbek, mint a belvárosi részecskék, hanem a  $PM_{2.0}$  méretfrakcióban 10 nm tipikus lineáris méretű, rendezetlen orientációjú mikrokristályok aggregátumát tapasztaltuk. Egy ilyen, vasoxidból álló részecske atomi erőmikroszkópos felvételét a 4. ábrán szemléltetjünk példaként. Eredményeink alapján azt javasoltuk, hogy az aeroszol egészségügyi hatásai a metróban a specieszekkel (kémiai formákkal) és az aeroszol részecskék felületkémiai tulajdonságaival (pl. a felületen levő átmentifémek redox állapotával) kapcsolatosak.

### 4.2. Egyetemi előadóterem

Szorgalmas egyetemi hallgatók idejük jelentős részét előadótermekben töltik, ahol a zárt jelleg, fényviszonyok és a specifikus források miatt különleges levegőminőségi helyzetek alakulhatnak ki. Az ELTE Természettudományi Karán az Ortvay Rudolf előadóteremben (120 fős férőhely) végeztünk intenzív aeroszol és mikrometeorológiai méréseket, azzal a céllal, hogy meghatározzuk az aeroszol tömeg és részecskeszám időváltozékonyságát, a részecskék kémiai összetételét, azonosítsuk és minősítsük a főbb forrásokat és nyelőket, valamint megbecsüljük a rövid idejű egészségügyi hatásokat. Az előadóteremre vonatkozó térbeli eloszlásokat és dinamikai tulajdonságokat egy CFD áramlási modell segítségével határoztunk meg. Főbb kutatási eredményeink ezen a területen a következőek.<sup>1</sup>

### 4.2.1.

A  $PM_{10}$  méretfrakciójú tömeg és a teljes részecskeszám heti medián koncentrációja az előadóteremben rendre 15,4 µg m<sup>-3</sup> és 3,7×10<sup>3</sup> cm<sup>-3</sup> volt. Az értékek jelentősen kisebbek a kültéri koncentrációknál, és a lakásokban előforduló tipikus értékeknél is. (Érdekesség kedvéért: a napi egészségügyi határérték 50 µg m<sup>-3</sup>.) Az ultrafinom részecskék átlagos járuléka a teljes részecskeszámhoz 69%, ami jelentősen kisebb a kültéri értékeknél, és "öregedett" aeroszolra utal. Különböző időszakokban (előadások és szünetek alatt) azonban jelentős koncentráció különbségek voltak megfigyelhetőek. Az egyik munkanapon mért koncentrációkat az 5. ábrán mutatjuk be demonstráció céljából.

### 4.2.2.

A PM<sub>10</sub> tömeg fő forrása a krétahasználat - különösen a tábla száraz szivaccsal történő törlése -, a hallgatók helyváltoztatása és a takarítás. Közvetlenül a táblatörlés után a tömegkoncentráció rövid időre elérte a 101 µg m-3 értéket is. A táblatörlés forrásintenzitása 8 és 14 mg min<sup>-1</sup> közötti, tehát igen jelentős, de a forrás szerencsére csak 1-2 percig aktív. A krétahasználat hatását a részecskék kémiai összetétele (például a Ca és S dúsulása a kültéri aeroszolhoz viszonyítva) is megerősítette. A kréta fő összetevője gipsz. Két típusú, durva részecskét azonosítottunk; az általános beltéri por részecskék tartózkodási ideje a levegőben 35 min körüli, míg a krétapor részecskék kb. 15 min tartózkodási idővel jellemezhetőek. Az aeroszol tömegkoncentrációját jelentős térbeli heterogenitás jellemzi, és a krétát intenzív módon használó oktatók expozíciója a legnagyobb. A CO, fő forrása az infiltráció (az ajtókon keresztül történő beáramlás) a folyosókról. A szellőztető rendszer képes alacsony koncentrációszintek biztosítására csukott ajtók esetén.



5. Ábra. A  $PM_{10}$  tömeg, a részecskeszám és a  $CO_2$  koncentrációjának napi változása az Ortvay-előadóteremben 2010. április 12-én, hétfőn. A  $PM_{10}$  koncentráció napi egészségügyi határértékét kültéri aeroszol esetén vízszintes vonallal jeleztük. A kiemelt mezők az előadásokat jelölik (E1-E5). A hallgatók átlagos létszámát szintén feltüntettük.

### 5. Összefoglalás

Jelen dolgozat tömör áttekintést ad az ELTE Kémiai Intézet, Környezetkémiai és Bioanalitikai Laboratórium keretében végzett, a légköri aeroszol jelentőségét és hatásait tanulmányozó kutatómunka fontosabb eredményeiről az elmúlt négy évben. A kutatások főbb irányvonalai a következőek voltak: 1) a légköri nukleáció és az ultrafinom aeroszol részecskék keletkezése, tulajdonságai és hatásai Budapest különböző környezeteiben, 2) a légköri humusszerű anyag járuléka, képződési mechanizmusai, felületi aktivitása, méreteloszlása és vízfelvevő képessége, és 3) a beltéri aeroszol tulajdonságainak, forrásainak és nyelőinek vizsgálata különleges mikrokörnyezetekben, úgymint a budapesti metró egyik felújított megállójában és egy egyetemi előadóteremben. Az eredmények részletesebb bemutatása, megvitatása és értelmezése a felsorolt közleményekben található. További információk a www.salma.elte.hu honlapon is elérhetőek.

### Köszönetnyilvánítás

Akutatómunka során több elhivatott és szakavatott kollégával dolgoztunk együtt. Közülük Markku Kulmalát (Helsinki Egyetem) és Willy Maenhautot (Genti Egyetem), valamint Weidinger Tamást (ELTE Meteorológiai Tsz.) és Pósfai Mihályt (PE Föld- és Környezettudományi Tsz.) szeretnénk kiemelni. A munkába végzős kémia és környezettudomány alap- és mesterszakos egyetemi hallgatók is bekapcsolódtak. A kutatómunkát az OTKA támogatta a K61193 és K84091 szerződések alapján.

#### Hivatkozások

- Salma, I.; Dosztály, K.; Borsós, T.; Söveges, B.; Weidinger, T.; Kristóf, G.; Péter, N.; Kertész, Zs. *Atmos. Environ.* 2012, nyomdában, doi: 10.1016/j.atmosenv.2012.09.070.
- Borsós, T.; Řimnáčová, D.; Ždímal, V.; Wágner, Z.; Weidinger, T.; Smolík, J.; Hitzenberger, R.; Schwarz, J.; Salma, I. Sci. Total Environ. 2012, 433, 418–426.
- Salma, I.; Mészáros, T.; Maenhaut, W. J. Aerosol Sci. 2012, nyomdában, doi: 10.1016/ j.jaerosci.2012.06.006.
- Claeys, M.; Vermeylen, R.; Yasmeen, F.; Gómez-González, Y.; Chi, X.; Maenhaut, W.; Mészáros, T.; Salma, I. *Environ. Chem.* 2012, 9, 273–284.
- Salma, I.; Borsós, T.; Aalto, P.P.; Kulmala, M. Boreal Environ. Res. 2011, 16, 262–272.
- Salma, I.; Borsós, T.; Weidinger, T.; Aalto, P.; Hussein, T.; Dal Maso, M.; Kulmala, M. *Atmos. Chem. Phys.* 2011, 11, 1339–1353.
- Salma, I.; Mészáros, T.; Maenhaut, W.; Vass, E.; Majer, Zs. Atmos. Chem. Phys. 2010, 10, 1315–1327.
- Salma, I.; Pósfai, M.; Kovács, K.; Kuzmann, E.; Homonnay, Z.; Posta, J. *Atmos. Environ.* 2009, 43, 3460–3466.
- Yli-Juuti, T.; Riipinen, I.; Aalto, P.P.; Nieminen, T.; Maenhaut, W.; Janssens, I.A.; Claeys, M.; Salma, I.; Ocskay, R.; Hoffer, A.; Imre, K.; Kulmala M. *Boreal Environ. Res.* 2009, 14, 683–698.
- Salma, I. Air pollution in underground railway systems, in: Air Quality in Urban Environments, Harrison, R.M., Hester, R., Eds., p. 65–84, Royal Society of Chemistry Publishing, Cambridge, 2009.
- 11. Salma, I.; Láng, G.G. Atmos. Chem. Phys. 2008, 8, 5997-6002.
- Salma, I.; Ocskay, R.; Láng, G.G. Atmos. Chem. Phys. 2008, 8, 2243–2254.
- Wex, H.; Stratmann, F.; Hennig, T.; Hartmann, S.; Niedermeier, D.; Nilsson, E.; Ocskay, R.; Rose, D.; Salma, I.; Ziese, M. *Environ. Res. Lett.* **2008**, 3, 10 pp., doi:10.1088/ 1748–9326/3/3/035004.
- Ziese, M.; Wex, H.; Nilsson, E.; Salma, I.; Ocskay, R.; Hennig, T.; Massling, A.; Stratmann, F. *Atmos. Chem. Phys.* 2008, 8, 1855–1866.

### Importance and effects of atmospheric aerosols

The present article is a brief account on the major results of the atmospheric aerosol research programs at the Eötvös University, Institute of Chemistry, Laboratory of Environmental Chemistry and Bioanalytics achieved during the last four years. The main focus in the studies was given to 1) atmospheric nucleation, generation, properties and effects of ultrafine particles in various urban environments in Budapest, 2) abundance, formation mechanisms, surface tension, mass size distribution and water uptake properties of atmospheric humic-like substances, 3) indoor aerosols in specific microenvironments such as underground railway and university lecture hall. The results, their discussion and interpretation can be found in English in the literature listed.

### Városi aeroszolok PM10 és PM2.5 frakciójának kémiai jellemzése

SZIGETI Tamás, ÓVÁRI Mihály, MIHUCZ Viktor Gábor és ZÁRAY Gyula\*

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Környezetkémiai és Bioanalitikai Laboratórium, Pázmány Péter sétány 1/A, 1117 Budapest

### 1. Bevezetés

Az ELTE Kémiai Intézetének Környezetkémiai és Bioanalitikai Laboratóriuma több év óta foglalkozik városi aeroszolok különböző méretfrakcióinak fizikai és kémiai jellemzésével.<sup>1,2</sup> Az aeroszol részecskék a gáznemű szennyezők mellett alapvető szerepet játszanak a városi levegőminőség szempontjából. Keletkezési mechanizmusuktól függően a szilárd és/vagy cseppfolyós részecskék mérete igen tág határok között változathat, néhány nanométertől egészen 100 mikrométerig. A részecskék fizikai tulajdonságai és kémiai összetétele jelentősen befolyásolja azok környezetre és az emberi szervezetre gyakorolt hatását. Egészségügyi szempontból elsősorban a 10 µm-nél kisebb aerodinamikai átmérővel rendelkező részecskék (PM10) a meghatározóak. Jelentőségük miatt az Európai Bizottság 2005. január 1-jével határértéket léptetett életbe a PM10-s frakció 24 órás és éves átlag tömegkoncentrációjára (1999/30/ EC). Az elmúlt évtizedben végzett kutatások során a 2,5 µm-nél kisebb aerodinamikai átmérővel rendelkező részecskék (PM2.5) kerültek előtérbe, mivel számos epidemiológiai tanulmány szoros összefüggést talált e részecskék tömegkoncentrációja és bizonyos egészségügyi megbetegedések között.<sup>3</sup> 2010. január 1-je óta célérték vonatkozik a PM2.5 frakció tömegkoncentrációjára az Európai Unió tagállamaiban (2005/50/EC). A későbbiekben igazolást nyert, hogy a részecskék tömegkoncentrációja mellett kémiai összetételük és az okozott egészségügyi hatások között is szoros összefüggés állapítható meg.<sup>4</sup> Jelenleg célértékek vonatkoznak az arzén, kadmium, poliaromás szénhidrogének nikkel és PM10-es méretfrakcióban mérhető koncentrációjára. Ólom esetében már korábban éves határérték lépett életbe. Mindezeken felül, számos határérték vonatkozik gyárak, telephelyek munkahelyi levegőminőségére a légszennyezettségnek kitett dolgozók egészségének megóvása érdekében. Meghatározó jelentőségű például a hegesztés során képződő aeroszolok fizikai és kémiai jellemzése, illetve azok inhalációjának kiküszöbölése.<sup>5</sup> Szintúgy fontos az egyéb beltéri tevékenységekhez (pl. irodai munka) kapcsolódó levegőminőség vizsgálata, mert az épületek nem megfelelően működtetett és karbantartott légkondicionáló rendszerén keresztül bejuttatott aeroszol részecskék, valamint az épületekben keletkező légszennyező komponensek kihatnak az ott dolgozók egészségére. Ezen utóbbi esetben jelentős szerepet játszanak a műanyag padlókból, a préselt farostlemez bútorokból és tisztítószerekből származó illékony szerves alkotók, illetve ezek reakciótermékei a fénymásolás során képződő ózonnal, továbbá a külső légtérből a légkezelő rendszeren keresztül bejutó, valamint a ventillációs rendszer kopása során keletkező részecskék.

A városi aeroszolok kémiai jellemzéséhez célul tűztük ki a részecskék kémiai összetételéről információt adó analitikai \* Tel.: 372-2601; fax: 372-2601; e-mail: zaray@ludens.elte.hu

kémiai módszerek kidolgozását és validálását, majd ezek felhasználásával összehasonlító vizsgálatok elvégzését nagyvárosok levegőminőségének megítéléséhez nemzetközi kooperációk keretében.

### 2. Mintavételi kampányok

A PM10 frakció tömegkoncentrációjára vonatkozó határérték bevezetését megelőzően, 2004 augusztusától 3 éven keresztül a Közép-Duna-völgyi Környezetvédelmi, Természetvédelmi és Vízügyi Felügyelőséggel együttműködve Budapest egy forgalmas pontján, a Széna téren, a PM10 frakciók havi mintavételezését végeztük nagy térfogatáramú mintavevő segítségével. 2010 júniusától a PM2.5 frakció folyamatos mintavételezése történik. Mindkét méretfrakció mintavételezésénél négy egymást követő munkanapon, folyamatos üzemben, 2880 m<sup>3</sup> levegőt áramoltatunk át a 150 mm átmérőjű kvarcszálas szűrőkön. A szűrőn felfogott PM2.5 frakcióhoz tartozó aeroszol részecskék morfológiai képét az 1. ábra méretfrakciók tömegkoncentrációját szemlélteti. А



Satellite @Tescan DATE: 03/22/12 10 um

1. Ábra. Városi aeroszol kvarcszálas szűrőre gyűjtött PM2.5 frakcióját alkotó aeroszol részecskék elektronmikroszkópos felvétele.

tömegméréssel határozzuk meg, majd a szűrőket szilíciumnitrid bevonatú szike segítségével több részre vágjuk a különböző célú analitikai kémiai vizsgálatokhoz. Ezen esetben természetesen feltételezzük, hogy az aeroszol részecskék egyenletesen oszlanak el a szűrő felületén.

A városi aeroszolok vizsgálatára irányuló tevékenységünket az elmúlt években kiterjesztettük Wuhanra és Isztambulra, köszönhetően a wuhani China University of Geosciences és az isztambuli Technical University munkatársaival kialakított bilaterális együttműködéseknek. Az összehasonlító
vizsgálatok a kínai várossal a PM10, míg a török város esetében a PM2.5 frakciókra irányultak.

Wuhan Kína harmadik legnagyobb városa mintegy 10 millió lakossal. A mintavétel helyszíneként a város centrumában lévő Luxiang teret választottuk, ahol a közlekedési járművek a közvetlen szennyező források. Ezt a fontos közlekedési csomópontot naponta kb. 140000 gépjármű keresztezi (a Széna téren áthaladó forgalom átlagosan 80000 gépjármű naponta). Háttérként természetesen számolni kell az ipari nagyváros üzemei és erőművei által emittált aeroszol részecskékkel is. A PM10 frakció mintavételezése 2005. szeptember és 2006. augusztus között havi rendszerességgel történt a budapesti mintavétellel párhuzamosan, közepes térfogatáramú mintavevő rendszer felhasználásával. A budapestitől jelentősen eltérő közlekedési eszközparkkal és szennyező forrásokkal rendelkező városban vett aeroszolminták vizsgálatát is laboratóriumunk végezte el és az eredményeket publikálta. 6,7

A 2010. június és 2011. május közötti időszakban az isztambuli egyetemmel együttműködve PM2.5 aeroszol frakciók párhuzamos mintavételezése történt nagy térfogatáramú mintavevőkkel a két város egy-egy forgalmas pontján, havi rendszerességgel. Budapesten változatlanul a Széna téren, míg Isztambulban a Műszaki Egyetem kerítésén belül, egy hatsávos úttól csupán 15 m távolságra voltak a mintavevők felállítva. Az analitikai kémiai vizsgálatokra szintén laboratóriumunkban került sor és az eredményeket bemutató publikáció megjelenés alatt áll.<sup>8</sup>

### 3. Aeroszol vizsgálatokhoz alkalmazott analitikai kémiai méréstechnikák

Az aeroszolok kémiai jellemzéséhez első lépésként az alábbi analitikai kémiai módszereket dolgoztuk ki és validáltuk:

- Induktív csatolású plazma ionforrást alkalmazó, kettős fókuszálású tömegspektrométerrel (Thermo Element 2) az aeroszol frakciókban a Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Pt, Rb, Sb, Sn, Te, Tl, U, V és Zn koncentrációjának a meghatározása a szűrők mikrohullámmal támogatott királyvizes és ultrahangos ioncserélt vizes extrakcióját követően;
- Teljes széntartalom (TC total carbon) meghatározása C/N analizátorral (Analytik Jena Multi N/C 2100 S) a szűrőkön lévő szilárd mintákból, valamint a vízoldható vegyületek teljes széntartalmának mérése ultrahangos ioncserélt vizes extrakcióval nyert oldatokban;
- Szulfát-, nitrát- és kloridion koncentrációjának meghatározása ionkromatográfiás módszerrel aeroszol frakciók vizes extraktumában;
- Ammóniumion koncentrációjának mérése spektrofotometriás úton ioncserélt vizes extrakcióval nyert oldatokban.

#### 4. Eredmények

### 4.1. A budapesti és a wuhani PM10 aeroszol frakciók összehasonlító vizsgálata

Jelentős eltérés mutatkozott a két város, Budapest és Wuhan PM10 tömegkoncentrációját illetően. A kínai városban mért éves átlagérték (81,0 µg/m<sup>3</sup>) közel háromszorosa volt a magyar fővárosban regisztrált átlagértéknek (27,8 µg/m<sup>3</sup>). Ez utóbbi nem haladta meg a 40 µg/m<sup>3</sup>-s éves határértéket. A mintavételi időszak alatt mindkét városban a télen mért tömegkoncentrációk nagyobbak voltak a nyári időszakhoz viszonyítva. Ezen szezonális változás az alacsonyabb hőmérsékletnek, illetve a hőmérsékleti konverziónak köszönhető, melyek elősegítik a gázfázisú szerves és szervetlen vegyületek kondenzációját.

A teljes széntartalom városi aeroszolok esetében három részre bontható, mégpedig szerves és szervetlen vegyületek széntartalmára, és elemi szénre. Ez utóbbi a városi környezetben az üzemanyagok tökéletlen égetése során keletkezik, és az aeroszol részecskék össztömegének akár 20%-át is elérheti. Korábbi vizsgálataink során már igazoltuk, hogy a szervetlen vegyületekhez (karbonátokhoz) rendelhető széntartalom a városi aeroszolok teljes széntartalmának csupán 1-3%-át éri el. A rendelkezésre álló C/N analizátorral az elemi szén szelektív meghatározása nem végezhető el, ezért az összehasonlító vizsgálatok csak a teljes széntartalom mérésére irányultak. Megállapítottuk, hogy mindkét városban a PM10 frakció tömegén belül a szén 40-42%-ot képvisel. A széntartalmú vegyületek vízoldható hányadának meghatározására csak Budapesten került sor, ahol a vízoldható hányad átlagosan 18%-ot ért el.

Az aeroszol részecskék fő összetevői mellett a kisebb koncentrációban előforduló, főleg antropogén forrásokból nyomelemek koncentrációjának származó ismerete toxikológiai hatásuk miatt meghatározó jelentőségű. Általában elmondható, hogy koncentrációjuk a ng/ tartományba esik és összességükben az aeroszol m<sup>3</sup> frakcióknak csupán néhány százalékát alkotják. Az 1. táblázat a Budapesten és Wuhanban gyűjtött frakciókra vonatkozó átlagértékeket tünteti fel 24 nyomelem esetében, amelyeket koncentráció nagyságrendenként csoportosítottunk. Az adatokat összehasonlítva megállapítható, hogy a Jangce partján fekvő városban a nagyszámú ipari létesítmény emissziója miatt a mért V, Ni, Cr, Ga, Pb és Zn koncentrációk a Budapesten mért értékeket 30-50-szer haladták meg.

A Budapesten vett aeroszolmintákra vonatkozó analitikai kémiai eredményeket kemometriai módszerekkel dolgoztuk fel. A királyvizes kioldással meghatározott össznyomelemkoncentrációkat – előzetes normálás és centrálás után – a Ward-féle hierarchikus klaszteranalízissel vizsgáltuk, melynek alapján különösen szembeötlő a réz és az antimon közötti szoros kapcsolat. Mindkét elem a gépjárművek fékpofáiban található meg ötvözőként és ennek kopásával kerül a légkörbe. A két elem korrelációs együtthatója 0,88.

A forrásazonosítás, illetve a további összefüggések vizsgálatának érdekében az adatokon varimax rotációt követően faktoranalízist végeztünk. Az osztályozás alapján az első csoportba kerültek a poliaromás szénhidrogének, a NO, a CO és a SO<sub>2</sub>, amelyek forrása elsősorban a közlekedés. A második csoportot szintén a közlekedéshez köthető nyomelemek alkotják (Cd, Cu, Mo, Pb, Sb), míg a harmadik csoportba a Zn kivételével olyan nyomelemek kerültek, amelyek elsődlegesen nem közlekedési forrásból származnak (Bi, Fe, Mn, Sn, U, Zn). Ezeket még öt, kisebb varianciát leíró csoport követte. A csoportosítások

Koncentrációtartomány (ng/m³)	Budapest	Wuhan
> 100	Fe	Fe, Pb, Mn, Zn
10-100	Sn, Pb, Mn, Cu, Zn	Rb, Sr, Sn, Sb, Bi Cr, Ni, Cu Cd
1-10	Rb, Sr, Sb, V, Cr, Ni, Mo, Cd	Li, Te, Tl, V, Ga, Mo, Ag
0,1-1	Li, Bi, Co, Ga, Ag	U, Co
< 0,1	Be, Te, Tl, U, Pt	Be, Pt

1. Táblázat: Nyomelemek koncentrációtartománya Budapesten és Wuhanban vett PM10 aeroszol frakciókban.

alapján megállapítottuk, hogy néhány komponens esetében feltehetőleg több forrásról lehet szó (pl. Cr, Mn, Cu,  $SO_2$ ).

### 4.2. Budapesti és isztambuli PM2.5 aeroszol frakciók összehasonlító vizsgálata

A két városban az aeroszolok PM2.5 frakciójának tömegkoncentrációja jelentős mértékben eltér, ahogy ezt a 2. ábra szemlélteti. A 25  $\mu$ g/m<sup>3</sup> EU-célértéket a Budapesten mért adatok csak a téli hónapokban haladták meg kis mértékben, de az éves átlag csak 23  $\mu$ g/m<sup>3</sup> volt. Szezonális változás itt is megfigyelhető, akárcsak a 4.1. pontban említett PM10 frakció esetében.



2. Ábra. PM2.5 tömegkoncentráció változása az egy éves mintavételi időszak alatt Budapesten és Isztambulban <sup>8</sup>

A teljes széntartalom az aeroszol frakció tömegének 40-45%-át érte el Budapesten, míg Isztambulban ez az érték csak 30% volt. Erre a jelenségre Isztambul földrajzi elhelyezkedésében kereshetjük a választ, ahol a városi levegő gyakoribb cseréje és a szervetlen tengeri aeroszol hozzájárulása befolyásolja az aeroszolok kémiai összetételét. A vízoldható szerves vegyületek (WSC – water-soluble carbon) részaránya a teljes széntartalomban Budapesten 25, míg Isztambulban átlagosan 20%. Mindkét városban évszaki változás figyelhető meg a WSC/TC koncentráció arányban (3. ábra). A vízoldható szerves vegyületek hozzájárulása a teljes széntartalomhoz nyáron jelentősebb, mivel a fotokémiai reakciók során több poláris funkciós csoporttal (-OH, -COOH) rendelkező szerves vegyület keletkezik, melyek jó vízoldékonysággal rendelkeznek.<sup>9</sup>

Az SO<sub>2</sub> és a nitrogén-oxidok légköri oxidációs folyamatokban vesznek részt, mely során kénsav és

salétromsav keletkezik, melyek azonnal semlegesítődnek a légkörben található ammóniával. Az így keletkező másodlagos szervetlen vegyületek (ammónium-szulfát, ammónium-nitrát) hozzájárulása jelentős az aeroszol frakciók tömegéhez. Tovább növelik a szervetlen ionok aeroszolbeli koncentrációját a tengervíz párolgása során keletkező NaCl és Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> részecskék. Mivel a kvarcszűrők nátriumra nézve nagy vakértékkel rendelkeznek e vegyületek alkotói közül meghatároztuk az ammónium-, szulfát-, nitrátés a kloridionok koncentrációját. Az egy éves mintavételi kampány során mért eredmények alapján ez a négy alkotó teszi ki a budapesti és isztambuli PM2.5 frakció tömegének átlagosan 26, illeve 22%-át.



**3. Ábra.** WSC/TC koncentráció arány változása a mintavételi időszak alatt Budapesten és Isztambulban.

Nyomelemek vonatkozásában megállapítást nyert, hogy az Isztambulban vett aeroszol mintákban a detektálható 21 nyomelem koncentrációja 1,2-20-szor nagyobb a budapesti mintákéhoz viszonyítva (2. táblázat). A vizsgált nyomelemek közül a Pb és Cd esetében évszakonkénti változás figyelhető meg.

A teljes nyomelem koncentrációk mellett a vizes extrakcióval kapott értékek is meghatározóak mivel a nyomelemek biológiai hozzáférhetőségéről adnak tájékoztató információt. A nyomelemeket tartalmazó vegyületek oldhatósága a Cr, Mn, Ni és V kivételével csak egy-két százalékos eltérést mutatott a Budapest-Isztambul összehasonlításban. Ebből az a következtetés vonható le, hogy a kimutatott 21 nyomelemből 17 elemnek a kémiai formája hasonló a két városban. Azonban a fenti négy elem vegyületei mintegy 20-

Koncentrációtartomány (ng/m³)	Budapest	Isztambul
>100	Fe	Fe, Zn
10-100	Zn, Pb	Mn, Pb, Cu, V
1-10	Cu, Mn, Sb, Sn, Cr	Ni, Rb, Sn, Cr, Sb
0.1-1	Ni, V, Mo, Rb, Cd, Li	Mo, Cd, Li, Co, Ga, Bi
<0.1	Ga, Bi, Co, Te, Tl, Pt, U	Tl, U, Te, Pt

2. Táblázat. Nyomelemek koncentrációtartománya a budapesti és az isztambuli aeroszolok PM2.5 frakcióiban

22%-kal kisebb vízoldhatósággal rendelkeznek a budapesti mintákban, amely apoláris fémorganikus vegyületek vagy oxidok jelenlétére utal. Jellemző példaként a 4. ábrán a budapesti mintákkal kapott eredményeket tüntettük fel. Látható, hogy legnagyobb vízoldhatósággal a Zn- és a Tl-vegyületek bírnak, míg a nagy koncentrációban jelen levő vasnak csupán 10% van vízoldható vegyület formájában.

Az analitikai kémiai eredmények értelmezése céljából kemometriai vizsgálatokat végeztünk. A nyomelemek vonatkozásában Ward-féle hierarchikus klaszteranalízissel megállapítottuk, hogy az ólom és a kadmium kiemelt korrelációt mutat Budapesten (0,91) és Isztambulban (0,86), valamint a vanádium és nikkel az isztambuli mintáknál (0,98). Ezen utóbbi korreláció olajtüzelésű erőmű működésére vezethető vissza. A további alkotók közötti korrelációk feltárását célzó számítások még folyamatban vannak.



4. Ábra. Nyomelemek vízoldhatósága a budapesti PM2.5-es frakcióban.8

#### 5. Kitekintés – beltéri PM2.5-frakciók kémiai jellemzése

Az aeroszol kutatási területünk az elmúlt év során kibővült egy, a légkondicionált irodaházak beltéri levegőminőségvizsgálatát célzó, **OFFICAIR** elnevezésű három éves európai projekttel. Résztvevők: Belgium, Dánia, Egyesült Királyság, Görögország, Hollandia, Magyarország, Olaszország, Portugália, Spanyolország egy-egy egyeteme vagy kutatóintézete. A projekt keretében a 9 országban lévő 45 irodaépületben gyűjtött PM2.5 frakciók analitikai kémiai vizsgálatát végezzük el. A projekt első lépése épületek műszaki állapotának felmérésére irányult a következő szempontok szerint: radon, ólom, azbeszt jelenléte, kültéri légszennyezettség, bútorzat és padlóburkolat típusa, nyomtatók és fénymásolók elhelyezkedése, légkezelő berendezés működése és karbantartása, illetve takarítási ütemterv. A második lépés internetes, anonim és önkéntes alapú kérdőív kitöltése volt, mely korszerű irodaházak belső légterére és az ott dolgozók komfortérzetére irányult. Magyarországon 24 épületben végeztük az említett felmérést 2011. november - 2012. február időszakban. A kiválasztott épületek közül 3 vidéken és 21 Budapesten található. A komfortérzetre irányuló kérdőív 4215 dolgozóhoz jutott el. A kitöltési arány 34,3%, mely az uniós átlaghoz képest (27,8%) nagyobb volt. A kiértékelt kérdőíves felmérés és az épületek műszaki állapota alapján 5 irodaépületet választottunk ki kül- és beltéri levegőkémiai mérések (illékony szerves vegyületek, aldehidek, ózon és nitrogén-dioxid) elvégzéséhez, illetve a kültéri és beltéri PM2.5 frakció kémiai jellemzéséhez, kiegészítve áramlási sebesség, hőmérséklet és páratartalom meghatározásokkal. Két mintavételi kampányt indítunk: 2012 júniusában illetve novemberében.

#### Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak a Magyar-Kínai (OMFB-00589/2007) és a Magyar-Török (OMFB-00582/2009) TéT szerződések által nyújtott támogatásért.

#### Hivatkozások

- 1. Salma, I.; Maenhaut, W.; Zemplén-Papp, É.; Záray, Gy. J. *Aerosol Sci.* **2002**, *33*, 339-356.
- Záray, Gy.; Óvári, M.; Salma, I.; Steffan, I.; Zeiner, M.; Caroli, S. *Microchem. J.* 2004, 76, 31-34.
- Pope, C.A.; Burnett, R.T.; Thun, M.J.; Calle, E.E.; Krewski, D.; Ito, K.; Thurston, G.D. J. Am. Med. Assoc. 2002, 287, 1132–1141.
- de Kok, T.M.C.M.; Driece, H.A.L.; Hogervorst, J.G.F.; Briedé, J.J. Mutation Res – Rev. 2006, 613, 103–122.
- Berlinger, B.; Náray, M.; Záray, Gy. Sci. Tech. Weld. Joining 2008, 13, 721-725.
- Muránszky,G.; Lv, W.; Óvári, M.; Yao, J.; Qi, S.; Bakircioglu, Y.; Záray, Gy. *Toxic. Environ. Chem.* 2010, 92, 421-428.
- Muránszky, G.; Óvári, M.; Virág, I.; Csiba, P.; Dobai, R.; Záray, Gy. *Microchem. J.* 2011, 98, 1-10.
- Szigeti, T.; Mihucz, V.G.; Óvári, M.; Baysal, A.; Atilgan, S.; Akman, S.; Záray, Gy. *Microchem. J.* 2012, *in press*
- 9. Kleefeld, S.; Hoffer, A.; Krivacsy, Z.; Jennings, S.G. *Atm. Environ.* **2002**,*36*, 4479–4490.

### Chemical characterization of PM10 and PM2.5 fractions of urban aerosols

This work overviews the physico-chemical characteristics of PM10 and PM2.5 fractions of urban aerosol collected onto quartz fiber filters in Budapest, Wuhan and Istanbul. Harmonized sampling campaigns were carried out in order to make reliable comparisons on particulate matter. The goal of the investigations was to estimate the local air pollution.

Analytical methods were developed for (i) determination of trace elements by inductively coupled plasma mass spectrometry after microwave-assisted *aqua regia* and sonication-assisted water extraction, (ii) evaluation of major anions ( $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^-$ ,  $CI^-$ ) as well as  $NH_4^+$  concentrations in the aerosol samples subjected to sonication-assisted water extraction by ion chromatography and UV/Vis spectrophotometry, respectively, (iii) assessment of total and water-soluble carbons by a C/N analyzer in the samples.

In the case of the PM10 and PM2.5 fractions collected in Budapest, the concentration of the investigated parameters were found to fully comply with the target and limit values set by European Commission. Wuhan and Istanbul – being megacities- have considerably larger area, higher population, higher traffic density and more industrial activities than Budapest. Therefore, 2.7 times higher PM10 and 1.7 times higher PM2.5 mass concentrations were determined during the sampling campaigns in Wuhan and Istanbul than in Budapest, respectively. Carbonaceous compounds were the major constituents of the investigated samples, accounting for 30-45 % of the total mass. In the case of PM2.5 fractions, seasonal variation of the water-soluble carbon to total carbon ratios was

observed. The solubility increased towards the summer which may be attributed to enhanced photochemical oxidation forming oxygen containing functional groups which, in return, increases water solubility. Seasonal profiles were also observed for the contribution of the two major anions  $(SO_4^{2-}, NO_3^{-})$  to PM2.5 mass in Budapest and Istanbul as well. The  $SO_4^{2-}PM2.5$  ratio increased during the summer period due to the enhancement of photochemical oxidation of SO<sub>2</sub>. Higher concentrations of the investigated compounds originating from traffic and industrial activities were also observed in Wuhan and Istanbul. Vanadium, Ni, Cr, Ga, Pb and Zn concentrations were 30-50 times higher in the PM10 fractions collected in Wuhan than those found in Budapest. By comparing the mean concentrations of the trace elements obtained for PM2.5 samples collected in Budapest and Istanbul, V, Ni, Co, Zn and Mn concentrations were 2.2-20 times higher than in Budapest. Generally, all investigated elements could be extracted into water witha similar extent in PM2.5 samples collected in Budapest and Istanbul expect for Cr, Mn, Ni and V. This means that the chemical form of these elements were different in both cities. During the one-year-long sampling period, no proof of any seasonal change of trace element concentrations was found at the investigated sites except for Cd and Pb both in the *aqua regia* and water extractable fractions.

Future investigations will be extended to the identification of different groups of carbonaceous compounds as well as the physico-chemical characterization of indoor air pollutants in modern office buildings.

# Elektrokémiai mérőrendszerek és kísérleti módszerek fejlesztése, elektródfolyamatok tanulmányozása

#### UJVÁRI Mária,\* VESZTERGOM Soma és LÁNG Győző

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Elektrokémiai es Elektroanalitikai Laboratórium, Pázmány Péter sétány 1/A, 1117 Budapest, Magyarország

#### 1. Bemutatkozás

Az Eötvös Loránd Tudományegyetem (ELTE) Fizikai Kémiai Tanszéke az elektrokémiai kutatások terén komoly hagyományokkal rendelkezik. A korábban elért eredményeket olyan nevek fémjelezték, mint Erdey-Grúz Tibor és Kiss László. Az ELTE TTK Kémiai Intézetének megalakulása után e tradíciók letéteményesévé 87 Elektrokémiai és Elektroanalitikai Laboratórium vált, amely 2006-ban jött létre Inzelt György egyetemi tanár vezetésével. A laboratórium alapításakor kitűzött céloknak megfelelően a laboratórium feladata az elektrokémiai kutatások magas színvonalú művelése, új módszerek és eljárások kidolgozása, a mérőrendszerek és a gyakorlati alkalmazások folyamatos fejlesztése. E követelményeknek egy olyan időszakban kell megfelelni, amikor az elektrokémiai kutatások világszerte egyre inkább az érdeklődés középpontjába kerülnek, leginkább annak a vélekedésnek köszönhetően, mely szerint az elektrokémia hatékonyan hozzájárulhat a világ egyre égetőbb energiagondjainak megoldásához. Magyarországon a trend az elmúlt évtizedekben ezzel éppen ellentétes volt, az elektrokémia kutatása (és oktatása) mind a felsőoktatási intézményekben, mint az akadémiai kutatóhelyeken folyamatosan visszaszorult. E folyamat napjainkban is tart, és azt eredményezte, hogy az ELTE Kémiai Intézetében működik az utolsó olyan egyetemi kutatólaboratórium, amely nevében az "elektrokémia" név előfordul. A laboratóriumban folyó munka az elektrokémia számos szegmensét érinti, a kutatási témák választéka az elméleti kutatásoktól (pl. a határfelületek termodinamikája) a környezetvédelmi szempontból fontos területeken (pl. a perklorátszennyezés) át a gyakorlati alkalmazásokig (pl. a tüzelőanyag cellák kutatása) terjed. A jelen közleményben két fontos területen, nevezetesen az elektrokémiai mérőrendszerek fejlesztése, illetve az elektródfolyamatok tanulmányozása terén elért eredményeinket kívánjuk röviden ismertetni. Az első területen elért eredmények metodikai szempontból is fontosak, emellett lehetővé teszik két, a világon kuriózumnak számító mérési módszer alkalmazását. A második témakörben kiemelt fontosságú kutatási terület a perklorátionok redukciójának vizsgálata, hiszen ez a téma nem csak elektrokémiai szempontból érdekes és időszerű, hanem gyakorlati aspektusai is egyre nyilvánvalóbbak, mivel a perklorátszennyezés több országban komoly környezetvédelmi kihívást jelent.

#### 2. Elektrokémiai mérőrendszerek fejlesztése

Az alábbiakban röviden ismertetünk két olyan mérőrendszert, amelyek fejlesztésében az Elektrokémiai és Elektroanalitikai Laboratóriumnak fontos szerepe volt. Az egyik mérőrendszer az úgynevezett "bending beam" vagy "bending cantilever" módszer (magyarra leginkább "hajló konzol módszernek" fordítható) alkalmazásán alapul. A módszer elektrokémiai rendszerek vizsgálatához történő adaptációjának előfeltétele volt a megfelelő szerkezetű minták előállítása, illetve olyan elektrokémiai cellák megtervezése, amelyek megfelelnek a nagypontosságú optikai mérésekkel szemben támasztott követelményeknek. Az általunk használt cellák további különleges tulajdonsága, hogy termosztálhatóak. Ilyen típusú elektrokémiai-optikai cellákat a korábban publikált elektrokémiai bending beam mérések esetében nem használtak. A másik mérőrendszer az ún. "kettős voltammetria" használatát teszi lehetővé olyan feltételek mellett, amelyek alkalmazására korábban nem volt mód. Lényegében egy olyan kételektródos generátorkollektor rendszerről van szó, melynek elektródjaira egymástól függetlenül alkalmazhatóak (dinamikus) potenciál vagy áram programok. Ilyen típusú mérések elvégzésére a kereskedelmi forgalomban megvásárolható potenciosztátvezérlő szoftverek nem alkalmasak. Egy működőképes kísérleti rendszert a német Zahner-Elektrik GmbH & Co.KG cég segítségével sikerült összeállítanunk, ennek tulajdonságai és lehetőségei azonban még igen távol vannak az optimálistól. Fontos célunk egy új, a fent említett módszerek rutinszerű alkalmazását lehetővé tevő "professzionális" mérőrendszer kifejlesztése, illetve a módszerek alkalmazhatósági területének kiterjesztése.

#### 2.1. Az elektrokémiai "bending beam" módszer<sup>1-12</sup>

A bending beam módszert az elektrokémiában főként a szilárd folyadék határfelületek felületi energetikájának, illetve vezető rétegek elektrokémiai-mechanikai tulajdonságainak vizsgálatára alkalmazzák. A kísérletekhez egy megfelelően megválasztott elektromosan szigetelő hordozó egyik oldalára elektronvezető réteget viszünk fel, amelyet érintkezésbe hozunk egy ionvezető fázissal. A hordozó többnyire egy vékony lemez, melynek hosszúsága sokkal nagyobb, mint a szélessége. A minta ("szilárd elektród")7 az elektronvezető felületén vagy a fázis belsejében végbemenő mechanikai változások hatására deformálódhat, pl. a minta hosszirányú metszetéhez tartozó görbületi sugár az elektródpotenciál függvényében megváltozhat. A görbületi sugár reciproka (1/R), azaz a "görbület") és a felületi feszültség (illetve a rétegben ébredő mechanikai feszültség) értéke (g,) között a Stoney – egyenlet<sup>13</sup> (2) teremt kapcsolatot. Az egyenlet alapján belátható, hogy a feszültség változása a görbületi sugár reciprokának változásával arányos, azaz

$$\Delta g_{\rm f} = k_i \,\Delta(1/{\rm R}),\tag{2}$$

ahol k, a minta mechanikai paramétereitől függő állandó.

<sup>\*</sup> e-mail: marcsi@chem.elte.hu

A görbületi sugár értékének megváltozását például a mintáról visszaverődő lézersugár pozíciójának mérésével határozhatjuk meg, de több más módszert is javasoltak. A pozícióérzékeny fotodetektoron (PSD) a visszaverődő nyaláb egy fénypontként jelenik meg, melynek elmozdulása könnyen mérhető (1. ábra).



 Ábra. Kísérleti berendezés bending beam mérésekhez. Δb a fénypont eltolódása a pozícióérzékeny fotodetektoron, amennyiben a görbületi sugár R-ről R'-re változik, w az elektród és a PSD távolsága, s a reflexiós pont és az oldat felszínének távolsága.

Az alábbiakban a mérőrendszer alkalmazásával elért legújabb eredményeink közül ismertetünk néhányat.

### 2.2. Poli(3,4-etiléndioxitiofén) filmek elektrokémiai degradációjának vizsgálata<sup>14,15</sup>

Gyakorlati szempontból a vezető polimerek közül a poli(3,4etiléndioxitiofén) (PEDOT) kiemelkedő fontosságú. Felhasználják ionszelektív elektródokban, fényemittáló diódákban. folyadékkristályos kijelzők készítésénél, tüzelőanyag cellákban, napelemekben és még számos más helyen. A fenti eszközök élettartamát meghatározza a bennük alkalmazott polimerfilmek stabilitása. Az esetleges degradációs folyamatok vizsgálata céljából PEDOT filmeket választottunk le elektrokémiai módszerrel aranyra illetve platinára, majd elektrokémiai és analitikai módszerekkel tanulmányoztuk a keletkezett filmek elektrokémiai és mechanikai tulajdonságait az oxidációs állapot függvényében. Ismeretes, hogy elegendően pozitív potenciálokon (a telített kalomel-elektródhoz képest kb. 0,80 V felett) a polimer "túloxidálódik". Ez egyebek között abból látható, hogy az aranyra galvanosztatikus módszerrel leválasztott polimerfilm esetében a 0,5 mol/dm-3 koncentrációjú kénsavoldatban felvett ciklikus voltammogramokon egy anódos áramcsúcs jelenik meg, melyhez nem tartozik hozzá redukciós csúcspár (2.a ábra, 2. és 3. görbe). Az anódos csúcsáram nagysága a ciklizálás során folyamatosan csökken. Mindez a polimerben végbemenő irreverzibilis változásra utal. Az ábra kinagyított részén (2.b ábra) az is jól látható, hogy a telített kalomelelektródhoz (SCE) képest +1,5 V-ig kiterjesztett potenciáltartományban történő oxidáció után a -0,2 V és 0,8 V határok között felvett voltammogramok (2.b ábra, 3. és 4. görbe ) jellege a túloxidáció előtt felvett görbéhez (2.b ábra, 1. görbe) képest csak kissé változik, de a film kapacitása csökken. A ciklikus voltammetriával kombinált

bending beam mérések eredményei a 3. ábrán láthatóak. A -0,4 V vs. SCE és +0,8 V vs. SCE között felvett ciklikus voltammogram (3.a ábra 1. görbe) alakja alig változott, miután a ciklikus voltammogramok potenciáltartományának pozitív határát 3 ciklus erejéig 1,2 V-ig kiterjesztettük (ld. a 3.a ábra 2-4. illetve 5-6. számú görbéit).



2. Ábra. Aranyra leválasztott PEDOT filmet tartalmazó mintán 0,5 mol/ dm³ koncentrációjú kénsavoldatban felvett ciklikus voltammogramok túloxidáció előtt (1. görbe), közben (2. és 3. görbe) és után (4. görbe). A b ábrán az a ábra kinagyított részlete látható. A polarizáció sebessége 50 mVs<sup>-1</sup>.

A 3.b ábrán látható deflexiós görbék esetében a változás kifejezettebbnek tűnik, de a görbék jellege hasonló marad (1. és 5-6. számú görbék). Az eddigiektől eltérően drámai változások figyelhetőek meg akkor, ha a potenciálprogram pozitív határát 1,5 V-ig kiterjesztjük. Egyrészt a kiterjesztett tartományban felvett ciklikus voltammogramokon (4.a ábra, 1-2. görbe) megjelennek a tiszta arany hordozóra jellemző csúcsok, másrészt a deflexiós görbék a tiszta arany hordozón felvett görbékhez kezdenek hasonlítani (4.b ábra, 1-2. görbe).

Megfigyelhető, hogy a polimer "túloxidációját" követően a szűkebb (telített kalomelelektródhoz képest 0,8 V-ig terjedő) potenciáltartományban felvett ciklikus voltammogramok és deflexiós görbék jelentősen eltérnek a túloxidációt megelőzően felvett görbéktől. E megállapítás nyilvánvalóan mind a görbék alakjára vonatkozóan, mind a változásokat jellemző mennyiségek tekintetében érvényes.



3. Ábra. Aranyra leválasztott PEDOT filmet tartalmazó mintán 0,1 mol/ dm<sup>3</sup> koncentrációjú kénsavoldatban felvett voltammogramok (a), illetve a minta deformációja az elektródpotenciál függvényében (b) 1: túloxidáció előtt 2-4: túloxidácó során (1,2 V-ig) 4: túloxidáció után A polarizáció sebessége 50 mVs<sup>-1</sup>.

Az oxidációs folyamat során megfigyelt elektrokémiaimechanikai jelenségek a minták szerkezetében bekövetkező változásokkal függenek össze. A pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) felvételek erre közvetlen bizonyítékot szolgáltattak. Az arany fóliára frissen leválasztott PEDOT filmről készült elektronmikroszkópos felvételen látható, hogy a vékony, de összefüggő PEDOT film felületén "karfiolszerű" kitüremkedések helyezkednek el (5. ábra). Ez összhangban van a korábbi irodalmi tapasztalatokkal.

A 6. ábrán az 1,5 V-ig oxidált film elektronmikroszkópos felvételeit mutatjuk be. Jól látható, hogy az oxidáció következtében kb. 0,5-0,6 µm széles árkok, árokhálózatok jelennek meg a minta felszínén. Az EDX analízis tiszta arany jelenlétét mutatta ki a pórusok alján.

Az elvégzett vizsgálatok eredményeit összegezve megállapíthatjuk, hogy a túloxidáció során a PEDOT film degradálódik, szerkezete megváltozik, és az eredetileg jól tapadó, összefüggő réteg részben leválik a hordozóról. A hordozón maradó rész azonban – némileg meglepő módon – továbbra is elektroaktív marad.



**4. Ábra.** Aranyra leválasztott PEDOT filmet tartalmazó mintán 0.1 mol/ dm<sup>3</sup> koncentrációjú kénsavoldatban felvett voltammogramok (a), illetve a minta deformációja az elektródpotenciál függvényében (b) 1-2: további oxidáció 1,5 V-ig, 3-4: oxidáció után. A polarizáció sebessége 50 mVs<sup>-1</sup>.



**5.** Ábra. a) Aranyra leválasztott PEDOT film SEM felvétele. b) A hozzá tartozó elektronvisszaszórási kép.

#### 2.3. Mérőrendszer a kettős voltammetriás mérési módszer újszerű alkalmazásához

A tradicionális potenciosztatikus (potenciodinamikus) kísérletek során általában háromelektródos elektrolizáló cellát használnak, és a munkaelektród és a referenciaelektród közötti feszültséget potenciosztát segítségével szabályozzák. A mérések során általában kétféle elektromos mennyiséget szokás közvetlenül mérni, nevezetesen a "tényleges" feszültséget munka és a referenciaelektród között, illetve a munkaelektród és a segédelektród között folyó áram



6. Ábra. a)-c): Az oxidáció után készült SEM felvételek; b)-d): a megfelelő elektronvisszaszórási képek.

nagyságát. Kettős potenciosztát alkalmazásával lehetőség nyílik két munkaelektród (így összesen négy elektród) alkalmazására ugyanabban a cellában. Az ilyen kísérletek végrehajtásához alkalmas egyik eszköz a forgó gyűrűs korongelektród melyre angol elnevezése alapján (Rotating Ring-Disk Electrode) az RRDE rövidítést szokás használni. Az RRDE egy fémhengerből, és egy azzal azonos tengelyű, hengerpalást alakúra hajlított fémlemezből áll, a két fémet egymástól szigetelő réteg választja el. Az oldattal csak a henger és a fémlemez vége: a henger korong, illetve a lemez gyűrű alakú sík felülete érintkezik (7. ábra). E két fém az elektrolit-oldattal érintkezve képezi a mérés során alkalmazott két munkaelektródot. Az elektródtestet az oldatban egy motor adott fordulatszámmal forgatja, fordulatszám-szabályozó eszköz szintén analóg а feszültségjellel vezérelhető, és róla a beállított tényleges fordulatszám hasonló analóg feszültségjel formájában mérhető vissza.



7. Ábra. Balra: a cella és a kettős potenciosztát kapcsolása. Jobbra: az elektródtest vázlata.

Mivel a korong és a gyűrű potenciálja egymástól függetlenül vezérelhető az RRDE ideális eszköze az elektródfolyamatok instabil köztitermékei detektálásának. Ha ugyanis a korongon egy ilyen termék keletkezik, az a forgásból adódó erőnek köszönhetően kisodródik a gyűrűre, ahol, ha a gyűrű potenciálja megfelelő, elektrokémiai reakcióban vehet részt, és így a gyűrűn átfolyó áram mérhető megváltozását okozza. A kísérleteket a következő módokon szokták végrehajtani.<sup>16</sup>

- A korong potenciálját folyamatosan változtatják, míg a gyűrű potenciálját állandó értéken tartják.
- Állandó gyűrűpotenciál mellett állandó korongpotenciált állítanak be.
- A korong potenciálját tartják egy állandó értéken, ahol a vizsgálni kívánt reakció zajlik, és eközben vesznek fel áramerősség-potenciál görbéket a gyűrűről.
- A megfigyelés tárgyát ugyanígy képezhetik az árnyékolási hatások is. Ekkor a gyűrűáram megváltozását mérik, miközben a korong potenciálját egy indifferens értékről hirtelen olyan értékre viszik, ahol az oldatban lévő egyik szpéciesz ott adszorbeálódni tud, vagy elektrokémiai reakcióban átalakul. Ez természetesen megváltoztatja a gyűrűáramot abban az esetben, ha ott éppen a vizsgált szpéciesz elektrolízise folyik.

A fentiek értelmében a szokásos mérési technikák használata során az egyik elektród potenciálját mindenképpen állandó értéken tartják. Az ilyen típusú mérések végrehajtására a kereskedelemben kapható valamennyi kettős potenciosztát alkalmas. Az általunk kezdeményezett fejlesztés célja viszont éppen az volt, hogy lehetőséget teremtsünk arra, hogy a két elektród potenciálját egyidejűleg és egymástól teljesen függetlenül, dinamikusan változtathassuk, azaz a mérőrendszer képes legyen pl. úgynevezett kettős ciklikus voltammetriás mérések elvégzésére.

### 2.4. A kettős voltammetriás mérőrendszer felépítése<sup>17,18</sup>

A mérőrendszer sematikus felépítését a 8. ábrán láthatjuk.



8. Ábra. A mérőrendszer felépítése.

Az általunk fejlesztett provizórikus mérőrendszer különlegessége, hogy egy szintén saját készítésű illesztőegység segítségével többféle primer műszert (potenciosztátot) és segédműszert is magába foglalhat. Így egy egységes környezetben végezhetünk méréseket többek között olyan eszközökön is, mint az AFKEL 413/1 Double Potentiostat (1980-as magyar gyártmány) vagy legmodernebb műszerünk, a Zahner Messsysteme XPot modellje (2010-es német gyártmány). A mérés és vezérlés a National Instruments által gyártott PCI–6014 és PCI– 4461 típusú, számítógépbe illeszthető adatgyűjtő kártyák segítségével történik. A mérőrendszer kiegészíthető speciális hardveres elemekkel is: úgy, mint elektród-forgató egység az RRDE mérésekhez, frekvenciaszámláló, pozíció-érzékeny fotodetektor, stb. A mérőrendszer irányítását NI Labview környezetben írt, saját fejlesztésű vezérlő-és adatfeldolgozó szoftver végzi.

### 2.5. A kettős voltammetriás mérőrendszer alkalmazásával elért új eredmények<sup>19,20</sup>

#### 2.5.1. Arany ciklikus voltammetriás kísérletek során bekövetkező oldódásának vizsgálata<sup>19</sup>

Az új forgógyűrűs korongelektród rendszert a már jól ismert Au $|H_2SO_4(aq.)$  rendszeren teszteltük: Mind a korongon mind a gyűrűn ciklikus voltammogramokat vettünk fel, azonban a gerjesztő háromszögjelek fázisa különbözött (a potenciálhatárok és a polarizáció sebessége megegyezett) (9. ábra).

A kísérletek során megfigyeltük, hogy megfelelő fáziseltolás esetén a gyűrű voltammogramján kis redukciós csúcs (*P*) jelenik meg éppen akkor, amikor a korongon az aranyoxid redukciós csúcsának megfelelő potenciál mérhető (10. ábra). Ez a jelenség akkor volt látható, mikor a gyűrű potenciálja az arany-oxid redukciós csúcsához tartozó potenciálnál negatívabb volt (pl.  $\varphi = 270^{\circ}$  vagy 90° fázisszög esetén).



 Ábra. Fázisukban különböző, de egyébként azonos paraméterekkel jellemezhető háromszögjelek vezérlik a két elektród potenciálját (phaseshifted dual cyclic voltammetry: PSDCV).



**10.** Ábra. Az Au|H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(aq.) rendszerben mért ciklikus voltammogramok Fent a korongon, lent a gyűrűn mért görbék láthatóak.

Az eredmények alapján arra következtethetünk, hogy az oxidált aranyfelület redukciója során olyan részecskék keletkeznek, melyek a gyűrűn redukálhatók. A pozitív potenciálhatár változtatása (állandó potenciál amplitúdó és polarizációsebesség esetén) a csúcsmaximum enyhe eltolódását okozhatja, de a csúcs alatti terület nagyságát nem befolyásolja. A számított töltés  $(Q_R) E_{max}$  növelésével növekszik, erős korrelációban a korong oxidredukciós csúcsának méretével. Ebből arra következtethetünk, hogy a redukálható intermedier elsősorban az ún. két-dimenziós oxidréteg redukciójakor keletkezik. Az elektrolitoldat TXRF és ICP-MS vizsgálata során oldott arany jelenléte volt kimutatható. Au(III) keletkezését feltételezve az oldatban mért arany mennyisége a töltésből számolt mennyiség 85-90%-a, tehát egyéb, redukálható, oxigént is tartalmazó részecskék keletkezése sem zárható ki a folyamat során.

#### 2.5.2. Oxigénredukció vizsgálata aranyon<sup>20</sup>

Az oxigénredukció kinetikáját levegővel telített kénsavval érintkező aranyfelületen vizsgáltuk. A korongelektród potenciálját a kettősréteg tartományból, 600 mV-ról, igen kis sebességgel (v = 0,25 mV/s) változtattuk negatív irányban. A kettősréteg tartományt elhagyva a voltammogramokon először az oldott oxigén redukciójából származó áramot mérjük, majd negatívabb potenciálokon a hidrogén fejlődése is megkezdődik. Miközben a korongelektródot a fenti program szerint polarizáljuk és az elektródtestet 1000/perc fordulatszámmal forgatjuk, a gyűrűn ciklikus voltammogramokat veszünk fel viszonylag széles skálán, 1450 mV és –550 mV között, az elektródpotenciált aránylag nagy sebességgel (100 mV/s) változtatva. A gyűrűn mért CV-k alakja ekkor erősen függ a korong potenciáljától.

A 11. ábrán a korongon felvett polarizációs görbét a gyűrűn mért ciklikus voltammogramokkal együtt közöljük: az ábrán betűk (a, b és c) jelölik, hogy az egyes gyűrűn mért ciklikus voltammogramok a korong polarizációs görbéinek mely szakaszaihoz tartoznak. Az a jelű ciklikus voltammogramot akkor mérhetjük a gyűrűn, ha a korong éppen a kettősréteg-tartományban van ( $E_{disk} > 70 \text{ mV vs. SSCE}$ ). Amint a korongon megkezdődik az oxigén redukciója, a gyűrűn mért görbék alakja megváltozik:



11. Ábra. A korongelektród lassú katódos polarizáció során rögzített áramfeszültség görbéje, és az eközben a gyűrűn felvett, a korong potenciáljának függvényében változó alakú ciklikus voltammogramok.

i) Az  $O_2$  redukció tartományában a katódos áram egyre csökken (vö. *b* és *c* jelű ciklikus voltammogramok). Ez egy ún. árnyékolási effektus: ha a korongon az oxigén

redukciója vagy hidrogénleválás zajlik, akkor a gyűrűn, negatívabb potenciálok esetén kisebb negatív áram jelenik meg, mint pozitívabb korongpotenciálokon. Ezt azzal magyarázhatjuk, hogy a gyűrűvel érintkező oldat ekkor oxigénben elszegényedik, így az annak redukciójakor a gyűrűn mérhető katódos áram kisebb intenzitású.

ii) A gyűrűn pozitív potenciálokon mérhető áram, ami a korongon keletkezett  $H_2O_2$  oxidációjához rendelhető – ezt külön kísérletben, hidrogén-peroxid hozzáadással is ellenőriztük –, eleinte nő (70 mV >  $E_{disk}$  > -310 mV, *b* jelű görbe), majd a folyamat négyelektronossá válásával (az oxigén vízzé történő redukciójával) csökken (-310 mV >  $E_{disk}$  > -600 mV, *c* jelű görbe).

A mérési eredményeket háromdimenziós ábrán szemléltettük (12. ábra). A mért gyűrűáramokból a referencia CV megfelelő áramértékeit levonva a gyűrűáram változására ( $\Delta I_{gyűrű}$ ) jellemző felületet kaptunk a korong és a gyűrűpotenciál függvényében. Az így készült ábrázolás tulajdonképpen az elektródfolyamatokban képződő elektroaktív termékek háromdimenziós térképének tekinthető.



**12.** Ábra. A gyűrű anódos pásztái során mért áramértékek és a referenciavoltammogram megfelelő értékeinek eltérése a korong és a gyűrűpotenciálok függvényében ábrázolva.

Eredményeink összhangban vannak azzal a megfigyeléssel, mely szerint az oxigén redukciója aranyon, savas közegben, nem túlságosan negatív potenciálokon kételektronos folyamat, viszont elegendően negatív potenciálokon négyelektronossá válhat. Utóbbi esetben természetesen nem számíthatunk hidrogén-peroxid képződésére.

#### 3. Perklorátionok redukciójának vizsgálata<sup>21-30</sup>

A perklorátionok különböző fémek jelenlétében bekövetkező redukciójának vizsgálata két szempontból is érdeklődésre tart számot:

 Elektrokémiai vizsgálatok során a perklórsavat és sóit gyakran használják ún. inert elektrolitként. Nem szabad ugyanakkor megfeledkezni arról, hogy a perklorátionok csak kinetikailag stabilak, termodinamikailag nem azok. Redukciójuk során – több lépésben – kloridionok keletkezhetnek, melyek erősen adszorbeálódnak az elektródok felületén, és már kis mennyiségben is jelentősen módosíthatják azok viselkedését. Mivel a perklorátionok redukciója kísérője lehet a fémoldódási folyamatoknak, jelentkezhet elektroszorpciós kísérleteknél, és általában az elektródfolyamatok tanulmányozása során, nagyon fontos kérdés, hogy az elektrokémiában gyakran használt fémek jelenlétében ez a reakció milyen mértékben, és milyen sebességgel játszódik le.

· Ismeretes, hogy a talajvíz és a felszíni vizek perklorátszennyezése sok országban okoz környezetvédelmi problémákat. A perklorátionok a vizekbe ammónium-, ólom-, magnézium- vagy kálium sók oldódása során kerülnek. Minthogy a perklorát lebomlása, kémiai redukciója természetes körülmények között nem jelentős mértékű, a perklorátok rendkívül mobilisak vizes közegekben, és tipikus talaj- és felszíni vízi körülmények között évtizedekig megmaradnak. A szennyezés egyik fő forrása az ammónium-perklorát, ami szilárd hajtóanyagú rakétákban, lövedékekben, áramforrásokban és tűzijátékokban előszeretettel alkalmazott oxidálószer. A legsúlyosabb egészségügyi kockázat azzal a ténnyel kapcsolatos, hogy a perklorát gátolja a jódfelvételt a pajzsmirigyben. Az e téren általunk elért eredmények tehát környezetvédelmi szempontból is fontosak lehetnek, hiszen az ivóvíz tisztításának egyik bár nem olcsó – módja lehet az elektrokémiai úton történő kezelés.

Elektrokémiai vizsgálatainkkal párhuzamosan egyszerű analitikai vizsgálatokat is végrehajtottunk. Ismert mennyiségű fémpor illetve kisebb fémdarabok perklorátos közegben történő feloldását követően argentometriás (potenciometriás végpontjelzéssel) módszerrel meghatároztuk a keletkezett kloridionok mennyiségét. Eredményeink alapján nem férhet hozzá kétség, hogy perklorátionokat tartalmazó oldatokba merülő nikkel22, réz<sup>22</sup>, alumínium<sup>25</sup>, cink<sup>25</sup> és vas<sup>24</sup> esetén számolni kell perklorátion redukciójával. Tapasztalataink szerint a körülmények (koncentráció, pH, felület, geometria, a hidrodinamikai viszonyok) kis megváltozása is jelentősen befolyásolhatja a kísérlet kimenetelét. Alumínium és réz esetén a hőmérséklet növelésével nőtt a redukció sebessége A réz perklórsavban történő spontán oldódása csak az oldott oxigénnel vagy a perklorátionokkal lejátszódó reakcióknak volt tulajdonítható. A kloridionok képződése azonban arra utalt, hogy a perklorátionok redukciója is végbement. Alumínium és vas esetén a perklorát-koncentráció növelésével (töményebb oldatokban) a perklorátionok redukciója vált kedvezményezettebbé.

A szakirodalom szerint a perklorátok elektrokémiai redukciója a már említett fémek mellett ródiumon<sup>31-36</sup>, platinán<sup>37-40</sup>, wolfram-karbidon<sup>41</sup>, titánon<sup>42</sup>, irídiumon<sup>43</sup>, ruténiumon<sup>44</sup>, réniumon<sup>45</sup>, technéciumon<sup>46</sup> és ónon<sup>47</sup> is végbemegy. A redukciós folyamatok jobb megértése, illetve a reakciómechanizmusok felderítése céljából az elmúlt években nagyszámú vizsgálatot végeztünk fém/perklorát rendszerekben, kiemelt figyelmet fordítva a ródiumon és a ruténiumon lejátszódó perklorát-redukció tanulmányozására. E vizsgálatokhoz rendszerint arany hordozóra leválasztott fémrétegeket, illetve tömbfázisú fémeket használtunk. Az elektródok forgatása közben és álló helyzetében is végeztünk méréseket.

A 13. ábrán kénsavba illetve perklórsavba merülő ródiumon felvett ciklikus voltammogramok láthatóak. Megfigyelhető, hogy míg a kénsavoldatban felvett görbe gyakorlatilag szimmetrikus, perklórsavoldatban a pozitív irányú pászta során is mérhető negatív áram (a 13. ábrán a negatív



**13. Ábra.** Arany hordozóra leválasztott ródiumon 5 mV/s polarizációsebességgel felvett ciklikus voltammogramok ("első" ciklusok).

áramcsúcs kb. E = -0,05 V-nál látható). Többszöri ciklizálás után a pozitív irányú pásztához tartozó görbén lévő negatív csúcs általában eltűnik, de a voltammogram aszimmetriája megmarad. A redukció terméke kloridion, amely erős adszorpciója révén gátolja a perklorátionok redukcióját. Ha az elektródot forgatjuk, az elektródpotenciál pozitív irányú változtatásakor folyó negatív áram több potenciálciklus után is megfigyelhető a voltammogramokon (14. ábra).



14. Ábra. Ródiumon, forgó korongelektród elrendezésben felvett ciklikus voltammogramok (HClO<sub>4</sub> koncentráció: 3 mol dm<sup>-3</sup>, hőmérséklet T = 25,0 °C).

Ez azt jelenti, hogy a redukció során keletkezett kloridionok deszorpciójának sebessége a "töltésátlépés-deszorpció -diffúzió csatolás" miatt erősen függ a hidrodinamikai körülményektől. Ezt támasztják alá a különböző hőmérsékleteken végzett kronoamperometriás mérések eredményei is (15. ábra). A stacionárius (redukciós) áram a hőmérséklettől, a fordulatszámtól és a beállított potenciáltól függ. Ruténium esetében analóg viselkedés figyelhető meg.

Megjegyzendő, hogy a rendszerben felvett impedanciaspektrumok jellege is diffúzióval csatolt töltésátlépésre utal<sup>23</sup>.



**15.** Ábra. Az áram fordulatszámtól való függése Rh|1 mol/dm<sup>3</sup> HClO<sub>4</sub> elektród esetén balra 25, jobbra 45 °C -on (E = -0.01 V)

#### Köszönetnyilvánítás

A fenti közleményben összefoglalt eredményeket az Országos Tudományos Kutatási Alap (OTKA 045888, OTKA-67994/OMFB-01078/2007, OTKA-PD75445), a National Instruments, az MKB Bank, az Alexander von Humboldt Alapítvány, a JSPS és az Európai Unió (TAMOP 4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0003) támogatásával értük el. A bemutatott eredményekkel kapcsolatban ez úton mondunk köszönetet Dr. Varga Imrének, Dr. Óvári Mihálynak és Dr. Záray Gyulának a TXRF, ICP-MS vizsgálatokért, Dr. Eke Zsuzsannának a GC és HPLC analízis elvégzéséért, Dr. Havancsák Károlynak és Varga Gábornak a SEM mérésekért.

#### Hivatkozások

- Lang, G. G.; Seo, M. Journal of Electroanalytical Chemistry 2000, 490, 98-101.
- Lang, G. G.; Ueno, K.; Ujvari, M.; Seo, M. Journal of Physical Chemistry B 2000, 104, 2785-2789.
- Lang, G. G.; Rokob, T. A.; Horanyi, G. Ultramicroscopy 2005, 104, 330-332.
- Rokob, T. A.; Lang, G. G. Electrochimica Acta 2005, 51, 93-97.
- Lang, G. G.; Sas, N. S.; Vesztergom, S. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly 2009, 23, 1-9.
- 6. Lang, G. G. Journal of Applied Physics 2010, 107.
- Láng, G. G.; Barbero, A. C. Laser Techniques for the Study of Electrode Processes; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 2012.
- Láng, G. In *Electrochemical Dictionary*; Bard, A. J., Inzelt, G., Scholz, F., Eds.; Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, 2008, p 658.
- Láng, G. In *Electrochemical Dictionary*; Bard, A. J., Inzelt, G., Scholz, F., Eds.; Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, 2008, p 43-44.
- Lang, G.; Rokob, T. A.; Ujvari, M.; Horanyi, G. In Passivation of Metals and Semiconductors, and Properties of Thin Oxide Layers: A Selection of Papers from the 9th International Symposium, Paris, France, 27 June-1 July 2005; Marcus, P., Maurice, V., Eds.; Elsevier: Amsterdam, 2006, p 101-106.
- 11. Lang, G. G.; Seo, M.; Heusler, K. E. Journal of Solid State Electrochemistry 2005, 9, 347-353.

- 12. Lang, G. G.; Ujvari, M.; Inzelt, G. Journal of Electroanalytical Chemistry 2004, 572, 283-297.
- 13. Stoney, G. G. Proc. Roy. Soc. London A 1909, 82, 172-175.
- Ujvari, M.; Takacs, M.; Vesztergom, S.; Bazso, F.; Ujhelyi, F.; Lang, G. G. Journal of Solid State Electrochemistry 2011, 15, 2341-2349
- Láng, G. G.; Ujvári, M.; Bazsó, F.; Vesztergom, S.; Ujhelyi, F. Electrochimica Acta 2012, 73, 59-69.
- Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*; 2nd ed.; Wiley: Chichester, 2001.
- 17. Vesztergom, S. National Instruments pályamunka: *Laboratórium és LabVIEW*, ELTE, Kémiai intézet, 2009.
- Vesztergom, S. szakdolgozat: Komplex mérőrendszer építése, automatizálása és alkalmazása speciális és rutinszerű elektrokémiai mérésekhez., ELTE, Kémiai Intézet, 2010.
- 19. Vesztergom, S.; Ujvari, M.; Lang, G. G. *Electrochemistry* Communications 2011, 13, 378-381.
- Vesztergom, S.; Ujvári, M.; Láng, G. G. Electrochemistry Communications 2012, 19, 1-4.
- 21. Lang, G. G.; Vrabecz, A.; Horanyi, G. *Electrochemistry Communications* **2003**, *5*, 609-612.
- 22. Ujvari, M.; Lang, G.; Horanyi, G. Journal of Applied Electrochemistry 2001, 31, 1171-1173.
- 23. Lang, G. G.; Sas, N. S.; Ujvari, M.; Horanyi, G. *Electrochimica Acta* **2008**, *53*, 7436-7444.
- 24. Ujvari, M.; Lang, G.; Horanyi, G. Journal of Applied Electrochemistry **2002**, *32*, 1403-1406.
- 25. Ujvari, M.; Lang, G.; Horanyi, G. Journal of Applied Electrochemistry **2002**, *32*, 581-582.
- Lang, G.; Ujvari, M.; Horanyi, G. Corrosion Science 2003, 45, 1-5.
- 27. Lang, G. G.; Horanyi, G. Journal of Electroanalytical Chemistry 2003, 552, 197-211.
- Lang, G.; Inzelt, G.; Vrabecz, A.; Horanyi, G. Journal of Electroanalytical Chemistry 2005, 582, 249-257.

## Development of novel electrochemical measurement systems and experimental methods, investigation of electrode processes

The present communication deals with the development and testing of novel electrochemical measuring systems, the introduction of new experimental methods (including an improved version of the electrochemical bending beam method and dual cyclic voltammetry), and with the study of electrode processes, with special attention to the electrochemical degradation of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) films on metals; the electrochemical reduction of oxygen on gold; and the electrochemical reduction of perchlorate ions.

The bending beam method can be effectively used in electrochemical experiments, since the changes of the surface stress (g) for a thin metal film on one side of an insulator (e.g. glass) strip (or a metal plate, one side of which is coated with an insulator layer) in contact with an electrolyte solution can be estimated from the changes of the radius of curvature of the strip. If the electrode potential changes, electrochemical processes resulting in the change of the surface stress can take place exclusively on the metal side of the sample. The change in g induces a bending moment and the strip bends. The bending beam method has been used for instance for the investigation of the origin of electrochemical oscillations in the course of galvanostatic oxidation of organic compounds on platinum, for the study of volume changes in polymers during redox processes, and for the experimental verification of the adequacy of the "brush model" of polymer modified electrodes, etc. Adsorbed reaction intermediates or products can also induce

- Lang, G.; Ujvari, M. In *Perchlorates: Production, Uses and Health Effects*; Matthews, L. E., Ed.; Nova Science Publishers Inc.: New York, **2011**, p 1-50.
- 30. Ujvari, M.; Lang, G. *Journal of Electroanalytical Science and Engineering* **2011**, *1*, 1-26.
- 31. Vasina, S. Y.; Petrii, O. A. Elektrokhimiya 1970, 6, 242.
- Horanyi, G.; Rizmayer, E. M. Journal of Electroanalytical Chemistry 1986, 198, 379-391.
- Rhee, C. K.; Wasberg, M.; Horanyi, G.; Wieckowski, A. Journal of Electroanalytical Chemistry 1990, 291, 281-287.
- Rhee, C. K.; Wasberg, M.; Zelenay, P.; Wieckowski, A. Catalysis Letters 1991, 10, 149-164.
- Clavilier, J.; Wasberg, M.; Petit, M.; Klein, L. H. Journal of Electroanalytical Chemistry 1994, 374, 123-131.
- 36. Horvat-Radosevic, V.; Kvastek, K. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2004**, *566*, 451-465.
- Bakos, I.; Horanyi, G. Journal of Electroanalytical Chemistry 1992, 332, 147-154.
- Horanyi, G.; Bakos, I. Journal of Electroanalytical Chemistry 1992, 331, 727-737.
- Horanyi, G.; Bakos, I. Reaction Kinetics and Catalysis Letters 1992, 46, 139-144.
- 40. Horanyi, G.; Vertes, G. Journal of Electroanalytical Chemistry 1975, 64, 252-254.
- Horányi, G.; Vértes, G. Inorg. Nucl. Chem. Lett. 1974, 10, 767.
- 42. Brown, G. M. Journal of Electroanalytical Chemistry 1986, 198, 319-330.
- Sanches Cruz, N.; Gonzalez Tejera, M. J.; Villamanan, M. C. Electrochimica Acta 1985, 30, 1563.
- Colom, F.; Gonzaleztejera, M. J. Journal of Electroanalytical Chemistry 1985, 190, 243-255.
- Bakos, I.; Horanyi, G.; Szabo, S.; Rizmayer, E. M. Journal of Electroanalytical Chemistry 1993, 359, 241-252.
- Horanyi, G.; Bakos, I. Journal of Applied Electrochemistry 1993, 23, 547-552.
- 47. Almeida, C.; Giannetti, B. F.; Rabockai, T. Journal of Electroanalytical Chemistry **1997**, 422, 185-189.

surface stress changes. In addition, insertion (absorption) of reaction intermediates or product into the coating can result in the change in the film stress, consequently, the electromechanical identification of adsorbed/adsorbed species is also possible. This method has been successfully used e.g. for the examination of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) overoxidation. The results from these experiments have been used to demonstrate the capabilities of our new electrochemical bending beam measurement system. The electrochemical and mechanical properties of thin PEDOT films deposited on gold have been investigated in aqueous sulfuric acid. It has been shown that at sufficiently positive electrode potentials, irreversible overoxidation of the polymer takes place. In some cases, only small changes could be observed in the shape of cyclic voltammograms taken in the "stability region" before and after overoxidation. If we extended the overoxidation limit up to 1.5 V (vs. SCE) the peak related to bare gold reduction appeared. By using the electrochemical bending beam method stress changes in the polymer layer caused by overoxidation (degradation) could be detected. The voltstressograms changed dramatically and became similar to bare gold's curve when we oxidized the PEDOT film up to 1.5 V. We got direct information about the structure from the scanning electron microscope (SEM) pictures. The freshly prepared polymer film has a cauliflower-like structure on its top. These globules are attached to an underlying smoother polymer layer. After overoxidation narrow trench-like structures can be identified in the SEM pictures. According to the

energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) analysis the partial delamination of the polymer layer has lead to exposure of the metal substrate to the electrolyte solution. Summarizing the results we can conclude that during overoxidation the structure of the film changes, and degradation products leave the polymer layer. The remnants of the polymer on the substrate remain electroactive and form a barrier between the metal substrate and the surrounding electrolyte solution.

It is well known that in conventional rotating ring-disk electrode (RRDE) experiments the potential of at least one of the two electrodes is held constant during the experiment. However, in principle, independent and dynamic potential programs can also be applied (simultaneously) to the disk and the ring electrodes, e.g. while one electrode conducts linear sweep voltammetry the potential of the other can be also altered in a controlled manner. In order to make such experiments possible in our laboratory, significant developments were required in the design of a computer controlled multi-channel electrochemical measurement system. The data acquisition and control system (which includes data acquisition cards, signal conditioning electronics, and a PC) can be combined with a variety of commercially available potentiostats and other laboratory devices, such as electrode rotating units, frequency counters, position sensitive detectors, etc. The software controlling the electrochemical workstation was developed in the NI LabVIEW environment. The capabilities of the system have been tested in a series of experiments. Two specific examples are discussed in the present paper: i) The electrochemical reduction of the surface layer of gold oxide in sulfuric acid solutions has been investigated. With the help of the new system by applying the "phase-shifted dual cyclic voltammetry" method it has been shown that during the reduction of the surface oxide layer at least one soluble, electroreducible gold species is escaping from the disk electrode. ii) The dual cyclic voltammetry technique and the electrochemical measuring system with rotating gold disk-gold ring electrodes have been applied for investigation of oxygen reduction dissolved in air-saturated aqueous sulfuric acid solutions. A novel 3D representation of the data can effectively be used to reveal the formation of electroactive species (intermediates or products) at the disk. By using a rotating gold ring-gold disk | 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> electrode setup, we could directly monitor the formation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as a function of the disk potential during the oxygen reduction process. Our results correspond to the observations according to that the reduction of the oxygen on gold in acid media is a 2 electron process at slightly negative potential sult can change to 4 electron mechanism at more negative potential values.

The problem of reduction of perchlorate ions in the presence of metals came into prominence for two fundamental reasons. The first reason is the critical revision of the general belief in electrochemistry and liquid phase catalysis that perchlorate ions are stable and resistant to reductive attacks, therefore, perchloric acid and solutions of perchlorate salts can be used as supporting electrolytes in a wide potential range. The second reason is originating from environmental protection issues. Perchlorate ion originates as a contaminant in ground water and surface waters from the dissolution of ammonium, potassium or magnesium salts which are used as oxidizer component in solid propellants. Our experiments have proved that the reduction or electroreduction of perchlorates takes place on nickel, copper, aluminium, zinc, iron, rhodium and ruthenium. The rate of the reduction depends on the pH, the potential and the rotation rate. The product of the reduction is chloride which strong adsorption hinders the reduction of the perchlorate. The desorption rate of the chloride ions depends on the hydrodynamic conditions. Therefore the role of the reduction product and process can not be neglected in most kinetic and mechanistic studies on metals in perchlorate containing media.

### Reakciósebességi paraméterek meghatározása közvetlen és közvetett mérések együttes felhasználásával

TURÁNYI Tamás,<sup>a,\*</sup> ZSÉLY István Gyula,<sup>a</sup> NAGY Tibor,<sup>a,b</sup> VARGA Tamás<sup>a</sup> és PÁLVÖLGYI Róbert<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Eötvös Loránd Tudományegyetem (ELTE), Kémiai Intézet, Reakciókinetikai Laboratórium, Pf. 32, 1518 Budapest, Magyarország

<sup>b</sup> present address: University of Basel, Department of Chemistry, Klingelbergstrasse 80, CH-4056 Basel, Switzerland

#### 1. Bevezetés

A reakciókinetikában a mérések egyik lehetséges felosztása a közvetlen (direkt) és közvetett (indirekt) mérések megkülönböztetése. A direkt méréseknél a reakciókörülményeket úgy választják meg, hogy a mért jelet lehetőleg egyetlen elemi reakció sebessége határozza meg, tehát ennek a reakciónak a sebességi paraméterei a mérési adatokból közvetlenül meghatározhatók. Az indirekt méréseknél a mérési eredmények több reakciólépés sebességi paramétereitől függenek. Ezeket az adatokat csak úgy lehet értelmezni, ha azokat összehasonlítják egy részletes reakciómechanizmuson alapuló, a kísérleti körülményeknek megfelelő szimuláció eredményével. A légkörkémiában ilyen közvetett mérések a szmogkamra-kísérletek, míg az égéskémiában ilyen típusú mérések a gázelegyek gyulladási idejének vagy lamináris lángsebességének meghatározása.

Az irodalomban található részletes reakciómechanizmusok nagyrészt direkt mérések eredményein alapulnak. A mechanizmus létrehozása során olyan elemi reakciókat keresnek, amelyek együttesen megfelelnek annak a követelménynek, hogy az ismert kiindulási anyagokból az ismert végtermékek keletkezzenek. Ezután megnézik, találhatók-e olyan közlemények, amelyek tartalmazzák ezen elemi reakciók sebességi paramétereinek meghatározását közvetlen mérésekkel. Ha egyes reakciólépésekre ilyen adatok nem találhatók, akkor vagy a mechanizmus összeállítója maga végez el közvetlen méréseket, vagy – gyakrabban – a hiányzó sebességi paramétereket analóg reakciók vagy elméleti számítások alapján becsüli. Számos gázfázisú elemi reakció sebességi együtthatójának hőmérséklet- és esetleg nyomásfüggését leíró sebességi paramétereket határozták már meg direkt módszerekkel. A meghatározott sebességi együttható bizonytalansága általában ±25% és hármas faktor között van.<sup>1</sup> A legfejlettebb, kvantumkémiai számításokon és átmenetiállapot-elméleten alapuló elméleti sebességi együttható meghatározások bizonytalansága szintén mintegy hármas faktornak felel meg,<sup>2,3</sup> tehát a legjobbnak tartott értékhez képest annak háromszorosa vagy egyharmada sem kizárható.

A közvetlen méréseken és az elméleti számításokon alapuló sebességi paraméterek viszonylag nagy bizonytalanságának az a következménye, hogy az ezeket a paramétereket felhasználó reakciómechanizmusokkal általában nem lehet reprodukálni a közvetett mérések eredményét. Az egyes összetett kémiai reakciókat leíró, általánosan használt reakciómechanizmusok emiatt általában úgy készülnek,

\* Tel.: +36-1-372-2500; fax: +36-1-372-2548 ; e-mail: turanyi@chem.elte.hu

hogy egyes sebességi együtthatókat önkényesen, a bizonytalansági tartományukon belül addig változtatnak, mígnem a kapott mechanizmussal reprodukálni lehet a közvetett mérések eredményét.

Ettől az általánosan használt módszertől eltérő megközelítést javasoltak Michael Frenklach és munkatársai a múlt század nyolcvanas éveiben.<sup>4-6</sup> Ezzel a megközelítéssel fejlesztettek ki egy új metán égési mechanizmust az USA Gázkutató Intézet (Gas Research Institute, GRI) támogatásával, ezért ez az eljárás "GRI mechanizmus-módszer" néven is ismeretes. A módszer továbbfejlesztéséről és elméleti vizsgálatáról Frenklach és munkatársai számos cikket írtak.<sup>7-12</sup> A módszert más irányba fejlesztette tovább Frenklach egyik tanítványa, Hai Wang. Munkatársaival egy sor cikket közölt, amelyekben a módszert alkalmazták további kémiai rendszerekre és metodikailag is továbbfejlesztették.<sup>13-18</sup>

A Frenklach és munkatársai, valamint Wang és munkatársai által kifejlesztett módszer első lépése, hogy egy kiindulási mechanizmust állítanak össze a direkt mérések alapján. Ezek után kiválasztanak néhány (nagyságrendileg 10-80) közvetett mérési adatot; ezeket optimalizációs célértéknek nevezik. Érzékenységanalízissel kiválasztanak néhány sebességi paramétert (néhány elemi reakció A preexponenciális tényezőjét illetve harmadiktest-ütközési hatékonysági együtthatóját), amelyek változtatása nagymértékben képes megváltoztatni az optimalizációs célok számított értékét. Az így kiválasztott paramétereket aktív paramétereknek nevezik. Az aktív paraméterekhez az irodalmi ismeretek alapján alsó és felső határértékeket rendelnek. A következő lépésben egy gradiens- vagy szimplex-módszer alkalmazásával az aktív paramétereket addig változtatják a határértékeiken belül, mígnem az optimalizált mechanizmus alapján jól lehet közelíteni a célértékeket.

A fenti módszernek több hiányossága van. Az optimalizált paraméterértékek gyakran egybeesnek az aktív paraméterek alsó vagy felső határával. Ez kémiailag azért nem reális, mert az előzetes irodalmi ismeretek alapján az aktív paraméterek kiindulási értékének van a legnagyobb valószínűsége és a szélsőséges értékek valószínűsége csaknem nulla. További hátrány, hogy csak néhány típusú sebességi paramétert (Afaktort és harmadiktest-ütközési hatékonysági együtthatót) optimalizálnak, emiatt a kapott paraméterkészleteknek nincs fizikai értelmük. Ez különösen akkor hátrányos, ha a reakciómechanizmust olyan körülmények között akarják alkalmazni, amelyekre nem történt optimalizáció. Az általunk kifejlesztett módszer bizonyos fokig hasonló a fent idézett cikkekben leírt módszerhez, de számos különbséget is mutat. Az optimalizálással megközelítendő eredmény nálunk nem néhány kiválasztott optimalizálási célérték, hanem nagyszámú közvetlen és közvetett kísérlet mérési adatsora. Az aktív paraméterek közé bevesszük az optimalizálásba bevont reakciólépések minden fontos sebességi paraméterét. Jelen közleményben egy átfogó leírást adunk a módszerről, amelynek részletesebb leírása a csoportunk által a közelmúltban közölt cikkekben olvasható.<sup>19-23</sup>

A módszert két kémiai rendszer egyes kritikus reakciólépései sebességi paramétereinek meghatározásán keresztül mutatjuk be. Ez a két rendszer a hidrogén gyulladási idejének számítása a második gyulladási határ közelében, valamint a ciklohexán és 1-hexén hőbomlási kinetikájának meghatározása.

#### 2. A módszer áttekintése

#### 2.1. A felhasználandó kísérleti adatok és az aktív paraméterek kiválasztása

A vizsgálandó kémiai rendszerhez az irodalmi előzmények alapján keresni kell megfelelő reakciómechanizmust (vagy magunknak kell ilyet kifejleszteni). Össze kell gyűjteni a rendszerhez tartozó valamennyi közvetett mérési adatot. Érzékenységanalízis felhasználásával azonosítani lehet, mely reakciók sebességi paramétereit lehet az adott mérési adatokból pontosabban meghatározni. Ezek a sebességi paraméterek lesznek az optimalizáció aktív paraméterei.

#### 2.2. A közvetlen mérési adatok kiválasztása

A reakciókinetikai, illetve azon belül a gázfázisú reakciókinetikai irodalomban nagyszámú olyan cikk található, amelyek egy elemi reakció kísérletileg meghatározott sebességi együtthatóját tartalmazzák több tucat, vagy akár több száz kísérleti körülménynél. A kísérletek során jellemzően változtatták a hőmérsékletet, a nyomást, a puffergáz anyagi minőségét és egyéb kísérleti körülményeket. Összegyűjtjük az összes olyan közvetlen kísérleti adatot, amely az aktív paraméterekhez tartozik.

#### 2.3. A sebességi paraméterek bizonytalansági tartományának meghatározása

A közvetlen kísérletek lehetővé teszik, hogy a vizsgált hőmérséklettartományban egy-egy adott hőmérsékleten kmin és kmax, minimális illetve maximális elfogadható sebességi együttható értékeket jelöljünk ki. Általában a kmin és kmax határokat úgy jelölik ki, hogy azok logaritmikus skálán szimmetrikusan helyezkedjenek el a  $k^0$  legvalószínűbbnek tartott értékhez képest. Ez megfelel annak, hogy a sebességi együtthatót valamilyen szorzófaktor szerint tekintjük bizonytalannak. A gázkinetikai adatgyűjteményekben a sebességi együttható bizonytalanságát az f hőmérsékletfüggő jellemzik, bizonytalansági paraméterrel amit а következőképpen definiálnak:

$$f(T) = \log_{10}(k^{\circ}(T)/k^{\min}(T)) = \log_{10}(k^{\max}(T)/k^{\circ}(T)) \quad (1)$$

Ha feltételezzük, hogy a határértékek a  $k^0$  legvalószínűbb

értékhez képest  $3\sigma$ -val térnek el, akkor az f bizonytalansági paraméterből egy adott hőmérsékleten  $\ln k$  szórása meghatározható:<sup>24</sup>

$$\sigma(\ln\{k\}) = \ln 10 \ \sigma(\log_{10}\{k\}) = \frac{\ln 10}{3} f(T)$$
(2)

A gázkinetikában a sebességi együttható hőmérsékletfüggését legáltalánosabb módon a k=A {T}<sup>n</sup> exp(-E/RT) kiterjesztett Arrhenius-egyenlettel írják le. Ezekben az egyenletekben a { } jelölés a bezárt fizikai mennyiség adott mértékegységek melletti számértékét adja meg. A  $\kappa(T) := \ln\{k(T)\}, \alpha := \ln\{A\}$ és  $\varepsilon := E/R$  transzformált paraméterek alkalmazásával megadható<sup>19</sup> az összefüggés ln k szórásnégyzete ( $\sigma_{\kappa}^{2}(T)$ ) és az  $\alpha$ , n, és  $\varepsilon$  transzformált Arrhenius-paraméterek kovariancia mátrixának elemei között, ahol az r értékek a megfelelő korrelációs együtthatók:

$$\frac{\sigma_{\kappa}^{2}(T) = \sigma_{a}^{2} + \sigma_{\epsilon}^{2}T^{-2} + \sigma_{n}^{2}\ln^{2}\{T\} - 2r_{a\kappa}\sigma_{a}\sigma_{\epsilon}T^{-1}}{-2r_{a\kappa}\sigma_{\kappa}\sigma_{\kappa}T^{-1}\ln\{T\} + 2r_{a\kappa}\sigma_{\alpha}\sigma_{\kappa}\ln\{T\}}$$
(3)

A kovariancia mátrix definíciójából következően paramétereire az alábbi egyenlőtlenségek teljesülnek:

$$0 \le \sigma_{\alpha}, \sigma_{n}, \sigma_{\varepsilon}, \quad -1 \le r_{\alpha n}, r_{\alpha \varepsilon}, r_{n \varepsilon} \le +1,$$
  
$$0 \le 1 - r_{\alpha n}^{2} - r_{\alpha \varepsilon}^{2} - r_{n \varepsilon}^{2} + 2r_{\alpha n}r_{\alpha \varepsilon}r_{n \varepsilon}. \quad (4)$$

A fenti egyenletek azt jelentik, hogy ha legalább hat hőmérsékleten ismertek a sebességi együttható  $k^{\min}$  és  $k^{\max}$ határai, akkor ezeken a hőmérsékleteken kiszámítható  $\kappa$  szórásnégyzete is, amiből paraméterillesztéssel meghatározható a kovariancia mátrix hat paramétere, a  $\sigma_{\alpha}, \sigma_{n}, \sigma_{\varepsilon}$  szórások és az  $r_{on}, r_{o\varepsilon}, r_{n\varepsilon}$  korrelációs együtthatók.

Ha az optimalizált Arrhenius-paraméterek a meghatározott bizonytalansági tartományon belül maradnak, akkor a vizsgált hőmérséklettartományban tetszőleges hőmérsékleten a számított sebességi együttható is a  $k^{\min}(T)$  és  $k^{\max}(T)$  határértékek között marad.

Hasonló módon, irodalmi adatok és elméleti meggondolások felhasználásával a többi illesztendő sebességi paraméterhez is meg kell adni azokat a határokat, amin belül kell maradniuk az optimalizált értékeknek ahhoz, hogy azokat fizikai értelemmel bíró paramétereknek tekinthessük.

### 2.4. Az aktív paraméterek optimális értékének és kovariancia mátrixának meghatározása

A  $\mathbf{p}=(p_1, p_2,...,p_n)$  aktív paramétereknek az az optimális értéke, ahol az alábbi célfüggvénynek minimuma van:

$$E(\mathbf{p}) = \sum_{i=1}^{N} \frac{w_i}{N_i} \sum_{j=1}^{N_i} \left( \frac{Y_{ij}^{\text{mod}}(\mathbf{p}) - Y_{ij}^{\text{exp}}}{\sigma(Y_{ij}^{\text{exp}})} \right)^2$$
(5)

ahol 
$$Y_{ij} = \begin{cases} y_{ij}^{exp} & \text{ha } \sigma \left( y_{ij}^{exp} \right) \text{közel állandó} \\ \ln y_{ij}^{exp} & \text{ha } \sigma \left( \ln y_{ij}^{exp} \right) \text{közel állandó} \end{cases}$$

Ebben az egyenletben N a közvetlen és közvetett adatsorok együttes száma,  $N_i$  az adatpontok száma az *i*-edik adatsorban, és  $y_{ij}^{exp}$  a *j*-edik kísérleti adatpont az *i*-edik adatsorban. Az ennek megfelelő, az aktuális **p** paramétervektor felhasználásával számított érték  $y_{ij}^{mod}(\mathbf{p})$ . Ez az érték lehet egy sebességi együttható, amit a megfelelő hőmérséklet-, nyomás- és összetételfüggést leíró kifejezések

alapján számítottunk. Ha az  $y_{ij}^{mod}(\mathbf{p})$  közvetett méréshez tartozik, akkor ezt az értéket egy megfelelő szimuláló program (például lamináris lángszimulációs program) segítségével lehet meghatározni. A célfüggvényben több súlyfaktor szerepel, így súlyozó tényezőként megjelenik az *i*-edik adatsorozatokban szereplő adatpontok  $N_i$  száma, a kísérleti adatponthoz tartozó  $\sigma(T_{ij}^{exp})$  szórás, és az *i*-edik adatsorozathoz tartozó szubjektív  $w_i$  súlyfaktor.

A célfüggvényt mátrix-vektor formalizmussal az alábbi módon lehet felírni:

$$E(\mathbf{p}) = (\mathbf{Y}_{\text{mod}}(\mathbf{p}) - \mathbf{Y}_{\text{exp}})^{\mathrm{T}} \mathbf{W} \boldsymbol{\Sigma}_{Y}^{-1} (\mathbf{Y}_{\text{mod}}(\mathbf{p}) - \mathbf{Y}_{\text{exp}})$$
(6)

Itt  $\mathbf{Y}_{mod}(\mathbf{p})$  és  $\mathbf{Y}_{exp}$  az  $Y_k^{mod}(\mathbf{p})$  illetve  $Y_k^{exp}$  értékekből képezett oszlopvektorok, a *k* az összes felhasznált mérési adatpontot egységesen jelölő index, a **W** és  $\Sigma_Y$  diagonális mátrixok főátlói pedig a  $\mu_k = w_k/N_k$  súlyok illetve a  $\sigma^2(Y_k^{exp})$  szórásnégyzetek.

Egy újonnan kifejlesztett globális paraméterbecslési módszer<sup>22</sup> felhasználásával minimalizáljuk a célfüggvény értékét és ezzel meghatározzuk az aktív paraméterek optimális értékét a bizonytalansági tartományukon belül.

Az optimalizált paraméterek kovariancia mátrixát a következőképpen lehet számítani:

$$\boldsymbol{\Sigma}_{p} = \left[ \left( \mathbf{J}_{o}^{\mathrm{T}} \mathbf{W} \boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{Y}}^{-1} \mathbf{J}_{o}^{-} \right)^{-1} \mathbf{J}_{o}^{\mathrm{T}} \mathbf{W} \boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{Y}}^{-1} \right] \left( \boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{Y}} + \boldsymbol{\Sigma}_{\Delta} \right) \left[ \left( \mathbf{J}_{o}^{\mathrm{T}} \mathbf{W} \boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{Y}}^{-1} \mathbf{J}_{o}^{-} \right)^{-1} \mathbf{J}_{o}^{\mathrm{T}} \mathbf{W} \boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{Y}}^{-1} \right]^{\mathrm{T}}$$

$$\tag{7}$$

Ebben az egyenletben J a Jacobi-mátrix, valamint  $\Sigma_{\Delta}$  a mért és a számított értékek szisztematikus eltérésének mátrixa, amit <u>a</u> következőképpen becslünk:  $\Sigma_{\Delta} \approx \Delta Y \Delta Y^{T}$ , ahol  $\Delta Y \approx \overline{Y}_{mod} - Y_{exp}$ .

Az Arrhenius-paraméterek hőmérsékletfüggetlen  $\Sigma_{p_i,p_j}$ kovariancia mátrixa alapján számítható a megfelelő sebességi együtthatók kovarianciája tetszőleges *T* hőmérsékleten:

$$\operatorname{cov}(\kappa_{i}(T),\kappa_{j}(T)) = \boldsymbol{\Theta}^{\mathsf{T}}\boldsymbol{\Sigma}_{\mathbf{p}_{i},\mathbf{p}_{j}}\boldsymbol{\Theta}$$
(8)

ahol  $\mathbf{p}_i := (\alpha_i, n_i, \mathcal{E}_i)^{\mathrm{T}}$  és  $\mathbf{\Theta} := (1, \ln \{T\}, -T^{-1})^{\mathrm{T}}$ . A fenti kovariancia mátrix főátlójának elemei a sebességi együtthatók szórásnégyzetei, amelyekből a (2) egyenlet alapján meghatározhatók az optimalizált sebességi együtthatókhoz tartozó, statisztikailag becsült, hőmérsékletfüggő f(T) bizonytalansági paraméterek.

#### 3. A hidrogén gyulladása

A hidrogén égése az egyik legfontosabb és legátfogóbban tanulmányozott égési folyamat.<sup>25</sup> A közelmúltban szinte évente jelent meg egy-egy új áttekintő cikk a hidrogén égési kinetikájáról<sup>26-30</sup> és minden ilyen cikk tartalmazott egy új, a korábbiaktól eltérő hidrogén égési mechanizmust. Ez mutatja, hogy a hidrogén égési kinetikájának pontos leírása napjainkban is élő kutatási téma. A legtöbb reakciókörülménynél a következő két reakció a legfontosabbak között van: RH1: H + O<sub>2</sub> = OH + O és RH2: H + O<sub>2</sub> + M = HO<sub>2</sub> + M (kisnyomású határérték).

Számításaink során az írországi Galway-ben, a National University of Ireland at Galway (NUIG) egyetemen

kifejlesztett Földgáz-égési Mechanizmus legújabb változatából (NUIG Natural Gas Mechanism III)31,32 indultunk ki, és annak a hidrogén égésére vonatkozó részmechanizmusát használtuk. Nagyszámú olvan lökéshullám-cső kísérletet szimuláltunk, amelyekben hidrogén-oxigén-hígítógáz elegyek gyulladási ideiét mérték. Érzékenységanalízis segítségével azonosítottunk 11 méréssorozatban összesen 79 olyan mért gyulladási időt, amelyek pontos kiszámításához szimulációk során csak a fenti RH1 és RH2 reakció sebességi együtthatójának értékére volt szükség. Természetesen pontos а szimulációkhoz a hidrogén égési mechanizmus többi reakciólépését is fel kellett használni, de azoknál a reakciólépéseknél a sebességi paraméterek megváltoztatása a bizonytalansági tartományukon belül nem változtatta meg jelentősen a számított gyulladási időket ezeknél a reakciókörülményeknél.

A következő lépésben olyan közvetlen mérések eredményét kerestük, ahol a fenti sebességi együtthatókat határozták meg. A rendelkezésre álló több száz cikk közül az RH1 reakcióhoz 9 közleményből 745 mért sebességi együttható értéket, míg az RH2 reakcióhoz 10 közleményből 258 mért sebességi együttható értéket választottunk ki. A felhasznált adatok hivatkozásait az eredeti közleményben<sup>22</sup> adtuk meg. A gyulladási időket és az RH2 reakciólépés sebességi együtthatóját meghatározó kísérleteknél is egyes méréseknél nitrogén, más méréseknél argon hígítógázt használtak. Az RH2 reakció kisnyomású határértékére kapott optimalizált Arrhenius-paraméterek a nitrogén hígítógázhoz tartoznak, és az argon hígítógáz hatását az argon nitrogénre vonatkozó relatív *m* harmadiktest-ütközési hatékonysági együtthatójával vettük figyelembe, amelynek pontos értékét szintén paraméterbecsléssel határoztuk meg.

optimalizációs számítások megkezdése Az előtt megállapítottuk az RH1 és RH2 reakció Arrheniusparamétereinek bizonytalansági tartományát a fentebb leírt módszerrel. Ehhez felhasználtuk a NIST Reakciókinetikai Adatbázisban,<sup>33</sup> valamint a Baulch és munkatársai legutóbbi égéskémiai adatgyűjteményében<sup>1</sup> megadott, ehhez a két reakcióhoz tartozó mért Arrhenius-paramétereket. Az RH1 reakció esetén az Arrhenius-paraméterek bizonytalansági tartománya a következő paraméterekkel adható meg:  $\sigma_a^{=}$ 4,622,  $\sigma_n$ =0,581,  $\sigma_{\varepsilon}$ =675,7,  $r_{an}$ = -0,999852,  $r_{a\varepsilon}$ = 0,98788,  $r_{n\varepsilon}$ = -0,99041. Hasonló eljárást alkalmaztunk az RH2: H +  $O_2$  + M = HO<sub>2</sub> + M reakció esetén. A reakció mért sebességi együtthatóját feldolgozó közlemények és a mi számításaink is azt mutatták, hogy e reakció esetén a  $k=A T^n$  egyenlet jól leírja a sebességi együttható hőmérsékletfüggését. Ennek megfelelően csak az A és n Arrhenius-paramétereket optimalizáltuk és ennek a két paraméternek a bizonytalansági tartományát határoztuk meg. A bizonytalansági tartományt megadó paraméterek:  $\sigma_a = 1,4288$ ,  $\sigma_n = 0,2226$  és  $r_{an} = 1,4288$ -0,99514.

A kísérleti adatok szerint az argon nitrogénre vonatkozó relatív harmadiktest-ütközési hatékonysági együtthatójának értéke *m*=0,5 körül van, de a viszonylag kevés ezirányú mérés a bizonytalansági tartomány pontos behatárolását nem tette lehetővé. A számításaink során feltételeztük, hogy *m* normális eloszlású 0,5 várható értékkel és 0,1 szórással.

vettük paraméteroptimalizáció során egyszerre А figyelembe a 11 méréssorozatot a gyulladási idő mérésére (79 adatpont), valamint a 9 és 10 közvetlen méréssorozatot az RH1 illetve RH2 reakciók sebességi együtthatóinak meghatározására (745 illetve 258 adatpont). A kapott sebességi paraméterek a következők. RH1:  $A_1 = 3,003 \times 10^{10}$ cm<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>,  $n_1 = 0.965$ ,  $E_1/R = 6158$  K (T = 950-3550 K) and RH2:  $A_2 = 7,856 \times 10^{18}$  cm<sup>6</sup> mol<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>,  $n_2 = -1,100$ , E/R = 0 K (kisnyomású határérték,  $M = N_2$ , T = 300-1850 K), m = 0,494. A megfelelő szórások:  $\sigma(\ln A_1) = 1,03$ ,  $\sigma(n_1) =$  $0.118, \sigma(E_{1}/R) = 232 \text{ K}, \sigma(\ln A_{2}) = 0.577, \sigma(n_{2}) = 0.0832 \text{ és}$  $\sigma(m) = 0.00961$ . A számítás eredménye volt a meghatározott hat paraméter kovariancia mátrixa is. A kovariancia mátrix alapján, a (2) és (8) egyenletek felhasználásával számított bizonytalansági paraméterek az RH1 illetve RH2 reakcióra jellemzően f = 0,025 illetve f = 0,049, ami 6% illetve 12% bizonytalanságnak felel meg. Ez jelentős javulás a korábbiakhoz képest, hiszen Miller és munkatársai egy néhány évyel azelőtt közölt áttekintő cikkükben<sup>34</sup> e két reakció sebességi együtthatójának bizonytalanságát 30%nak illetve 50%-nak becsülték.

Az 1. ábrán látható az RH1 reakció sebességi együtthatójának hőmérsékletfüggése Arrhenius-ábrázolásban. Itt bemutatjuk az eddig általánosan elfogadott, Baulch és munkatársaitól<sup>1</sup> származó sebességi együttható függvényt, ennek az általunk meghatározott maximális bizonytalansági tartományát, valamint az optimalizáció eredményeként kapott új sebességi együttható függvényt és annak számított bizonytalansági tartományát.



1. Ábra. RH1: H +  $O_2 = OH + O$  reakció sebességi együtthatójának hőmérsékletfüggése. Folytonos kék vonal: az eddig általánosan elfogadott hőmérsékletfüggés (Baulch és munkatársai<sup>1</sup>) Kék hosszan szaggatott vonal: az általunk megállapított kezdeti bizonytalansági tartomány. Piros folytonos vonal: az optimalizált Arrhenius-paraméterekből számított sebességi együttható függvény. Piros röviden szaggatott vonal: az optimalizáció eredményeként kapott bizonytalansági tartomány. Átvéve a <sup>19</sup> számon hivatkozott közleményből.

Látható, hogy az új optimalizált sebességi együttható minden hőmérsékleten jól egybeesik a korábban ajánlottal, de az új sebességi együttható függvény bizonytalansági tartománya sokkal szűkebb. A 2. ábra hasonló eredményeket mutat be az RH2 reakcióra. Ebben az esetben az optimalizálással kapott sebességi együttható már jobban eltér Baulch és munkatársai ajánlásától, de az optimalizált érték belül van az elfogadható tartományon és az optimalizált érték bizonytalansági tartománya szűk.



2. Ábra. RH2: H +  $O_2$  +  $N_2$  = H $O_2$  +  $N_2$  (kisnyomású határérték) reakció sebességi együtthatójának hőmérsékletfüggése. Folytonos kék vonal: az eddig általánosan elfogadott hőmérsékletfüggés (Baulch és munkatársai<sup>1</sup>) Kék hosszan szaggatott vonal: az általunk megállapított kezdeti bizonytalansági tartomány. Piros folytonos vonal: az optimalizált Arrhenius-paraméterekből számított sebességi együttható függvény. Piros röviden szaggatott vonal: az optimalizáció eredményeként kapott bizonytalansági tartomány. Átvéve a <sup>19</sup> számon hivatkozott közleményből

#### 4. A ciklohexán és 1-hexén termikus bomlása

Peukert és munkatársai<sup>35</sup> nemrégiben számoltak be arról, hogy lökéshullám-csőben vizsgálták a ciklohexán (c- $C_6H_{12}$ ) és az 1-hexén (1- $C_6H_{12}$ ) hőbomlását. A kísérletek során a kiindulási elegy ciklohexánt (16 mérés) illetve 1-hexént (23 mérés) tartalmazott Ar hígítógázban. A mérések során a Hatom koncentráció–idő görbéit határozták meg a visszavert lökéshullám mögött H-ARAS módszerrel. A mérések hőmérséklettartománya 1250–1550 K, nyomástartománya pedig 1,48–2,13 bar volt. Minden egyes mérést közel állandó hőmérsékletűnek és nyomásúnak lehet tekinteni. A szerzők a mérési eredményeiket az alábbi 13-lépéses reakciómechanizmussal értelmezték:

RC1:	$c-C_6H_{12} = 1-C_6H_{12}$
RC2:	$1 - C_6^{\circ} H_{12}^{12} = C_3 H_5^{\circ} + C_3 H_7$
RC3:	$1-C_6H_{12} = 2C_3H_6$
RC4:	$C_3H_5 = aC_3H_4 + H$
RC5:	$C_3H_7 = C_2H_4 + CH_3$
RC6:	$C_{3}H_{7} = C_{3}H_{6} + H$
RC7:	$C_{3}H_{5} + H = aC_{3}H_{4} + H_{2}$
RC8:	$C_{3}H_{5} + H = C_{3}H_{6}^{4}$
RC9:	$a\ddot{C}_{3}\ddot{H}_{4} = pC_{3}\dot{H}_{4}$
RC10:	$aC_{3}H_{4} + H = pC_{3}H_{4} + H$
RC11:	$aC_3H_4 + H = C_3H_3 + H_2$
RC12:	$p\vec{C}_{3}\vec{H}_{4} + H = \vec{C}_{3}\vec{H}_{3} + H_{2}$
RC13:	$\mathbf{p}\mathbf{C}_{3}\mathbf{H}_{4} + \mathbf{H} = \mathbf{C}_{2}\mathbf{H}_{2} + \mathbf{C}\mathbf{H}$
	- 5 - 2 2

Peukert és munkatársai a mérési adataikat a hagyományos módon dolgozták fel. Ez azt jelenti, hogy a fenti mechanizmus reakciólépéseihez az irodalmi ismeretek alapján Arrhenius-paramétereket rendeltek, majd a kísérletek szimulációjánál minden 1-hexén mérésnél az RC2 reakciónak a mérés hőmérsékletéhez tartozó sebességi együtthatóját addig változtatták, mígnem a számítások jól visszaadták a mért H-atom koncentráció görbét. Ezután az  $1/T - \ln k$  táblázat adatai alapján meghatározták az RC2 reakció A és E Arrhenius-paramétereit. Hasonló módon tervezték a ciklohexán mérések feldolgozását is, de itt azt állapították meg, hogy a kezdeti mechanizmus változtatás nélkül jól leírta a ciklohexán mérési adatokat. Az eredeti kiértékelés hiányossága volt, hogy a fenti mechanizmus reakciólépéseinek Arrhenius-paraméterei csak nagy hibával ismertek és ez a hiba átterjedt a mérésekből meghatározott Arrhenius-paraméter értékekre. Az eredeti kiértékelés másik hiányossága az volt, hogy nem számították a meghatározott sebességi paraméterek bizonytalanságát.

Peukert és munkatársai mérési adatait újraértékeltük és az eredményről az eredeti szerzőkkel közös cikkben<sup>23</sup> számoltunk be. Elsőként érzékenységanalízist hajtottunk végre az összesen 39 mérési adatsor pontjaiban. Megállapítottuk, hogy a kísérleti körülményeknél a számított H-atom koncentrációprofilok hat reakció (RC1, RC2, RC4, RC5, RC6 és RC8) sebességi paramétereire érzékenyek. Ez azt jelenti, hogy ennek a hat reakciónak a sebességi paramétereit lehet meghatározni a mérési adatokból és ugyanakkor azt is jelenti, hogy nem rontja el a becsült paraméterértékeket, ha a többi reakciólépésnél felhasznált sebességi együttható értékek nem teljesen pontosak.

A fenti hat reakciólépéshez próbáltunk közvetlen mérési adatokat találni az irodalomban, de nem sikerült hasonló hőmérséklet- és nyomástartományban végzett közvetlen mérésekre bukkannunk. Az egyetlen kivétel az RC4:  $C_3H_5 =$  $aC_3H_4 + H$  reakciólépés volt, mert ennek az elemi reakciónak a sebességi együtthatóját lökéshullám-cső mérésekkel, H-ARAS detektálással tág hőmérséklet (1125 K – 1570 K) és nyomástartományban (0,25–4 bar) határozták meg Fernandes és munkatársai.<sup>36</sup>

Az optimalizáció során a Peukert-féle mérési adatokat (39 adatsorozat, 39000 adatpont) és a Fernandes-féle mérési adatokat (egy adatsorozat, 40 adatpont) egyszerre vettük figyelembe. Mivel a kísérletek tág nyomástartományt fogtak át, ez lehetővé tette az RC4 reakció sebességi együtthatója nyomásfüggésének meghatározását is. A Peukert-féle adatsorozatok mindegyikéhez egyszeres, a Fernandes-féle adatsorozathoz tízszeres súlyt rendeltünk, hogy a kétféle típusú kísérletet hasonló súllyal vegyük figyelembe. Az optimalizáció eredményeképpen a következő sebességi paramétereket határoztuk meg: RC1:  $A = 2,441 \times 10^{19}$ , E/R = 52820; RC2:  $A = 3,539 \times 10^{18}$ , E/R =42499; RC4: A= 8,563×10<sup>19</sup>, n= -3,665, E/R= 13825 (nagynyomású határérték); RC4:  $A = 7,676 \times 10^{31}$  n= -3,120, E/R=40323 (kisnyomású határérték); RC5: A= $3,600 \times 10^{12}$ , E/R = 10699; RC6:  $A = 1,248 \times 10^{17}$ , E/R = 28538; R8:  $A = 6,212 \times 10^{13}$ , E/R = -970. A sebességi paraméterekben alkalmazott mértékegységek a cm3, mol, s és K. A 3. ábra Arrhenius-ábrázolásban bemutatja mind a hat vizsgált reakciólépés sebességi együtthatójának az irodalmi adatokon alapuló eddigi becslését, a sebességi együtthatók általunk meghatározott hőmérsékletfüggését és pontosan meghatározható sebességi együtthatók bizonytalansági tartományát is.

Az optimalizáció további eredménye az illesztett paraméterek kovariancia mátrixa. A (2) és (8) egyenletek alapján ebből számítottuk a reakciósebességi együttható hőmérsékletfüggő f(T) bizonytalansági paraméterét. Ez a bizonytalansági paraméter jellemzően f = 0,1 az RC1 reakciólépésnél (tehát a sebességi együttható bizonytalansága nagyon kicsi), f = 0,1-0,3 az RC2 reakciólépésnél, f = 0.5 alatti az RC8 reakciólépésnél a 1250 K – 1380 K hőmérséklettartományban (ez közepes bizonytalanságnak felel meg). A bizonytalansági paraméter egynél nagyobb az RC4, RC5, és RC6 reakciólépéseknél a teljes hőmérséklettartományban, tehát ezen reakciólépések esetén a meghatározott sebességi paraméterek csak közelítő becslésnek tekinthetők. Az általunk alkalmazott módszer előnye, hogy élesen elkülöníthetővé teszi az optimalizálással kapott paraméterértékek közül a kis és nagy bizonytalanságúakat. Ha ezt a bizonytalanságot az egyébként teljesebb információt adó kovariancia mátrix helyett a gázkinetikában általánosan használt f bizonytalansági paraméterrel adjuk meg, akkor minden gázkinetikában járatos kutató számára azonnal nyilvánvaló a sebességi együttható megadott megbízhatósága.

#### 5. Összefoglalás

A reakciókinetikai méréseket szokás közvetlen (direkt) és közvetett (indirekt) kategóriákba sorolni. A direkt mérések célja egy reakciólépés sebességi együtthatójának meghatározása az adott mérési körülményeknél (például hőmérséklet, nyomás, hígítógáz) olyan módon, hogy a mérések eredményét csak egy vagy nagyon kevés reakciólépés sebességi együtthatója határozza meg. A mérésről beszámoló cikkek általában táblázatosan közlik a mért reakciósebességi együtthatókat. A reakciósebességi paraméterek meghatározása szempontjából indirekt mérések olyan eredményeket szolgáltatnak (például koncentrációprofilok reaktorban, lángsebesség vagy gyulladási idő), amelyek egy soklépéses részletesreakciómec hanizmus felhasználásával végzett szimuláció eredményével hasonlíthatók csak össze.

gázfázisú reakciókinetikában részletes А а reakciómechanizmusokban alkalmazott sebességi paramétereket általában a direkt mérések eredménye alapján határozták meg, míg a kapott mechanizmusokat az indirekt mérések eredményével ellenőrizték. Egy másfajta megközelítésnél a direkt mérések eredményét csak a kezdeti mechanizmus felállítására használták, és a sebességi paraméterek értékét az indirekt mérések eredményei alapján, illesztéssel határozták meg. Mindkét megközelítés azzal járt, hogy egy adott reakciórendszerre a rendelkezésre álló kísérleti információnak csak egy töredékét használták fel.

Egy új megközelítést javasoltunk, aminek az a lényege, hogy a közvetlen és közvetett mérésekből származó mérési adatokat azonos módon kezeljük. Ilyen módon egy adott reakciórendszerhez sokkal több kísérleti információt tudunk figyelembe venni. A módszer fejlesztése során kidolgoztunk egy új globális paraméterbecslési módszert, a korábbiaknál pontosabb módon számítjuk a sebességi paraméterek korrelációs mátrixát, és a paraméterek hibájára vonatkozó információt átszámítjuk a gázkinetikában hagyományosan alkalmazott *f* hőmérsékletfüggő bizonytalansági paraméterre is.



**3.** Ábra. A ciklohexán–1-hexén mérési adatokból meghatározott sebességi együtthatók hőmérsékletfüggése Arrhenius-ábrázolásban. Kék szaggatott vonal: a korábbi, irodalmi forrásokon alapuló sebességi együttható. Piros folytonos vonal: az általunk kapott optimalizált értékek. Piros szaggatott vonal az RC1 és RC2 reakciók esetén: az általunk meghatározott sebességi együtthatók bizonytalansági tartománya. Módosított formában átvéve a <sup>23</sup> számon hivatkozott közleményből.

A kifejlesztett módszerek tömör ismertetése után a módszer alkalmazását a hidrogén égésének két kulcsreakciója (RH1: H + O<sub>2</sub> = OH + O és RH2: H + O<sub>2</sub> + M = HO<sub>2</sub> + M (kisnyomású határérték)), valamint a ciklohexán és 1hexén hőbomlása néhány fontos reakciólépése sebességi paramétereinek meghatározásán mutattuk be.

#### Köszönetnyilvánítás:

A bemutatott munkát anyagilag támogatta az OTKA (T84054). A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg (a támogatás száma TÁMOP 4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0003).

#### Hivatkozások

- Baulch, D. L.; Bowman, C. T.; Cobos, C. J.; Cox, R. A.; Just, T.; Kerr, J. A.; Pilling, M. J.; Stocker, D.; Troe, J.; Tsang, W.; Walker, R. W.; Warnatz, J. JPhys. Chem. Ref. Data 2005, 34, 757-1397.
- 2. Prager, J.; Najm, H. N.; Zádor, J. Proc. Combust. Inst. 2013, 34, in press.
- Goldsmiths, C. F.; Tomlin, A. S.; Klippenstein, S. J. Proc. Combust. Inst. 2013, 34, in press.
- 4. Miller, D.; Frenklach, M. Int. J. Chem. Kinet. 1983, 15, 677-696.
- 5. Frenklach, M. Combust. Flame 1984, 58, 69-72.
- Frenklach, M.; Wang, H.; Rabinowitz, M. J. Prog. Energy Combust. Sci. 1992, 18, 47-73.
- Frenklach, M.; Packard, A.; Seiler, P.; Feeley, R. Int. J. Chem. Kinet. 2004, 36, 57-66.
- Feeley, R.; Seiler, P.; Packard, A.; Frenklach, M. J. Phys. Chem. A 2004, 108, 9573-9583.
- Feeley, R.; Frenklach, M.; Onsum, M.; Russi, T.; Arkin, A.; Packard, A. J. Phys. Chem. A 2006, 110, 6803-6813.
- 10. Russi, T.; Packard, A.; Feeley, R.; Frenklach, M. J. Phys. Chem. A 2008, 112, 2579-2588.
- 11. Frenklach, M. Proc. Combust. Inst. 2007, 31, 125-140.
- 12. You, X. Q.; Russi, T.; Packard, A.; Frenklach, M. Proc. Combust. Inst. 2011, 33, 509-516.
- 13. Qin, Z.; Lissianski, V.; Yang, H.; Gardiner, W.; Davis, S.; Wang, H. Proc. Combust. Inst. 2000, 28, 1663-1669.
- Davis, S. G.; Mhadeshwar, A. B.; Vlachos, D. G.; Wang, H. Int. J. Chem. Kinet. 2004, 36, 94-106.
- Davis, S. G.; Joshi, A. V.; Wang, H.; Egolfopoulos, F. Proc. Combust. Inst. 2005, 30, 1283-1292.
- Sheen, D. A.; You, X.; Wang, H.; Løvås, T. Proc. Combust. Inst. 2009, 32, 535-542.
- 17. Sheen, D. A.; Wang, H. Combust. Flame 2011, 158, 645-656.
- 18. Sheen, D. A.; Wang, H. Combust. Flame 2011, 158, 2358-
- 19. Nagy, T.; Turányi, T. Int. J. Chem. Kinet. 2011, 43, 359-378.

#### Utilization of direct and indirect measurements together for the determination of rate parameters

The chemical kinetic measurements can be categorised as direct and indirect ones. In direct measurements, the reaction conditions are selected in such a way that the measured signal depends mainly on the rate parameters of a single reaction step, thus a rate coefficient can be determined from it directly. In the indirect measurements, the experimental results depend on the rate parameters of several elementary reactions and these data can be interpreted via simulations using a reaction mechanism. Assignment of rate parameters of detailed reaction mechanisms is usually based on direct kinetic measurements and the performance of the mechanism is checked on the basis of the results of indirect measurements. However, the rate coefficients determined in direct measurements have large uncertainty (typically factor of 1.3 to 3.0), usually the first version of a detailed reaction mechanism do not reproduce the indirect measurements. Therefore, most published mechanisms contain tuned rate parameters that were selected almost arbitrarily. In an alternative approach, developed and applied by Frenklach et al. and Wang et al., the values of the most critical rate parameters are determined on the basis of selected indirect measurements.

A new method was suggested recently by our Laboratory that consists of the following main steps.

(i) Indirect measurements belonging to the chemical system to be investigated are selected.

- Sedyó, I.; Nagy, T.; Zsély, I. G.; Turányi, T. Proc. ECM 2011 2011, Paper 163.
- 21. Varga, T.; Zsély, I. G.; Turányi, T. *Proc. ECM 2011* **2011**, Paper 164.
- Turányi, T.; Nagy, T.; Zsély, I. G.; Cserháti, M.; Varga, T.; Szabó, B. T.; Sedyó, I.; Kiss, P. T.; Zempléni, A.; Curran, H. J. *Int. J. Chem. Kinet.* 2012, 44, 284-302.
- Zsély, I. G.; Varga, T.; Nagy, T.; Cserháti, M.; Turányi, T.; Peukert, S.; Braun-Unkhoff, M.; C, N.; Riedel, U. *Energy* 2012, *43*, 85-93.
- 24. Turányi, T.; Zalotai, L.; Dóbé, S.; Bérces, T. PCCP **2002**, *4*, 2568-2578.
- Nalbandjan, A. B.; Vojevodszkij, V. V. A hidrogén oxidációjának és égésének mechanizmusa; Akadémiai Kiadó: Budapest, 1953.
- Li, J.; Zhao, Z.; Kazakov, A.; Dryer, F. L. Int. J. Chem. Kinet. 2004, 36, 566-576.
- O'Conaire, M.; Curran, H. J.; Simmie, J. M.; Pitz, W. J.; Westbrook, C. K. Int. J. Chem. Kinet. 2004, 36, 603-622.
- 28. Konnov, A. A. Combust. Flame 2008, 152, 507-528.
- Hong, Z.; Davidson, D. F.; Hanson, R. K. Combust. Flame 2011, 158, 633-644.
- Burke, M. P.; Chaos, M.; Ju, Y.; Dryer, F. L.; Klippenstein, S. J. Int. J. Chem. Kinet. 2012, 44, 444-474.
- Healy, D.; Kalitan, D. M.; Aul, C. J.; Petersen, E. L.; Bourque, G.; Curran, H. J. *Energ. Fuels* **2010**, *24*, 1521-1528.
- NUIG Combustion Chemistry Centre, Natural Gas III mechanism http://c3.nuigalway.ie/naturalgas3.html 11/07/ 2011
- 33. NIST Chemical Kinetics Database, NIST Standard Reference Database 17, Version 7.0 (Web Version), Release 1.4.3, Data version 2008.12, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, Maryland, 20899-8320. http: //kinetics.nist.gov/ 10/05/2012/
- Miller, J. A.; Pilling, M. J.; Troe, J. Proc. Combust. Inst. 2005, 30, 43-88.
- Peukert, S.; Naumann, C.; Braun-Unkhoff, M.; Riedel, U. Int. J. Chem. Kinet. 2011, 43, 107-119.
- Fernandes, R. X.; Raj Giri, B.; Hippler, H.; Kachiani, C.; Striebel, F. J. Phys. Chem. A 2005, 109, 1063-1070.

(ii) The sensitivities of the simulated values corresponding to the measured signal in the indirect experiments with respect to the rate parameters are calculated. This sensitivity analysis allows the identification of the rate parameters to be optimized. Experimental rate coefficient values determined in direct experiments belonging to the highly sensitive reactions are collected.

(iii) The domain of uncertainty of the rate parameters is determined via a literature review. For the Arrhenius parameters, this determination is based on the relation between the temperature dependent uncertainty of the rate coefficient and the temperature independent uncertainty of the corresponding Arrhenius parameters.

(iv) The optimized values of the rate parameters of the selected elementary reactions within their domain of uncertainty are determined using a newly developed global nonlinear fitting procedure. The optimized rate parameters may include not only Arrhenius parameters, but also third-body efficiencies, enthalpiesof-formation, parameters of pressure dependence, *etc.* 

(v) The covariance matrix of all fitted parameters is calculated. This covariance matrix is transformed to the uncertainty parameter f for each important reaction. Application of uncertainty parameter f is traditional for the characterization of the temperature dependence of the uncertainty of a rate coefficient in gas kinetics.

The approach is demonstrated on the calculation of the Arrhenius parameters of reactions RH1:  $H + O_2 = OH + O$  and RH2:  $H + O_2$  $+ N_2 = HO_2 + N_2$ . In total, 9 direct measurements for reaction RH1 (745 data points), 10 direct measurements for reaction RH2 (258 data points), and 11 ignition time measurements in shock tubes (79 data points) were taken into account. The application of the method resulted in the following rate parameters for the investigated reactions. RH1:  $A = 3.003 \times 10^{10} \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , n = 0.965,  $\vec{ER} =$ 6158 K (T = 950–3550 K); RH2:  $A = 7.856 \times 10^{18}$  cm<sup>6</sup> mol<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, n = -1.100, E/R = 0 K (low pressure limit, T = 300-1850 K). The optimized third body efficiency of Ar relative to N<sub>2</sub> was m = 0.494. Average uncertainty parameter values were f = 0.025 and f = 0.0250.049 for reactions RH1 and RH2 (corresponding to 6% and 12% uncertainty), respectively. The uncertainties of our results were much lower than those of the previous evaluations, since in a recent review the uncertainty of the rate coefficients of these reactions had been estimated to be 30% and 50%, respectively.

Peukert et al. recently published (*Int. J. Chem. Kinet.* **2010**; *43*, 107-119) the results of a series of shock tube measurements on the thermal decomposition of cyclohexane  $(c-C_6H_{12})$  and 1-hexene  $(1-C_6H_{12})$ . The experimental data included 16 and 23 series, respectively, of H-atom profiles measured behind reflected shock

waves by applying the H-ARAS technique (temperature range 1250–1550 K, pressure range 1.48–2.13 bar). Sensitivity analysis carried out at the experimental conditions revealed that the rate coefficients of the following six reactions have a high influence on the simulated H-atom profiles: RC1:  $c-C_6H_{12} = 1-C_6H_{12}$ , RC2:  $1-C_6H_{12} = C_3H_5 + C_3H_7$ , RC4:  $C_3H_5 = aC_3H_4 + H$ ; RC5:  $C_3H_7 = C_2H_4 + CH_3$ ; RC6:  $C_3H_7 = C_3H_6 + H$ ; RC8:  $C_3H_5 + H = C_3H_6$ . The measured data of Peukert et al. were re-analysed together with the measurement results of Fernandes et al. (J. Phys. Chem. A 2005, 109, 1063-1070) for the rate coefficient of reaction RC4, the decomposition of allyl radicals. The optimization resulted in the following Arrhenius parameters. RC1:  $A = 2.441 \times 10^{19}$ , E/R =52820; RC2:  $A = 3.539 \times 10^{18}$ , E/R = 42499; RC4:  $A = 8.563 \times 10^{19}$ , n =-3.665, E/R = 13825 (high pressure limit); RC4:  $A = 7.676 \times 10^{31}$ , n =-3.120, E/R= 40323 (low pressure limit); RC5: A= 3.600×10<sup>12</sup>, E/ R = 10699; RC6:  $A = 1.248 \times 10^{17}$ , E/R = 28538; RC8:  $A = 6,212 \times 10^{13}$ . E/R= -970. The rate parameters above are in cm<sup>3</sup>, mol, s, and K units. Data analysis resulted in the covariance matrix of all these parameters. The standard deviations of the rate coefficients were converted to temperature dependent uncertainty parameter f(T). These uncertainty parameters were typically f = 0.1 for reaction RC1, f = 0.1-0.3 for reaction R2, below 0.5 for reaction RC8 in the temperature range of 1250-1380K, and above 1 for reactions RC4, RC5, and RC6.

# Ferrocén-vegyületek előállítása, szerkezet-bizonyítása, kémiai és spektroszkópiai tulajdonságaik szisztematikus vizsgálata

SOHÁR Pál\* és CSÁMPAI Antal

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet

Egy sikeres pályázat nyomán, 1999-ben, MTA-ELTE Spektroszkópi Szerkezetkutató Csoport elnevezésű új tanszéki MTA-kutatócsoport létesült az ELTE Általános és Szervetlen Kémiai Tanszékén. Saját kezdeményezésű kutatási témaként fémorganikus vegyületek, elsősorban ferrocén-származékok tanulmányozását választottuk, beleértve új vegyületek szintézisét, szerkezet-felderítését, kémiai és spektroszkópiai tulajdonságaik sokoldalú, szisztematikus vizsgálatát.

A szendvics-kötésű ferrocén nemcsak kötés-elméletileg, különleges kémiai és spektroszkópiai tulajdonságai által érdemel megkülönböztetett figyelmet, hanem azért is, mert a gyógyászatban és anyagtudományban sokoldalúan hasznosítható származékai ismeretesek.

A témaválasztást a fentiek mellett a csoportvezető korábbi kutatómunkájához csatlakozás szándéka is indokolta.

#### 1. Előzmények

#### 1.1. Ferricínium-sók

Az 1960-as évek végén, a Gyógyszerkutató Intézetben Kuszmann János – a vas szervezetbe juttatására alkalmas vegyületek előállítása céljából – ferricínium-sókkal foglalkozott. E munka során merült föl az újonnan szintetizált vegyületek szerkezet-igazolásának igénye.



A ferricínium sók szerkezetét illetően az idő tájt még nem alakult ki egységes álláspont. Az irodalomban pl. az eredetileg Fc<sup>+</sup> Cl<sup>-</sup> sónak feltételezett, később ferricíniumtetrakloro-ferrátnak [Fc·FeCl<sub>3</sub>] bizonyult molekulára több szerkezet (**1** – **4**) lehetősége is felmerült.<sup>14</sup>

Az infravörös spektrum részletes elemzése, a ferrocén és a ferrocínium sók normálfrekvenciáinak "leszámlálása"<sup>5</sup> alapján bizonyítottuk, hogy az Fc·FeCl<sub>3</sub> molekula valós

\*H-1518 Budapest, P. O. Boksz 32, e-mail: sohar@chem.elte.hu

szerkezetében a ferrocén- (Fc) és  $\text{FeCl}_3$ -részekben lévő két tetraéderesen koordinált vasatomot halogénhidak kapcsolják össze és a ferrocénben eredetileg párhuzamosan elhelyezkedő ciklopentadién gyűrűk tengelye 120°-os szöget zár be (**5**). <sup>6,7</sup>

#### 1.2. Ferrocenil-aril-kalkonok. Együttműködés az MTA Központi Fizikai Kutatóintézettel.

Az MTA Központi Fizikai Kutatóintézetben Csatóné Nagy Ágnes és Márton József szerkezeti izomer ferrocén-szubsztituált kalkonok, eltérő elektronaffinitású aromás helyettesítőket tartalmazó sorozatait állították elő, s vizsgálták ezek kémiai tulajdonságait Mössbauerspektroszkópiával és ciklikus voltammetriával. <sup>8</sup>

Tudományos együttműködés keretében került sor e vegyületek konfigurációs és konformációs viszonyainak, elsősorban a *syn-anti* izoméria tanulmányozására IR és NMR módszerekkel.

Az Fc–CH=CH–CO–Ar(o-R) típusú sorozat vizsgálatával megállapítottuk, hogy míg az orto-szubsztituált benzolszármazékoknál nincs lineáris korreláció a Hammett- és Taft-konstansokkal, addig egyrészről egyes IR-frekvenciák és az <sup>1</sup>H-NMR kémiai eltolódások, valamint az oxidációs potenciál, másrészről az R szubsztituens elektronegativitása között egyenes arányosság áll fenn. A spektrumadatok az enon részlet nem-planáris szerkezete mellett szólnak.<sup>9</sup> Az Fc–CO–CH=CH–Ar(o-R) szerkezeti izomer sorozat spektrumai planáris felépítést igazolnak és az *s-cisz* rotamer preferáltságát jelzik az *s-cisz*  $\leftrightarrows$  *s-transz* konformációs egyensúlyban.<sup>10</sup>

#### 1.3. Ferrocén-szubsztituált benzilidénbenzo-ciklanonok. Együttműködés a Pécsi Orvostudományi Egyetem Orvosi Kémiai Intézetével.

A POTE Orvosi Kémiai Intézetével együttműködve benzilidén-benzociklanonok szintézisével, illetve IR- és NMR-spektroszkópiai vizsgálatával foglalkoztunk.<sup>11, 12</sup> A kutatások fő célja egyrészt az enon-részletre és a molekulák más részeire kiterjedő konjugáció (elektron-delokalizáció) függésének tanulmányozása a telített gyűrű tagszámától és az aromás rész szubsztituenseitől, továbbá a konformációváltozásoktól, másrészt a kémiai szerkezet és a biológiai hatások közötti kapcsolat felderítése volt. E munkát kiterjesztettük az arilcsoportot ferrocénre cserélve nyert molekulák vizsgálatára. Az új vegyületek térszerkezetének – konfigurációjának és konformációjának – igazolására IR- és NMR-spektrumaik mellett, MS, Mössbauer spektroszkópiai és krisztallográfiai mérések adatait is felhasználtuk.<sup>13</sup>

#### 2. Saját kezdeményezésű kutatások

#### 2.1. Dipoláris cikloaddíciók, oxidatív gyűrűzárás

Az MTA-ELTE kutatócsoporton belül indult munka keretében heterociklusos hidrazinokból formil-ferrocénnel nyert hidrazonok cikloaddícióját tanulmányoztuk különböző dipolarofilekkel. Előállítottuk aromás és heteroaromás hidrazin-származékok formil-ferrocénnel képzett hidrazonjait és vizsgáltuk 1,3-dipoláris cikloaddíciós reakcióikat elektronszívó szubsztituensekkel aktivált alkénekkel (dimetil-fumarát és -maleát, ill. β-nitrosztirol), valamint dimetil-acetilén-dikarboxiláttal (DMAD).<sup>14-16</sup>



Fc = ferrocenil; R, R<sup>'</sup> = H, Ph, CO<sub>2</sub>Me, NO<sub>2</sub>; Ar: *p*-Br-fenil, α-piridil;1-ftalazil és benzotiofén és azaanalógjaik

A hidrazon egységen belül 1,2-hidrogénvándorlással induló cikloaddíciós reakcióikkal számos 3-ferrocenil-pirazol-, pirazolin- és pirazolidin-származékhoz (*c*,*t*-**6**, 7) jutottunk. A pirazolok/pirazolinok képződése a gyűrűzárást követő spontán dehidrogéneződéssel, vagy HNO<sub>2</sub>-eliminációval megy végbe. Egyes cikloaddíciós reakciók mellett ferrocenil-szubsztituált kondenzált [1,2,4]triazolokhoz (**8–10**) vezető oxidatív ciklizáció is lejátszódik. Értelmeztük a reakciókat, és a termékek szerkezetét IR, <sup>1</sup>H- és <sup>13</sup>C-NMR spektrumaikkal igazoltuk, néhány esetben a szerkezeteket egykristály röntgendiffrakciós mérésekkel is megerősítettük. <sup>14-16</sup>

#### 2.2. Cikloaddíciók. Foszforilidek aza-Wittig reakciója. Váz-átrendeződések. Együttműködés a Bonni Egyetem Kekulé Intézetével

A Bonn-i Egyetem Kekulé (Szerves Kémiai) Intézetében *Heinrich Wamhoff* professzorral fennálló több évtizedes tudományos együttműködés folytatásaképpen alkalmaztunk foszforilideket új ferrocén-szubsztituált heterovegyületek előállítására. A munka során érdekes vázátrendeződések lejátszódását figyeltük meg.

A kulcsvegyület a 2-ferrocenil-1-azido-akrilsav-etilészter trifenil-foszforimidje (11) volt, amelyből cikloaddicióval, aza-Wittig és Staudinger-reakcióval, illetve hidrazinovagy aminolízissel,<sup>17</sup> oxazolon (12), imidazolon (13), imidazol-dion (14) és egy triazol-gyűrűs vegyülethez (15) jutottunk.<sup>17,18</sup> Az imidazolon-származékok közül különösen érdekes a két ferrocenil-helyettesítőt tartalmazó 16 molekula képződése. Javaslatot tettünk a reakció mechanizmusára és krisztallográfiai úton igazoltuk a meglepő szerkezetet.<sup>17</sup>



A 11 prekurzor cikloaddíciói közül különösen érdekesnek bizonyult a DMAD-val lejátszódó reakció. Aszerint, hogy a cikloaddíció az N=P vagy a C=C kötésen játszódott le, foszfaza-ciklobutén vagy amino-ciklobutén intermedieren át, egymás mellett – vázátrendeződéssel – a láncban nitrogént tartalmazó 4-aza-hexatrién (17), illetve aminobutadién-vázas vegyület (18) keletkezett.<sup>18</sup>



A váratlan szerkezeteket az NMR spektroszkópia korszerű mérési módszereit, így a DIFFNOE, HMQC és HMBC 2Dméréstechnikákat felhasználva tisztáztuk. A **18** szerkezetet röntgendiffrakciós vizsgálattal is alátámasztottuk.<sup>18</sup>

#### 2.3 Imidazolon-kondenzált diazepinek ferrocénszármazékai. RCM reakciók.

Ruténium-katalizált gyűrűzárással, ferrocenil-amino-imidazolonok két nitrogénen allil-szubsztituált származékából, az oldalláncban imidazolon-kondenzált diazepint tartalmazó vegyületet (**19**) állítottunk elő. Sikerült megkapnunk a ferrocén mindkét ciklopentadién gyűrűjén azonos, diazepinkondenzált imidazolon-gyűrűs részletet magában foglaló oldalláncot hordozó származékot (**20**) is. A formil- és 1,1'-diformil-ferrocén és etil-azidoacetát kondenzációs reakciójával előállított mono- és bisz- $\alpha$ -azido-akrilátból aza-Wittig reakció, 1,3-dipoláris cikloaddíció és homogén katalitikus körülmények között Grubbs-I katalizátorral [Cl<sub>2</sub>Ru(PCy<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHPh] kivitelezett RCM (ring closing metathesis) reakció<sup>19</sup> segítségével jutottunk a **19** és **20** vegyületekhez.<sup>20</sup> Értelmeztük a reakciók mechanizmusát. A termékek szerkezetét IR, <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C- és <sup>15</sup>N-NMR spektrumaik alapján derítettük fel.



#### 2.4 Ferrocenofánok

Diacetil-ferrocén és glioxilsav aldol addíciójával nyert bisz-( $\alpha$ -hidroxi- $\beta$ -oxo)-propionsav típusú intermediert hidrazinnal ciklizálva előállítottuk az 1,1'-*bisz*-[piridazin-3(2*H*)-on-6-il]ferrocént (**21**) és nagy hígításban végzett dialkilezésével néhány áthidalt, ferrocenofán származékhoz (**22**) jutottunk.<sup>21</sup>



X = (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> (n=1, 3, 4); *E*-CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>; 1,2/3-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; 2,6-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>N; 1,8-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>

A **22** [X: (E)–CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>] szimmetrikus alkénszármazék szintézisét megvalósítottuk a megfelelő diallilszubsztituált *bisz*-piridazinon metatézis reakciójával is. Kimutattuk, hogy az adott funkciós csoportok jelenlétében a másod-generációs Grubbs féle ruténium(II)-*bisz*-karbenoid bizonyult alkalmas katalizátornak, míg az első-generációs Grubbs-katalizátor (a ruténium(II)-*mono*-karbenoid) hatástalannak bizonyult.<sup>21</sup>

#### 2.5. Ferrocenil-kalkon-glükozidok

A saját kezdeményezésű kutatócsoportbeli téma keretében "testbarát" ferrocén-vegyületek előállítását tűztük ki célul. E munka során ferrocenil-kalkon-glükozidokat (**23**) állítottunk elő, s ezek némelyike figyelemre méltó leukémia-ellenes hatással tűnt ki.<sup>22</sup>



#### 2.6. Kétszeresen áthidalt, két ferrocén-részletet tartalmazó makrociklusok és fémkomplexeik

Ugyancsak a "testbarát-ferrocén-vegyületek" program megvalósításának jegyében két ferrocén-egység egy-egy ciklopentadién-gyűrűjét nitrogéneket tartalmazó lánccal összekapcsolva, makrociklusos vegyületeket állítottunk elő. A biológiai hatás szempontjából ígéretes **24** típusú ferrofenofánokat diacil-ferrocén-vegyületek és hidrazin kondenzációs reakciójával nyertük.<sup>23</sup>



A szerkezetek spektroszkópiai úton elvégzett bizonyítását követően, részletesen tanulmányoztuk a makrociklus konformációs tulajdonságait és molekuladinamikáját, az NMR spektrumokban tükröződő szimmetriaviszonyok figyelembe vételével és hőmérséklet-fűggő NMR- (VT-NMR-) vizsgálatokkal. Az összekötő diazabutadién típusú láncokon levő szubsztituensek függvényében különböző dinamikai viselkedést figyeltünk meg. Az így nyert eredményeket kvantumkémiai számításokkal is alátámasztottuk és igazoltuk, hogy a "staggered" és "eclipsed" konformerek egymásba alakulása legalább egy H-szubsztituenst hordozó összekötő lánc forgásával, két külön fázisban, egy lokális intermedieren és két átmeneti állapoton keresztül megy végbe.



A kutatási tervek között szerepelt a makrociklus középpontjában nehézfémet tartalmazó komplexek előállítása. Ezek a klorofill és hemoglobin háromdimenziós rokonai lehetnének. Azt tapasztaltuk, hogy e **24**-típusú vegyületek két-, vagy négyfogú nitrogéndonor ligandumként viselkednek.



Fémkomplexeket eddig csak *trisz*-(dibenzilidénaceton)dipalládiummal DMAD jelenlétében sikerült előállítani, amikor a palládium-atom öttagú aromásgyűrű alkotórészeként a makrociklus két összekötő láncának egyegy nitrogénjéhez koordinálódik. Ekként mono- (25) és dipalladát-komplexekhez (26) jutottak, s tisztáztuk ezek szerkezetét.<sup>24</sup>

### 2.7. Ferrocenil-fentiazinok. Együttműködés a kolozsvári Babes-Bólyai Egyetemmel.

A kolozsvári Babes-Bolyai Egyetem Szerves Kémiai Intézetével, TéT pályázatokon elnyert támogatással folytatott együttműködés keretében bekapcsolódtunk a *Ioan A. Silberg* akadémikus vezetésével hosszabb ideje folyó fentiazinszármazékok, s közöttük kalkonok szintézisét megvalósító kutatásokba, összekapcsolva ezt a mi ferrocén-témánkkal. Ez a kutatási terv sok szempontból ígéretesnek látszott. A remélt hasznos biológiai aktivitás és kémiai érdekességek mellett, az anyagtudomány, illetőleg az alkalmazott fizika (nem-lineáris optikai sajátságok) és elektrokémia (redoxrendszerek) számára is értékes új anyagok felfedezését vártuk ettől a munkától.

118. évfolyam, 2-4. szám, 2012.

Acetil- és 1,1'-diacetil-ferrocén és N-szubsztituált 3-formilfentiazinok (27, R:CHO, R': H) reakciójából bázis-katalizált aldol-kondenzációval 1:1, illetve 2:1 összetételű (egy ferrocén- és egy, illetve két fentiazin-részletet tartalmazó) kalkonokat (28, 29) állítottunk elő, amelyekben az áthidaló enon-rész karboniljához kapcsolódott a ferrocenil-csoport.<sup>25</sup>



A 3,7-diacetil-fentiazinok (30, R = R': Ac) kondenzációja formil-, illetve 1,1'-diformil-ferrocénnel a "fordított" kalkonokat eredményezte, amikor az enon-karbonilhoz a fentiazin csatlakozik. Az 1:1 termék (31) mellett itt két fentiazin részletet és egy ferrocént (32), valamint egy fentiazint és két ferrocént magába foglaló vegyületekhez jutottunk (33).<sup>25</sup>



Említést érdemel, hogy a 30 vegyület szerkezetét tévesen, 2,8-diacetil-származékként adták meg az irodalomban.<sup>26</sup> Az <sup>1</sup>H-NMR jelek multiplicitását és várható kémiai eltolódását<sup>27</sup> figyelembe véve egyértelműen bizonyítottuk a 3,7-diacetil-, s ezzel **27** molekulára a 3-acetil-szerkezetet.<sup>25</sup>

Az e témában végzett szerkezetigazolások közül egyetlen esetet kiragadva, az *N*-metil-3-formil-fentiazinból acetilferrocénnal nyert kalkon metilhidrazinnal végrehajtott ciklizációját említjük, amelynek termékeként egy pirazolin gyűrűs vegyület (**34**) mellett, két regioizomer *N*-metilpirazol (**35**, **36**) keletkezett. Megfigyeltük, hogy a különböző R helyettesítőket tartalmazó kalkonok cikloaddíciójának regioszelektivitása szubsztituensfüggő.<sup>28</sup>

A **34** pirazolin-vegyület szerkezete már egyedül a metiléncsoport <sup>1</sup>H-NMR jeléből és a vele szomszédos CH csoport <sup>13</sup>C-NMR vonalának megjelenéséből nyilvánvaló. A királis szerkezet következményeképpen a szubsztituált ciklopentadién-gyűrű két-két, a szubsztituált szénnel szomszédos, illetve távolabbi (2,5- és 3,4-helyzetű) H és C atomjai külön jelet adnak, s ez önmagában is bizonyítja a kiralitás-centrum előfordulását, azaz a részben telített heterogyűrű előfordulását.



A **35** és **36** regioizomerek szerkezete részben a DIFFNOEmérésből, részben a 2D-HMBC spektrum keresztcsúcsaiból egyértelműen következett.

Ultrahang alkalmazása mellett megkíséreltük réz(II)nitráttal néhány *N*-acetil-pirazolin aromatizációját, de oxidáció csak a fentiazinil csoporton ment végbe, így termékként szulfoxidokat kaptunk, míg a metil-pirazolinok aromatizációja spontán lejátszódott.<sup>28</sup>

Az erősen elektronküldő fentiazin- és ferrocén egységeket együttesen tartalmazó, kiterjedt konjugációval jellemezhető molekulák kondenzációs reakcióiban az intermedier monokalkonok készségesebben vesznek részt, mint a kiindulási 1,1'-diacetil-ferrocén vagy a 3,7-diacetil-fenotiazin. <sup>25</sup> A kalkonok képződésénél és ezek reakcióinál <sup>28</sup> megfigyelt szerkezet – reaktivitás összefüggéseket kvantumkémiai számításokkal kapott energetikai adatok és DFT reaktivitás indexek alapján kielégítően sikerült értelmezni.

A **35** és **36** aromás pirazolgyűrűs regioizomerekhez hasonló ferrocenil-pirazolin-típusú szerkezeti izomereket hetarilhidrazinok ciklokondenzációjával Fc–CH=CH–CO–Ar, illetve Fc–CO–CH=CH–Ar tipusú kalkonokból is sikerült, sztereoszelektíven előállítanunk. Míg előbbi kalkonból kizárólag 3-aril-vegyületekhez jutottunk, addig utóbbiból –ugyancsak egyedüli termékként – 5-aril-pirazolinokat nyertünk.<sup>29</sup>

#### 2.8. Ferrocén-szubsztituált szteroidok. Együttműködés a veszprémi Pannon Egyetemmel és a Debreceni Egyetemmel.

A ferrocén-vegyületeket újabban bioszenzorként (elektronátmenetek közvetítőjeként), analitikai célokra is alkalmazzák <sup>pl.30, 31</sup> és ennek érdekében különféle



biomolekulák ferrocén-származékait szintetizálták (pl. aminosavakkal, peptidekkel).<sup>32</sup> Felmerült az ötlet, hogy az arra alkalmas ferrocenil-kalkonjainkat különböző szteroidokkal összekapcsolva jussunk új bioszenzorokhoz. E cél megvalósítására a Veszprémi Egyetemen tanulmányozott homogén-katalitikus karbonilezési reakció kínálkozott.

A **37** ferrocenil-kalkon-származékot néhány (közöttük **38**) szteroid vegyülettel palládium-trifenil-foszfin katalizátor jelenlétében reagáltatva nyertük a **39**-típusú molekulákat. Szerkezetüket IR, MS, NMR és a **40** vegyület estén a Debereceni Tudományegyetemmel együttműködésben, röntgenkrisztallográfiás mérésekkel igazoltuk. <sup>33</sup>

#### 2.9. Ferrocenil-pirazolinok és pirazinok. Regioizomerek.

Tanulmányoztuk az Fc-CH=CH-CO-Ar (Ar: Ph, *p*-OH-Ph, *p*-OAc-Ph) kalkonok ciklokondenzációját szubsztituált hidrazinokkal (R–NH–NH<sub>2</sub>; R: H, Me, Ac, Ph, *p*-NO<sub>2</sub>-Ph,  $\alpha$ -Py) és a pirazol:pirazolin termékösszetétel szubsztituensfüggését. Azt találtuk, hogy az arány oldószer- és hőmérséklet-függő. Az aromás és dihidro-analogok egymás melletti képződését kinetikai- és termodinamikai kontrollal lejátszódó reakciókkal magyaráztuk, s a két folyamat mechanizmusára DFT-számításokra épülő javaslatot adtunk.<sup>34</sup>



E munka során azt tapasztaltuk, hogy esetenként regioizomerek keverékei is keletkeztek, mind a pirazolinok [41 (R: Me, R':H) és 42 (R: Me, R': H), mind pedig a pirazolok [43 (R: Me, R':H) és 44 (R: Me, R':H)] között.

Vizsgáltuk a dehidro-aromatizációs reakciót és azt találtuk, hogy a DDQ (2,3-diklór-5,6-diciano-1,4-benzokinon) a legalkalmasabb oxidálószer a  $41 \rightarrow 43$ ,  $42 \rightarrow 44$ , s további analóg átalakításokra. Az oxidáció energiafüggését EI MS mérésekkel tanulmányoztuk.

Az új ciklokondenzációs termékeket kombinált IR-NMR vizsgálatokkal igazoltuk, felhasználva DIFFNOE, 2D-HMQC, 2D-HMBC és DEPT-mérések eredményeit. Néhány vegyület [így pl. **41** (R: α-Py, R': *p*-OMe-Ph), **41** (R: *p*-NO<sub>2</sub>-Ph, R': Ph), **43** (R: Ph, R': *p*-OH-Ph)] szerkezetét az MTA Központi Kémiai Kutatóintézettel és a Chinoin Gyógyszergyárral kooperációban Röntgen-diffrakcióval is megerősítettük.

#### 2.10. Új öt- és hattagú heterociklusok előállítása ferrocenil-szemikarbazonokból és a tio-, illetve guanidin-analógokból DMAD cikloaddíciójával.

A biológiai hatás szempontból hasznos vegyületek egy jellegzetes csoportját képezik a szemikarbazonok, tioanalógjaik és a guanidin-származékok. Ekként ígéretesnek látszott számunkra a könnyen hozzáférhető acil-ferrocén tio-szemi-karbazonok és tio-karbono-hidrazidok, illetve S-metil-származékaik előállítása, majd ezek és a DMAD reakciójából nyerhető és sokféle módon tovább funkcionalizálható ferrocén-tartalmú heterociklusok szintézise és tanulmányozása.

A konjugált addícióval, a nitrogénatom acilezésével és esetenként spontán dehidrogéneződéssel lejátszódó reakciók egy-, vagy két ferrocenil-csoportot tartalmazó, polifunkciós, változatos öt- és hattagú gyűrűs vegyületeket (**45–56**) adtak.<sup>35, 36</sup> Az új heterociklusok között tiazol (**48**),



X = -N=C(R)Fc (R = H, Me); Y = (E)-=CHCO<sub>2</sub>Me

tiazolidinon (45, 46), tiazolidin (47), tiazinon (55), imidazolon (49, 50), tiadiazol (51), pirimidinon (56) és oxidatív gyűrűzárással, illletve gyűrűizomerizációval keletkező triazol (53), illetve triazolin (52, 54) gyűrűs vegyületek fordultak elő. A 47 (R: H) tiazolidinek *cisz* és *transz* gyűrűizomerjeinek (diasztereomerjeinek) képződését észleltük. Szobahőmérsékleten *cisz*  $\rightarrow$  *transz* izomerizáció játszódik le. A *cisz*-izomer gyűrűnyílást követő gyűrűvisszazárással a 45 (R: H) tiazolon-származékká alakul.

Megfigyeltünk egy, bizonyíthatóan a ferrocenil szubsztituensek segítette gyűrű-izomerizációt ( $51 \rightarrow 52$ ).<sup>36</sup> A reakciók mechanizmusát preparatív kontroll-kísérletekkel és elméleti (DFT) számításokkal igazoltuk.<sup>36</sup>

Az új hetero-vegyületek szerkezet-meghatározása a lehetséges, egymáshoz igen hasonló szerkezeti alternatívák miatt nem volt egyszerű. Az IR és NMR (<sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-, <sup>15</sup>N-) spektrumadatok mellet felhasználtunk kiegészítő NMRméréseket (2D-HMQC, 2D-HMBC, 2D-COSY, DIFFNOE, DEPT), elméleti számítással (GIAO NMR) nyert <sup>13</sup>C-NMR kémiai eltolódásokat, a lehetséges szerkezetek relatív stabilitására, ill. képződésük energiaigényére vonatkozó DFT-számítások eredményét és néhány esetben [45 (R: H, R': Me), 50 (R': Me). 53 (R': X), 56 (R': Me)] egykristálydiffrakciós vizsgálatokat is.

#### 2.11. Ferrocén-szubsztituált dihidro-pirimidinek és pirimido-pirimidin-áthidalt ferrocének.

Formil- és 1,1'-diformil-ferrocénből Biginelli reakciók különböző savas katalizátorokat alkalmazó változatai segítségével ferrocén-tartalmú dihidro-pirimidineket (**57**, **58**) állítottunk elő. Megállapítottuk, hogy ezek az átalakulások bórsavat tartalmazó jégecetben játszódtak le a legjobb termeléssel. Igazoltuk, hogy az **59** triciklus a ferrocén bomlásából képződő ciklopentadién és a ciklusos dionokból, valamint a formil-ferrocénből képződő en-dion [4+2]-cikloaddíciójából származik.<sup>37</sup> Preparatív kontroll-kísérletek mellett kvantumkémiai számításokkal szintén kielégítő módon sikerült értelmezni a szubsztrát-, regio- és diasztereoszelektív reakciók lehetséges mechanizmusát.<sup>37</sup>



A diformil-ferrocén különböző metil-ketonok és karbamid kondenzációjával pirimido-pirimidin vázzal áthidalt ferrocéneket (**60**) kaptunk.<sup>38</sup> A reakciók ekvimoláris trimetil-klórszilán és katalitikus mennyiségű vas(III)-klorid



**60** (R = Ph, *p*-MeO-Ph, Fc, 1'-Ac-Fc)

jelenlétében játszódnak le, és minden bizonnyal egyéb aril-metil ketonokra is kiterjeszthetők. A 60 típusú ferrocenofánok további változatos szerkezetű áthidalt heterociklusok kiindulási anyagai is lehetnek.

#### 3. Összefoglalás

Az MTA-ELTE Spektroszkópi Szerkezetkutató Csoport (1999-2006) potenciálisan biológiailag aktív fererocénszubsztituált heterociklusok szintézisét, szerkezetfelderítését és szisztematikus spektroszkópiai vizsgálatát tűzte ki céljául. E vizsgálatok egyben folytatását képezték a csoportvezető ferrocenil-származékokkal kapcsolatos korábbi, eseti kutatásainak.

Ezen előzmények során elméleti és kísérleti IR spektroszkópiai vizsgálatokra alapozva ferricíniumsók szerkezetének felderítésére, továbbá ferrocén-arilkalkonok kémiai tulajdonságainak, konfigurációs és konformációs viszonyainak, elsősorban a syn-anti izoméria tanulmányozására került sor IR, NMR és Mössbauerspektroszkópiával, illetve ciklikus voltammetriával. A ferrocén-szubsztituált benzilidén-benzo-ciklanonokkal kapcsolatos vizsgálatok célja egyrészt a konjugációs függésének tanulmányozása viszonyok volt а molekulaszerkezettől, másrészt a kémiai szerkezet és a biológiai hatások közötti kapcsolat felderítése volt. A térszerkezetek igazolása IR, NMR, MS, Mössbauer és krisztallográfiai mérésekre épült.

A kutatócsoport önálló kezdeményezésű kutatásai keretében heterociklusos hidrazinokból formil-ferrocénnel nyert Schiff-bázisok 1,3-dipoláris cikloaddícióját tanulmányoztuk. E reakcióikkal számos 3-ferrocenilpirazol-, pirazolin-, és pirazolidin-származékhoz jutottunk, melyek képződése esetenként oxidatív gyűrűzárással, spontán dehidrogéneződéssel, illetve HNO<sub>2</sub>-eliminációval játszódik le. Az új vegyületek szerkezetbizonyítása IR, NMR és röntgendiffrakciós mérésekkel történt.

Foszforilid-intermediereken át új ferrocén-szubsztituált heterovegyületek előállítására nyílt lehetőség. E reakciók közben érdekes vázátrendeződések is lejátszódtak. Katalitikus RCM reakciókkal imidazolon-kondenzált diazepinek ferrocén-származékait nyertük és értelmeztük a reakciók mechanizmusát. Diacetil-ferrocén és glioxilsav aldol addíciójával nyert intermediereket hidrazinnal ciklizálva és ezt követő dialkilezésekkel áthidalt ferrocenofán származékokhoz jutottunk.

"Test-barát" ferrocén-vegyületek előállítása céljából ferrocenil-kalkon-glükozidok előállítására került sor, s ezek némelyike figyelemreméltó leukémia-ellenes hatással tűnt ki.

E program megvalósításának jegyében két ferrocén-egység egy-egy ciklopentadién-gyűrűjét nitrogéneket tartalmazó lánccal összekapcsolva, makrociklusos vegyületeket állítottunk elő. Részletesen tanulmányoztuk a makrociklusok konformációs tulajdonságait és molekula-dinamikáját. A makrociklus középpontjában nehézfémet tartalmazó komplexek a klorofill és hemoglobin háromdimenziós rokonai lehetnének. Fémkomplexeket azonban eddig csak trisz-(dibenzilidén-aceton)-dipalládiummal, DMAD jelenlétében sikerült előállítani, amikor a palládium-atom öttagú aromás gyűrű alkotórészeként, a makrociklus két összekötő láncának egy-egy nitrogénjéhez koordinálódik.

A potenciális bioaktivitás mellett, az anyagtudomány (nemlineáris optikai sajátságok) és elektrokémia számára is hasznos anyagok felfedezését vártuk az acil-ferrocénekből és acil-fentiazinokból nyerhető 1:1, 1:2, 2:1 és 2:2 összetételű kalkonok vizsgálatától. A kalkonok metilhidrazinos ciklizációjával pirazol- és pirazolin-vegyületeket kaptunk, közöttük regioizomer párokat. Megállapítottuk, hogy a regioszelektivitás szubsztituens-függő.

Bioszenzorok nyerésének reményében szteroidok ferrocén-származékait szintetizáltuk, homogén-katalitikus karbonilezési reakciót felhasználva.

Számos új öt- és hattagú heterociklust szintetizáltunk ferrocenil-szemi-karbazonokból és a tio-, illetve guanidinanalógokból, DMAD cikloaddíciójával. Az új heterociklusok között tiazol, tiazolidinon, tiazolidin, tiazinon, imidazolon, tiadiazol, pirimidinon és oxidatív gyűrűzárással, illetve gyűrűizomerizációval keletkező triazol, és triazolin gyűrűs vegyületek fordultak elő. E reakciók között gyűrűizomerek (diasztereomerjeinek) képződése és *cisz*  $\rightarrow$  *transz* izomerizáció figyelhető meg. Az egymáshoz igen hasonló szerkezeti alternatívák miatt a szerkezetek tisztázásához az IR és NMR spektrumok mellett kiegészítő NMR-mérésekre (HMQC, HMBC, COSY, DNOE, DEPT), elméleti számításokra (GIAO NMR, DFT) és krisztallográfiai vizsgálatokra is szükség volt.

Biginelli reakcióval ferrocenil-dihidro-pirimidineket állítottunk elő. Preparatív kontroll-kísérletek mellett számításokkal értelmeztük a szubsztrát-, regio- és diasztereoszelektív reakciók lehetséges mechanizmusát. Az 1,1'-diformil-ferrocén, metil-ketonok és karbamid kondenzációjával pirimido-pirimidin vázzal áthidalt molekulákat kaptunk. E ferrocenofánok további áthidalt ferrocén-származékok kiindulási anyagai lehetnek.

#### K5zönetnyilvánítás

Kutatásainkhoz MTA, OTKA és TéT pályázatokkal jutottunk támogatáshoz, amiért ezúton is köszönetet mondunk. Köszönet illeti együttműködő kutató kollégáinkat, a kutatásainkban közreműködő doktoranduszokat és a szakdolgózó egyetemi hallgatókat. Neveik a közös publikációk társszerzőiként az irodalomjegyzékben szerepelnek.

#### Hivatkozások

- 1. Pavlik, I.; Klikorka, J. Coll. Czech Chem. Comm., **1965**, 30, 664.
- Pavlik, I.; Plechacek, W. Coll. Czech Chem. Comm., 1966, 31, 2083.
- 3. Fritz, H. P.; Schäfer, L. Z. Naturforsch. 1964, 19, 169.
- 4. Maitlis, P. M.; Brown, J. D. Z. Naturforsch. 1965, 20b, 597.
- Holly, S.; Sohár, P. *Infravörös spektroszkópia*. Műszaki Könyvkiadó: Budapest, **1968**.
- 6. Sohár, P.; Kuszmann, J. J. Mol. Struct. 1969, 3, 359-368.
- Sohár P.; Kuszmann J. Magyar Kémiai Folyóirat 1969, 75, 427-432.
- Nagy, A. G.; Márton, J.; Sohár, P. Acta Chim. Hung. 1991, 128, 961-964.
- 9. Nagy, G.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. 1990, 390, 217-225.
- 10. Nagy, G.; Márton, J.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. 1991, 410, 357-364.
- 11. Perjési, P.; Nusser, T.; Tarczay, Gy.; Sohár, P. J. Mol. Struct. **1999**, 479, 13-19.
- 12. Tarczay, Gy.; Vékey, K.; Ludányi, K.; Perjési, P.; Sohár, P. J. Mol. Struct. 2000, 520, 97-102.
- Sohár, P.; Perjési, P.; Törnroos, K. W.; Husebye, S.; Vértes, A.; Vankó, Gy.; Bozak, R. E. J. Mol. Structure 2000, 524, 297-304.
- 14. Abrán, Á.; Csámpai, A.; Harmath, V.; Sohár, P. Acta Chim. Hung., Models Chem. **1998**, 135, 439-447.
- Abrán, Á.; Csámpai, A.; Böcskei, Zs.; Sohár, P. *Tetrahedron* 1999, 55, 5441-5448.

- Abrán, Á.; Csámpai, A.; Kotschy, A.; Barabás, O.; Sohár, P. J. Mol. Struct. 2001, 569, 185-194.
- Túrós, Gy.; Csámpai, A.; Czugler, M.; Wamhoff, H.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. 2001, 634, 122-130.
- Csámpai, A.; Túrós, Gy.; Kudar, V.; Simon, K.; Oeynhauen, H.; Wamhoff, H.; Sohár, P. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 717-723.
- (a) Schrock, R. R. et al. J. Am. Chem. Soc. 1990, 112, 3875 and ref. therein; (b) Grubbs, R. H.; Chang, S. Tetrahedron 1998, 54, 4413 and ref. threin; (c) Philips, A. J.; Abell, A. D. Aldrichim. Acta 1999, 32, 75-88.
- Túrós, Gy.; Csámpai, A.; Lovász, T.; Györfi, A.; Wamhoff, H.; Sohár, P. *Eur. J. Org. Chem.* 2002, 3801-3806.
- Csámpai, A.; Abrán, Á.; Kudar, V.; Túrós, Gy.; Wamhoff, H.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. 2005, 690, 802-810.
- Zsoldos-Mády, V.; Csámpai, A.; Szabó, R.; Mészáros-Alapi, E.; Pásztor, J.; Hudecz, F.; Sohár, P. *ChemMedChem* 2006, 1, 1119-1125.
- Sohár, P.; Csámpai, A.; Abrán, Á.; Túrós, Gy.; Vass, E.; Kudar, V.; Újszászy, K.; Fábián, B. *Eur. J. Org. Chem.* 2005, 1659-1664.
- 24. Simó, M.; Abrán, Á.; Csámpai, A.; Sohár, P.: Nem publikált vizsgálatok.
- Lovász, T.; Túrós, Gy.; Gâinâ, L.; Csámpai, A.; Frigyes, D.; Fábián, B.; Silberg, I. A.; Sohár, P. J. Mol. Struct. 2005, 751, 100-108.
- 26. Cauquil, G.; Cassadevall, A. Bull. Soc. Chim. Fr. 1955, 4, 769.
- Sohár, P. Nuclear Magn. Res. Spectroscopy. Vol. I III. CRC Press: Boca Raton, Florida, 1983.
- Gâinâ, L.; Csámpai, A.; Túrós, Gy.; Lovász, T.; Zsoldos-Mády, V.; Silberg, I. A.; Sohár, P. Org. Biomol. Chem. 2006, 4, 4375-4386.
- Kudar, V.; Zsoldos-Mády, V.; Simon, K.; Csámpai, A.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. 2005, 690, 4018-4026.
- Nakayama, M.; Ihara, T.; Nakano, K.; Maeda, M. *Talanta* 2002, 56, 857.
- 31. Beer, P. D.; Hayes, E. J. Coord. Chem. Rev. 2003, 240, 167.
- Moriuchi, T.; Nomoto, A.; Kazuhiro, Y.; Ogawa, A.; Hirao, T. J. Am. Chem. Soc. 2001, 68, 123.
- Balogh, J.; Zsoldos-Mády, V.; Frigyes, D.; Bényei, A. C.; Skoda-Földes, R.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. 2007, 692, 1614-1618.
- Zsoldos-Mády, V.; Ozohanics, O.; Csámpai, A.; Kudar, V.; Frigyes, D.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. 2009, 694, 4185-4195.
- Fábián, B.; Kudar, V.; Csámpai, A.; Nagy, T. Zs.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. 2007, 692, 5621-5632.
- Fábián, B.; Csámpai, A.; Nagy, T. Zs.; Czugler, M.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. 2009, 694, 3732-3741.
- Kiss, K.; Csámpai, A.; Sohár; P. J. Organomet. Chem. 2010, 695, 1852-1857.
- Csámpai, A.; Györfi, A.; Túrós, Gy.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. 2009, 694, 3667-3673.

## Synthesis, structure determination and a systematic study of the chemical and spectroscopic behaviour of ferrocene compounds

The Research Group of Spectroscopic Structural Investigation of MTA-ELTE (1999-2006) targeted the synthesis, stucturedetermination and systematic spectroscopic investigation of ferrocene-substituted heterocycles with potential biological activity. This work is the continuation of the principal investigator's previous case-studies on ferrocene derivatives.

Based on theoretical- and experimental IR spectroscopic investigations, these precedental works including structure-determination of ferricinium salts, studies on chemical reactivity as

well as configuration and conformation of ferrocenyl-aryl chalcones with special regard to *syn-anti* isomerism, were performed by IR-, NMR- and Mössbauer spectroscopy and cyclic voltammetry.

Besides the studies on correlations between conjugation and molecular structure, the purpose of the research associated with ferrocene-substituted benzylidene-benzocycloalkanones was the exploration of the dependency of biological activities on the chemical structure. The stereostructures were evidenced by IR-, NMR-, MS-, Mössbauer- and single crystal x-ray measurements.

On the initiation of the research group we investigated the 1,3dipolar cycloadditions of hydrazones obtained by the condensation of formylferrocene with heterocyclic hydrazines. By means of these reactions we obtained a number of 3-ferrocenyl-pirazole/ pirazoline/pirazolidine derivatives, some of them formed by spontaneous dehydrogenation, HNO<sub>2</sub>-elimination and oxidative cyclisation. The structure determination was carried by IR-, NMRand single crystal x-ray measurements.

Phosporylide intermediates allowed the preparation of novel ferrocene-substituted hetero compounds. In the course of the reactions empoyed interesting skeletal rearrangements also took place. Catalytic RCM reactions afforded ferrocene derivatives of diazepines condensed to imidazolones. The mechanism of the reaction was also interpreted. On subsequent treatment with hydrazine and bifunctional alkylating agents, the intermediates resulted from the aldol addition of diacetylferrocene and glyoxylic acid led to the formation of bridged ferrocenophanes.

In order to obtain ferrocene compounds compatible to biological systems we synthesized glycosyl-bonded ferrocenyl chalcones some of which displayed remarkable activity against leukemia. In the frame of this program we also prepared macrocyclic compounds incorporating two ferrocene units connected with nitrogene-containing chains. The conformation and dynamics of these macrocycles were studied in detail. Their complexes with heavy metals in central position could be considered as three-dimensional analogoues of chlorophyll and haemoglobine. However, the preparation of metal complexes containing fivemembered palladacycles coordinated to two nitrogen atoms could only be achieved by the treatment of the macrocycles with tris-(dibenzylideneacetone)dipalladium in the presence of DMAD.

Besides potential bioactivity we expected the discovery of such compounds among the chalcones of 1:1, 1:2, 2:1 and 2: 2 compositions resulted from the condensation reactions of acylferrocenes-and phenothiazines which are also useful for material sciences (non-linear optical properties) and electrochemistry. The reactions of chalcones effected by methylhydrazine afforded regioisomeric pairs. We established that this type of regioselectivity is dependent on the substituents.

In the hope of obtaining biosensors we also synthesized ferrocene derivatives of steroids by carbonylation reactions conducted under the conditions of homogenous catalysis.

By means of cycloadditions of DMAD with ferrocenyl semicarbazones, thio- and guanidine analogues we prepared a number of novel five- and six-membered heterocycles including thiazoles, thiazolidinones, thiazolidines, thiazinones, imidazolones, thiadiazoles, pirimidinones. The triazole- and triazoline products were resulted from oxidative cyclisation and ring isomerisation reactions. The formation of ring isomers (diastereomers) and *cis*  $\rightarrow$  *trans* isomerisation are also among of these transformations. Due to highly similar structural alternatives, besides routine IR and NMR spectra supplementary NMR measurements (HMQC, HMBC, COSY, DNOE, DEPT), theoretical calculations (GIAO NMR, DFT) and crystallographic studies were also necessary to clarify the molecular structures.

Employing Biginelli reactions we prepared ferrocenyldihydropyrimidines. The possible mechanisms of the substrate-, regio- and diastereoselective reactions were interpreted by the results of preparative control experiments and theoretical calculations. The condensation of 1,1'-diformylferrocene and urea with methylketones gave ferrocenophanes containing pyrimido-pyrimidine as bridging element. These products can be used as precursors for the synthesis of further bridged ferrocene derivatives.

### A VCD-spektroszkópia alkalmazása peptidek, peptidmimetikumok és királis átmenetifém-komplexek térszerkezetének felderítésében

HOLLÓSI Miklós, KNAPP Krisztina, MAJER Zsuzsa, SZILVÁGYI Gábor és VASS Elemér\*

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Kiroptikai Szerkezetvizsgáló Laboratórium, Pázmány Péter sétány 1/A, 1117 Budapest, Magyarország.

#### 1. Bevezetés

Az ELTE TTK Kémiai Intézet keretében működő Kiroptikai Szerkezetvizsgáló Laboratórium (KSzL) fő kutatási profilja királis molekulák térszerkezetének kiroptikai spektroszkópiai módszerekkel történő vizsgálata, e területen a legnagyobb múltra visszatekintő tudományos műhely Magyarországon. A KSzL legfontosabb eredményei közé sorolható az 1990es évek eleje és a 2000-es évek közepe között a ECD/FT-IR összetett spektroszkópiai módszer kifejlesztetése és sikeres alkalmazása peptidek, fehérjék, ezek fémkomplexei, valamint királis koronaéterek különféle szupramolekuláris komplexei térszerkezetének felderítésében.<sup>1</sup> A 2003-ban beszerzett VCD- és a közelmúltban az ELTE TTK Kémiai Intézetében üzembe helyezett ROA-spektrométerek révén - melyek egyedi műszerek Magyarországon - a laboratóriumban folyó kutatások fókuszpontja egyre inkább a rezgési optikai aktivitáson alapuló spektroszkópia alkalmazására tevődött át.

Jelen cikkünk célja a peptidek, peptidmimetikumok és királis átmenetifém-komplexek VCD-spektroszkópián alapuló szerkezetvizsgálata terén elért főbb eredményeink áttekintése.

#### 2. A rezgési optikai aktivitás két formája: VCD és ROA

A rezgési optikai aktivitás (VOA) a királis molekulák rezgéseinek gerjesztése során a balra és jobbra cirkulárisan polarizált elektromágneses sugárzásra adott eltérő mértékű válaszként definiálható. Az alapul szolgáló rezgési spektroszkópiai módszertől függően (infravörös illetve Raman) két fő változata létezik: rezgési cirkuláris dikroizmus (VCD) és a Raman optikai aktivitás (ROA), melyek tulajdonképpen az infravörös- és a Raman-spektroszkópia királis megvalósításának tekinthetők. A rezgési optikai aktivitás elméleti alapjairól és alkalmazási lehetőségeiről részletes áttekintést nyújt Laurence L. Nafie nemrég megjelent kézikönyve.<sup>2</sup>

A VCD-spektroszkópia esetében a vizsgált jelenség a balra ill. jobbra cirkulárisan polarizált infravörös sugárzás differenciált elnyelése, a VCD-spektrum tehát lényegében az (1) képlet szerinti infravörös különbségspektrum, ahol  $A_L(\widetilde{\mathbf{v}})$  a balra,  $A_R(\widetilde{\mathbf{v}})$  a jobbra cirkulárisan polarizált fényben mért infravörös abszorbancia-spektrum.

VCD: 
$$\Delta A(\widetilde{\mathbf{v}}) = A_L(\widetilde{\mathbf{v}}) - A_R(\widetilde{\mathbf{v}})$$
(1)

A ROA lényegében cirkulárisan polarizált fénnyel végzett

Raman-spektroszkópia, melynek négyféle kísérleti megvalósítása lehetséges.<sup>2</sup> Ezek közül a legelterjedtebb az ún. SCP-ROA, mely esetében depolarizált lézerrel történik a besugárzás és a Raman-szórás során létrejövő jobbra- illetve balra cirkulárisan polarizált komponensek különbségét detektáljuk (2).

SCP-ROA:  $\Delta I(\widetilde{v}) = I_R^{\alpha}(\widetilde{v}) - I_L^{\alpha}(\widetilde{v})$  (2)

A kereskedelemben jelenleg kapható egyetlen ROAspektrométer (BioTools Chiral*Raman*-2x) is ezen az elven működik.

DFT-szintű kvantumkémiai számításokkal kiegészítve mindkét módszer alkalmas a királis molekulák térszerkezetének meghatározására. A VCD szélesebb körű elterjedése részben a kereskedelemben korábban megjelent műszereknek (VCD-spektrométer 1997 óta, ROAspektrométer csak 2003 óta kapható), részben a spektrumok kiértékeléséhez szükséges egyszerűbb számítástechnikai háttérnek köszönhető.

A VCD legfontosabb alkalmazási területe a királis molekulák abszolút konfigurációjának és konformációjának folyadékfázisban történő meghatározása a mért és kvantumkémiai módszerekkel számított spektrumok összehasonlítása révén, ennek metodikáját több összefoglaló cikk részletesen tárgyalja.<sup>3-5</sup> A rezgési optikai aktivitás kísérleti megvalósításáról és alkalmazásairól részletesebben egy későbbi MKF összefoglaló cikkben fogunk beszámolni.<sup>6</sup>

#### 3. β-Aminosav egységeket tartalmazó peptidek és peptidmimetikumok szerkezetvizsgálata

peptidek és fehérjék oldatfázisban kialakuló А térszerkezetének felderítése igen nagy jelentőségű a szerkezet és biológiai funkció közti összefüggések megértéséhez. A KSzL keretében régóta folynak a peptidekben kialakuló kanyarszerkezetek azonosítására és spektroszkópiai jellemzésére irányuló kutatások. Az egyik nagy kihívást a 3 aminosavegység által kialakított,  $C_{\gamma}$  intramolekuláris H-kötéssel stabilizált  $\gamma$ -kanyarok rezgési és kiroptikai spektroszkópiai jellemzése és a 4 aminosavegység részvételével létrejövő (potenciálisan  $C_{10}$ H-kötéssel stabilizált) β-kanyaroktól való spektroszkópiai megkülönböztetése jelenti.7 Vizsgálataink tárgyát nem csak természetes, α-aminosavakból felépülő peptidek képzik,

<sup>\*</sup> Tel.: +36-1-3722500; fax: +36-1-3722620; e-mail: evass@chem.elte.hu

hanem a szintetikus β-aminosavak speciális térszerkezetindukáló hatása miatt számos olyan β-aminosav-származék is, mely a peptidmimetikumok közé sorolható.

Az FT-IR- és VCD-spektroszkópia esetén a peptidek gerinckonformációjára leginkább az Amid I (1700–1600 cm<sup>-1</sup>) és Amid II (1570–1500 cm<sup>-1</sup>) spektrumtartomány informatív. Az Amid I rezgés főleg C=O nyújtási, az Amid II rezgés főleg C-N-H síkban deformációs és kisebb mértékben C-N nyújtási hozzájárulást tartalmaz. Az IR- és VCD-sávok mintázatát végeredményben az amidcsoportok rezgéseinek csatolódása és a létrejövő H-kötések következtében kialakuló frekvencia-eltolódások együttesen határozzák meg.

A y-kanyarok vizsgálatát célzottan megtervezett, kisméretű modellpeptideken célszerű végezni, melyek nem képesek βkanyarok kialakítására. Erre igen alkalmasnak bizonyultak a két β-alanin egységet tartalmazó ciklo(Ala-β-Ala-Pro-β-Ala) (1),  $ciklo(Pro-\beta-Ala-Pro-\beta-Ala)$  (2) és  $ciklo(Ala-\beta-Ala-$ Ala-β-Ala) (3) típusú ciklotetrapeptidek, melyek részletes FT-IR- VCD és ECD-spektroszkópiai vizsgálatán alapuló szerkezetét kvantumkémiai számításokkal alátámasztottuk.8 Megállapítottuk, hogy mindhárom vizsgált ciklotetrapeptid gyakorlatilag egyetlen domináns (>99% populációjú) konformerként van jelen az oldatban (1 és 2 esetében acetonitril- $d_3$ , 3 esetében TFE- $d_2$  volt az oldószer). Közös vonásuk, hogy két-két C, H-kötéses inverz γ-kanyart alakítanak ki az alanin illetve prolin aminosavegységek körül (1. ábra). A mért VCD-spektrum mindig a legkisebb energiájú konformer számított spektrumával adta a legjobb egyezést.7



1. Ábra. Az 1-3 ciklopeptid legkisebb energiájú konformerei.8

A VCD-spektroszkópia és a kvantumkémiai módszerek kombinálásán alapuló szerkezetvizsgálat lényegét a **2** ciklotetrapeptid esetében az 2. ábra szemlélteti a három legkisebb energiájú (**A-C**) konformerrel. A két legalacsonyabb energiájú konformer (**A** és **B**) egyaránt kétkét C<sub>7</sub> H-kötéses inverz  $\gamma$ -kanyar-szerkezetet tartalmaz a Pro egységek körül, eltérő azonban a  $\beta$ -Ala aminosavegységük gerinconformációja, így míg az A konformer C<sub>2</sub> szimmetriájú, a **B** konformer aszimmetrikus. Nem meglepő, hogy számított VCD-spektrumaik igen hasonlóak és rendkívül jó egyezést adnak a mért spektrummal, a **B** konformer számított populációja azonban elhanyagolható. A C konformer már csak egyetlen γ-kanyart tartalmaz, mivel az egyik β-Ala-Pro kötése cisz konfigurációjú. Ez a konformer kizárható mind a mért spektrumtól igen eltérő jellegű számított spektruma, mind pedig igen nagy relatív energiája alapján. A 2 ciklopeptid A konformerének nagyfokú szimmetriája miatt erős az amidcsoportok rezgéseinek csatolása, ami a VCDspektrumban jellegzetes sávpárokhoz (couplet) vezet. Az alacsonyabb hullámszámú (1628 cm<sup>-1</sup> körüli) pozitív couplet a γ-kanyarban részvevő, H-kötés-akceptor karbonilok, a nagyobb hullámszámú (1678 cm<sup>-1</sup> körüli) aszimmetrikus pozitív couplet a szabad karbonilok antiszimmetrikus ill. szimmetrikus csatolt rezgéséből származik.



**2. Ábra.** A ciklo(Pro-β-Ala-Pro-β-Ala) **(2)** peptid három legkisebb energiájú **(A-C)** konformere, acetonitril-*d*<sub>3</sub> oldatban mért FT-IR- és VCDspektruma, valamint az **A-C** konformerek számított VCD-spektruma (Gaussian 03, B3LYP/6-31G(d), IEF-PCM acetonitril oldószermodell).

Olyan ciklotetrapeptidek VCD-spektroszkópiai vizsgálatára is sor került, amely csak egy darab β-aminosavegységet tartalmaz, mint például a 3. ábrán látható ciklo(βhomoAla-Pro-Phe-Gly) (**3**).<sup>9</sup> A β-aminosav jelenléte miatt elvileg C<sub>6</sub> és C<sub>8</sub> H-kötéses (ún. pszeudo-γ-kanyar) szerkezeteket is kialakulhatnak. E vegyület VCDspektrumát DMSO-d<sub>6</sub> oldószerben vettük fel, így a konformációanalízis és spektrumszámítás során DMSO IEF-PCM oldószermodellt alkalmaztunk. Azt tapasztaltuk, hogy a β-homo-aminosavegység jelenléte a szomszédos αaminosavegységek körül γ-kanyart (C<sub>7</sub>) indukált, de a várttal ellentétben nem jöttek létre C<sub>6</sub>, C<sub>8</sub> H-kötéses ún. pszeudoγ-kanyar szerkezetek a β-aminosavegységek körül. Ez arra utal, hogy a kisméretű, feszült rendszerekben a C<sub>7</sub> H-kötéses γ-kanyar kedvezőbb. Bár itt nem beszélhetünk egyetlen kizárólagos konformerről, a ciklo(β-homoAla-Pro-Phe-Gly) (**4**) térszerkezetét sikerült minden kétséget kizáróan felderíteni és a mért VCD-spektrumot a 3. ábrán látható **A-C** konformerek számított spektrumának populációval súlyozott összegeként értelmezni.

A spektrumban a legkisebb energiájú **A** konformer hozzájárulása dominál. Ebben a Gly körül jön létre egy klasszikus  $\gamma$ -kanyar, melyet egy további, a Phe aminosavegységen belüli C<sub>5</sub> típusú H-kötés stabilizál így bifurkált H-kötés jön létre (3. ábra). Ez magyarázatot ad a fenilalanin H-kötés akceptor karboniljához rendelhető igen alacsony Amid I frekvenciára (1630 cm<sup>-1</sup>) és a szerkezet stabilitására az egyébként H-kötéseket közismerten felszakító DMSO-ban.



3. Ábra. A ciklo( $\beta$ -homoAla-Pro-Phe-Gly) (4) peptid legkisebb energiájú (A-C) konformerei, valamint a DMSO- $d_6$  oldószerben mért és az A-C konformerek számított VCD-spektruma (Gaussian 03, B3LYP/6-31G(d), IEF-PCM DMSO oldószermodell).

A biológiai szempontból releváns peptidmimetikumok szintézise és jellemzése iránti fokozott érdeklődés tapasztalható. Ezen a téren a Bielefeld-i egyetemmel együttműködve nemrég az 1. Táblázatban feltüntetett, transz-(1*S*,2*S*)-2-amino-ciklopentán- (*transz*-Acpc) vagy transz-(1*S*,2*S*)-2-aminociklohexán-karbonsav (*transz*-Achc) egységeket tartalmazó ciklopeptideket (**5-8**) vizsgáltuk VCD- és ECD-spektroszkópiával, valamint NMR-rel.<sup>10</sup>

1. Táblázat. A vizsgált *transz*-Acpc és *transz*-Achc aminosavegységeket tartalmazó ciklohexa- és ciklopentapeptidek szerkezete.

Peptid	Szekvencia
5	ciklo(Ile-Asp-Ser-transz-Acpc-Leu-Asn)
6	ciklo(Ile-Asp-Ser-transz-Achc-Leu-Asn)
7	ciklo(Asp-Ser-transz-Acpc-Leu-Asn)
8	ciklo(Asp-Ser-transz-Achc-Leu-Asn)

Az elsődleges cél ebben az esetben a *transz*-Acpc/Achc egység térszerkezet-indukáló hatásának felderítése, a várhatóan létrejövő  $C_{11}$  H-kötéssel stabilizált *pszeudo-* $\beta$ -kanyarok kimutatása, valamint a VCD-spektroszkópián és NMR-en alapuló szerkezetvizsgálat hatékonyságának összehasonlítása volt.

A 4. ábra mutatja be a molekuladinamikával kombinált NMR- illetve a kvantumkémiai számításokkal alátámasztott VCD-spektroszkópia alapján javasolt legvalószínűbb konformerek térszerkezetét (kékkel illetve szürkével jelölve), a vegyületek DMSO- $d_6$  oldószerben mért IR- és VCD-spektruma az 5. ábrán látható.

A gerinckonformációt illetően a két módszerrel igen hasonló következtetésekre jutottunk, a legjobb egyezés a ciklohexapeptidek (**5-6**) esetében volt tapasztalható. Mindkét ciklohexapeptidben található egy-egy  $\beta$ -kanyar az Asn és Ile aminosavegységek körül (de ezt csak a 6 esetében stabilizálja C<sub>10</sub> H-kötés), valamint egy-egy *pszeudo*- $\beta$ -kanyar a *transz*-Acpc és transz-Achc részvételével az *i*+2 pozícióban (**5** esetében C<sub>11</sub> H-kötéssel stabilizálva). A ciklopentapeptidek (**7-8**) esetében az NMR nem jelzett elő C<sub>11</sub> H-kötéses *pszeudo*-β-kanyart, a VCD-eredmények viszont arra utaltak, hogy létrejönnek ilyen típusú szerkezetek a *transz*-Acpc-Leu illetve *transz*-Achc-Leu aminosavegységek részvételével.



4. Ábra. A transz-Acpc és transz-Achc tartalmú ciklopeptidek NMR-(kék) illetve VCD-spektroszkópia (szürke) alapján javasolt térszerkezete.<sup>10</sup>



**5.** Ábra. Az **5-8** peptidek DMSO- $d_c$ -ban mért IR- és VCD- (fekete görbe), valamint számított VCD-spektruma (szürke görbe).<sup>10</sup>

A négy ciklopeptid IR- és VCD-spektruma igen hasonló jellegű (5. ábra), függetlenül a ciklopeptid méretétől és a β-aminosav gyűrűtagszámától, ugyanakkor jó egyezés tapasztalható a mért és számított VCD-spektrumok között. Az eredmények felhívják a figyelmet arra, hogy eltérő szerkezetű peptidek is adhatnak hasonló spektrumot, tehát csupán a VCD-spektrumok kvalitatív összehasonlításán alapuló szerkezetbecslés meglehetősen bizonytalan.

Az eddigi tárgyalt példák mind viszonylag kevéssé flexibilis, kisméretű ciklopeptidek térszerkezetének vizsgálatára vonatkoztak. Az ELTE Kémiai Intézetének Molekulaspektroszkópiai Laboratóriumával együttműködve több konformációsan flexibilis, Ac-Xxx-NHMe (vagy Ac-Xxx-NH<sub>2</sub>) típusú diamid rendszer mátrixizolációs és oldatfázisú IR- és VCD-spektroszkópiai vizsgálatára is sor került.<sup>11-14</sup> E modellvegyületek segítségével jól tanulmányozható az oldallánc és a közeg hatása az aminosavegység lokális konformációs preferenciájára.

Igen meglepő eredményre jutottunk egy β-aminosavszármazék, az Ac-β-homoPro-NHMe (**9**) esetében,<sup>14</sup> azt vártuk ugyanis, hogy ez a molekula kiváló modellvegyülete lehet a C<sub>8</sub> H-kötéses *pszeudo-*γ-kanyar szerkezetnek (ahogy az analóg Ac-Pro-NH<sub>2</sub> fő konformere C<sub>7</sub> H-kötéses γ-kanyarszerkezet<sup>11</sup>). Ezzel szemben azt tapasztaltuk, hogy csupán szilárd argonban végzett mátrixizolációs körülmények között alakulnak ki nagy populációval C<sub>8</sub> H-kötéses szerkezetek, oldatban olyan nyitott szerkezetű konformerek dominálnak, melyekben az Ac-β-homoPro peptidkötés *cisz* konfigurációjú. A *cisz* peptidkötéses konformerek még apoláris oldószerben (pl. diklórmetán) meghatározóak voltak, acetonitrilben és DMSO-ban szinte kizárólag ilyen szerkezetet sikerült azonosítani.<sup>14</sup>

Felmerült a kérdés, hogy vajon hogyan viselkedik ez a molekula a biológiai rendszerek natív közegének számító vizes oldatban. A víz – protikus oldószer lévén – jelentősen eltérő szolvatációs tulajdonságokkal rendelkezik a VCDspektroszkópiában leggyakrabban alkalmazott szerves oldószerekhez képest (pl. kloroform, diklórmetán, DMSO, acetonitril, illetve ezek deuterált változatai). Sajnos a víz az igen erős infravörös elnyelése miatt a VCDspektroszkópiában a lehető legrosszabb oldószer, ráadásul deformációs rezgésének elnyelési sávja átfed a peptidek legjellemzőbb Amid I sávtartományával. Az intézetünkben nemrég bevezetett ROA-technika kiváló alternatívát nyújt ebben az esetben, ugyanis az oldószerek közül a víznek van a legkisebb Raman-szórása, így a ROA-spektroszkópiában ideális oldószernek számít.

Az Ac-β-homoPro-NHMe (**9**) vizes oldatban felvett ROAspektrumát és a számított spektrumot a 6. ábrán tüntettük fel. A számításokat Gaussian 09 programmal B3LYP/6-311++G(d,p) elméleti szinten, IEF-PCM oldószermodellel végeztük és 20 lehetséges konformert találtunk. Ez közül csak az 5%-ot meghaladó populációjú **A-D** szerkezeteket vettük figyelembe az elméleti VCD-spektrum súlyozott összegként való kiszámításakor. Azonnal szembeötlő az igen jó egyezés a mért és a számított spektrum között, elsősorban a ROA-spektroszkópiában a peptidek és fehérjék konformációjára leginkább jellemző, ún. kiterjesztett Amid III (kb. 1230–1350 cm<sup>-1</sup>)<sup>15</sup> tartományban. Vízben a



**6. Ábra.** Az Ac-β-homoPro-NHMe (**9**) vizes oldatban felvett ROAspektruma, valamint az A-D konformerek számított ROA-spektrumának populációval súlyozott összege.

legvalószínűbb konformer (**A**) továbbra is ugyanaz, mint a DMSO-ban kapott domináns konformer<sup>14</sup>, de megnő a C<sub>8</sub> Hkötéses *transz* konfigurációjú Ac- $\beta$ -homoPro amidcsoportot tartalmazó konformerek (**B**, **D**) populációja, melyek DMSOban elhanyagolható mennyiségben voltak jelen.

#### 4. Királis ligandumokat tartalmazó kétmagvú Rh(II)komplexek szerkezetvizsgálata

Az utóbbi évtizedekben nagymértékben megnőtt az érdeklődés a kétmagvú Rh(II) komplexek iránt számos kémiai reakcióban kifejtett katalitikus tulajdonságuk illetve potenciális tumorellenes hatásuk miatt. Jelenleg a KSzL egyik fő kutatási irányát képezi a diródium(II)-tetraacetátból és különböző védett aminosavakból (pl. Cbz-Phe-OH, Ac-Phe-OH) ligandumcserével kiinduló, lejátszódó királis komplexek szintézise, kromatográfiás elválasztása és kiroptikai spektroszkópiai módszerekkel történő szerkezetvizsgálata.16-17 A reakció során különböző királis ligandumtagszámú  $Rh_{2}L_{n}(OAc)_{4-n}$  (n=1–4) komplexek keletkeznek, a fő termék összetétele a reakciókörülmények és a reaktánsok arányának célzott megválasztásával szabályozható.16 Ezek közül VCD-spektroszkópiával legrészletesebben az egy királis ligandumot tartalmazó  $Rh_2(O-Phe-Cbz)(OAc)_3$  (10) és  $Rh_2(O-Phe-Ac)(OAc)_3$  (11) komplexeket jellemeztük (7. ábra) acetonitril oldatban.

Megállapítottuk, hogy a Cbz-Phe-O<sup>-</sup> és Ac-Phe-O<sup>-</sup> ligandumok karboxilátcsoportjaikon keresztül ekvatoriális pozícióban épülnek be áthidalt bidentát módon (egy-egy acetátligandum helyére), az axiális pozíciókba (a Rh-Rh kötést tekintve a komplex tengelyének) acetonitril oldószermolekulák koordinálódnak N-atomjaik nemkötő elektronpárja révén (7. ábra).

Természetesen, a beépülő királis ligandum flexibilis, a 7. ábra a két komplex legkisebb energiájú konformerének szerkezetét mutatja be. A vegyületek egyes konformerei számított VCD-spektrumának populációval súlyozott összege igen jól egyezik a mért spektrummal (7. ábra). A **10** komplex legkisebb energiájú konformerében a karbobenziloxi (Cbz) vedőcsoport benzolgyűrűje az egyik koordinált acetonitril molekula C-H kötésének szomszédságában található. Ez arra utal, hogy az acetonitril hidrogénatomja kölcsönhat a benzolgyűrű  $\pi$  elektronrendszerével, tehát a konformert egy  $\sigma$ - $\pi$  kölcsönhatása is stabilizálhatja.



7. Ábra. A Rh<sub>2</sub>(O-Phe-Cbz)(OAc)<sub>3</sub> (10) és Rh<sub>2</sub>(O-Phe-Ac)(OAc)<sub>3</sub> (11) komplexek acetonitril- $d_3$  oldószerben mért (folytonos vonal) és számított (szaggatott vonal) VCD-spektruma, valamint legkisebb energiájú konformereinek szerkezete.

A 10 komplex VCD-spektruma drasztikusan megváltozik kloroformban (8. ábra). A legszembetűnőbb, hogy a Cbz védőcsoport acetonitrilben 1724 cm<sup>-1</sup>-nél mért igen gyenge uretánsávja kloroformban nagymértében eltolódik és 1670 cm<sup>-1</sup> körül egy intenzív, szimmetrikus negatív couplet-et ad.



**8.** Ábra. A Rh<sub>2</sub>(O-Phe-Cbz)(OAc)<sub>3</sub> (**10**) komplex kloroform-*d* oldószerben mért VCD-spektruma, valamint a kloroformban kialakuló szupramolekuláris asszociáció lehetséges szerkezete.

Az alacsony frekvencia az uretáncsoport karboniljának koordinálódására, a szimmetrikus couplet erős csatolásra utal, ami a molekulán belül nem képzelhető el. Mindez megmagyarázható, ha feltételezzük, hogy intermolekuláris kölcsönhatás jön létre az uretáncsoport karbonil oxigénje és egy szomszédos komplexmolekula Rh atomja között a betöltetlen axiális pozícióban (a kloroform az acetonitrillel ellentétben nem koordinálódik a Rh-hoz, ezért axiális pozíciók szabadok), és az így kialakult dimerek végül szupramolekuláris komplexként stabilizálódnak a 8. ábrán bemutatott koordinációs séma szerint.

#### 5. Következtetések

A cikkben bemutatott példák alapján egyértelműen kijelenthető, hogy mára a VCD-spektroszkópia kiforrott szerkezetvizsgálati módszerré vált és életképes alternatívát jelent az NMR és röntgenkrisztallográfia mellett. A peptidek és peptidmimetikumok terén végzett kutatásaink rámutatottak arra, hogy egy térszerkezeti elem különböző kémiai környezetben eltérő spektrumot adhat és különböző szerkezetek is eredményezhetnek hasonló mintázatot a VCDspektrumban, így a feltételezett szerkezetet kvantumkémiai számításokkal kell igazolni. A biomolekulák natív közegben történő vizsgálatát nagymértékben meg fogja könnyíteni a nemrég bevezetett ROA-spektroszkópia, mely a KSzL egyik meghatározó kutatási irányát fogja képezni.

#### Köszönetnyilvánítás

Kutatásaink pénzügyi támogatását az OTKA K81175, TÁMOP 4.2.1./B-09/KMR-2010-0003, TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0030 és KMOP-4.2.1/B-10-2011 projektek biztosították.

#### Hivatkozások

- Hollósi, M.; Majer, Zs.; Vass, E. Magyar Kémiai Folyóirat 2006, 112, 117–122.
- 2. Nafie, L. A. *Vibrational optical activity. Primciples and applications*, John Wiley & Sons: Chichester, **2011**.
- Freedman, T. B.; Cao, X.; Dukor R. K.; Nafie, L. A. *Chirality* 2003, 15, 743–758.
- 4. Stephens, P. J.; Devlin, F. J.; Pan, J. *Chirality* **2008**, *20*, 643–663.
- Magyarfalvi, G.; Tarczay, G.; Vass, E. WIREs Comput. Mol. Sci. 2011, 1, 403–425.
- Tarczay, Gy.; Vass E.; Góbi, S.; Magyarfalvi, G. Magyar Kémiai Folyóirat 2012, közlésre beküldve.
- Vass, E.; Hollósi, M.; Besson, F.; Buchet, R. Chem. Rev. 2003, 103, 1917–1954.
- Vass, E.; Majer, Zs.; K
   *ö*halmy, K.; Holl
   *ó*si, M. *Chirality* 2010, 22, 762–771.
- Vass, E.; Kőhalmy, K.; Majer, Zs.; Hollósi, M. *In Peptides* 2004; Flegel, M.; Fridkin, M.; Gilon, Ch.; Slaninova, J. Eds.; Kenes International: Geneva, 2005, pp 1037–1038.
- Vass, E.; Strijowski, U.; Wollschläger, K.; Mándity, I. M.; Szilvágyi,G.; Jewgiński, M.; Gaus, K.; Royo, S.; Majer, Zs.; Sewald, M.; Hollósi, M. J. Peptide Sci. 2010, 16, 613–620.
- Pohl, G.; Perczel, A.; Vass, E.; Magyarfalvi, G.; Tarczay, Gy. Phys. Chem. Chem. Phys. 2007, 9, 4698–4708.
- 12. Pohl, G.; Perczel, A.; Vass, E.; Magyarfalvi, G.; Tarczay, Gy. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 2126–2133.
- Tarczay, Gy.; Góbi, S.; Vass, E.; Magyarfalvi, G. Vib. Spectrosc. 2009, 50, 21–28.
- Góbi, S.; Knapp, K.; Vass, E.; Majer, Zs.; Magyarfalvi, G.; Hollósi, M.; Tarczay, Gy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010, *12*, 13603–13615.
- Zhu, F.; Isaacs, N. W.; Hecht, L.; Barron, L. D. Structure 2005, 13, 1409–1419.
- Szilvágyi, G.; Hollósi, M.; Tölgyesi, L.; Frelek, J.; Majer, Zs. Tetrahedron: Asymmetry 2008,19, 2594–2599.
- Szilvágyi, G.; Majer, Z.; Vass, E.; Hollósi, M. Chirality 2011, 23, 294–299.

#### Application of VCD spectroscopy in the structure elucidation of peptides, peptidomimetics and chiral transition metal complexes

The main research profile of the Laboratory for Chiroptical Structure Analysis at the Eötvös Loránd University is the structure investigation of chiral molecules by chiroptical spectroscopic methods. Traditionally, a combination of electronic circular dichroism (ECD), FT-IR, and occasionally NMR was applied and the steric structure of a great number of peptides, proteins, peptidomimetics (and their metal complexes) was determined based on this complex spectroscopic approach. With the purchase of the first vibrational circular dichroism (VCD) spectrometer in Hungary in 2003 our research became gradually focused on the VCD technique.

VCD is one of the two forms of vibrational optical activity (VOA), and is based on the differential absorption of left- and right circularly polarized radiation by chiral molecules. The other, less widespread form of VOA, known as Raman optical activity (ROA), measures the differential scattering of the right- and left circularly polarized light. The ROA technique has only been recently introduced at our Institute.

This paper gives an overview of our recent results in the field of structure investigation of peptides, peptidomimetics and chiral transition metal complexes based on the VCD technique combined with quantum chemical calculations.

One of the challenges in the structure investigation of peptides is the reliable spectroscopic detection and discrimination of different turn structures. There are two major types of turns,  $\beta$  and  $\gamma$ , out of which the latter, stabilized by  $C_7$  intramolecular H-bonds (IHBs) are less extensively characterized. Cyclic tetrapeptides containing two  $\beta$ -Ala residues, such as cyclo(Xxx- $\beta$ -Ala-Yyy- $\beta$ -Ala) (where Xxx = Ala or Pro), proved to be very good  $\gamma$ -turn model compounds. We demonstrated by VCD spectroscopy and quantum chemical calculations that these peptides are present in solution practically as a single conformer containing two y-turns centered at Ala or Pro residues. In a cyclic tetrapeptide with only one  $\beta$ amino acid residue, such as cyclo(β-homoAla-Pro-Phe-Gly), also the y-turns were the most characteristic structural elements but in this case an equilibrium of several conformers was observed. In the major conformer the classic  $\gamma$ -turns centered at Gly was stabilized by an additional C<sub>s</sub> IHB (within the Phe residue) in a bifurcated Hbonding scheme which explained the relatively high stability of the structure even in DMSO. The experimental VCD spectrum was in very good agreement with the population-weighted average of the calculated spectra of individual conformers. Although the β-amino acid residues may form C6 or C8 IHBs (the latter known as pseudo- $\gamma$ -turn), we found that they rather induced C<sub>7</sub> H-bonded  $\gamma$ -turns centered at the neighboring  $\alpha$ -amino acids. This suggests that in such small-sized, conformationally restricted cyclic tetrapeptides the  $\gamma$ -turn (C<sub> $\gamma$ </sub>) is the preferred type of turn structure.

The increasing interest in peptidomimetics of biological relevance prompted us to synthesize and characterize by ECD, VCD and NMR a series of cyclic hexa- and pentapeptides comprising *trans*-2-aminocyclopentane carboxylic acid (*trans*-Acpc) or *trans*-2aminocyclohexane carboxylic acid (*trans*-Acpc) or *trans*-2aminocyclohexane carboxylic acid (*trans*-Achc) residues (Table 1). The main goal of this work, performed in collaboration with the University of Bielefeld, was to extend our knowledge on the H-bond-forming and turn-stabilizing (e.g. C<sub>11</sub> H-bonded *pseudo*- $\beta$ -turn inducing) ability of the above cyclic  $\beta$ -amino acids. This study also offered a comparison between the effectiveness of VCD- and NMR-based structure analysis methods supported by quantum chemical calculations and MD simulations, respectively. The pentapeptides were found to contain a *pseudo*- $\beta$ -turn, the hexapeptides on the other hand showed both a  $\beta$ - and a *pseudo*- $\beta$ -turn (stabilized or not by C<sub>10</sub> and C<sub>11</sub> H-bonds, respectively). Despite the evident structural differences, the IR and VCD spectra of these peptides were very similar (as predicted by quantum chemical calculations), suggesting that the VCD spectra of these peptides are primarily determined by the *trans*-configuration of Acpc and Achc residues, respectively, and the local conformation of the *pseudo*- $\beta$ -turns. The structural features derived from the two techniques (VCD and NMR) were in good agreement which underlines the applicability of VCD in studying the conformation of small cyclic peptides.

Beside cyclic peptides, in collaboration with the Laboratory of Molecular Spectroscopy of our Institute we investigated a series of diamide models of type Ac-Xxx-NHMe (or Ac-Xxx-NH<sub>2</sub>) by FT-IR and VCD in organic solvents or under matrix isolation conditions. We obtained rather surprising result in the case of Ac-βhomoPro-NHMe. Unlike its α-amino acid analogue (Ac-Pro-NH<sub>2</sub>) which preferentially adopted a  $C_{\gamma}$  H-bonded  $\gamma$ -turn conformation, this model was present in organic solvents predominantly in an open form with cis configuration of the Ac-\beta-homoPro peptide bond. Large populations of  $C_8$  H-bonded *pseudo-y*-turn structures could only be detected in solid argon matrix. A similar behavior was found in water as in organic solvents (the main conformer was the same as in DMSO) but with somewhat increased populations of C<sub>8</sub> H-bonded structures. Due to the high infrared absorption of water in the spectral region of interest this model compound was studied in aqueous solution by the recently introduced ROA spectroscopy instead of VCD. A very good agreement was found between the theoretical and calculated ROA spectra considering the four most abundant conformers. This study showed the advantage of ROA spectroscopy in the structure investigation of biomolecules in native (aqueous) environment.

Recently there is an increasing interest in dinuclear rhodium(II) complexes because of their catalytic activity in many reactions and potential applications as anticancer agents. Starting from dirhodium(II) tetraacetate and N-protected amino acids a series of chiral dirhodium complexes of type  $Rh_2L_n(OAc)_{4-n}$  (n=1–4) were synthesized, separated and studied by chiroptical spectroscopic methods. Out of these complexes Rh<sub>2</sub>(O-Phe-Cbz)(OAc)<sub>3</sub> and Rh<sub>2</sub>(O-Phe-Ac)(OAc)<sub>3</sub> are the most thoroughly characterized. By VCD spectroscopy and molecular modeling we showed that the chiral ligand is equatorially bound to the dirhodium unit via the carboxylate group in a bridging bidentate manner (replacing an acetate ligand). In acetonitrile solution the two axial positions are blocked by coordinated solvent molecules. The theoretical VCD spectra, obtained as population-weighted sums of the calculated spectra of individual conformers, are in excellent agreement with the experimental ones. This way VCD gave unique information on the steric structure of Rh<sub>2</sub>(O-Phe-Cbz)(OAc)<sub>2</sub> and Rh<sub>2</sub>(O-Phe-Ac)(OAc)<sub>3</sub>. In the lowest energy conformer of the Rh<sub>2</sub>(O-Phe-Cbz)(OAc)<sub>3</sub> complex the phenyl ring of the protecting group is situated in the vicinity of a C-H hydrogen of an axially bound acetonitrile molecule, suggesting a  $\sigma$ - $\pi$  interaction. The drastic spectral change observed in chloroform in the case of Rh<sub>2</sub>(O-Phe-Cbz)(OAc)<sub>2</sub> can be explained by formation of supramolecular associates via the urethane and/or carboxylate oxygen atoms bound to the free axial positions (unblocked by chloroform) of neighboring complex molecules.

One can conclude that VCD developed into a well-established technique providing a viable alternative to NMR and X-ray diffraction in the structure analysis of chiral compounds.

### Alacsony oldószer- és mintaigényű minta-előkészítési módszer többgyűrűs aromás szénhidrogének gázkromatográfiás meghatározásához

#### LEZSÁK Gábor,<sup>a</sup> RIKKER Tamás,<sup>b</sup> TORKOS Kornél<sup>a</sup> és EKE Zsuzsanna<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup>Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Elválasztástechnikai Kutató és Oktató Laboratórium, Pázmány Péter sétány 1/A, 1117 Budapest, Magyarország

<sup>b</sup> WESSLING Nemzetközi Kutató és Oktató Központ Közhasznú Nonprofit Kft., Fóti út 56, 1047 Budapest, Magyarország

#### 1. Bevezetés

Az ELTE Kémiai Intézetében működő Elválasztástechnikai Kutató és Oktató Laboratórium (EKOL) 2003 októberében jött létre. Alapítói és egyben jelenlegi fenntartói a WESSLING Nemzetközi Kutató és Oktató Központ Nonprofit Kft. és az ELTE Kémiai Intézete. A laboratórium közel egy évtizedes működése kitűnő példája annak, hogy miként vonható be a magántőke az egyetemi oktatásba és kutatásba. Az EKOL egyik fenntartójaként a WESSLING jelentős mértékben támogatja az elválasztástechnika elméleti és gyakorlati oktatását a Kémiai Intézetben az órarendi oktatás révén éppúgy, mint szakdolgozók és doktoranduszok kutató munkájának lehetővé tételével. Mindeközben a kutatási eredmények hasznosítása mellett a WESSLINGnek lehetősége nyílik kölcsönösen megismerkedni az elválasztástechnika iránt érdeklődő végzősökkel.

Az EKOL kutatási tevékenységét két fő csoportra oszthatjuk. Egyfelől eszközparkunk és szaktudásunk együttműködések keretében hozzáférhető más kutatócsoportok munkájának analitikai támogatásához. Másfelől érdeklődésünk elsődleges fókusza a gáz- és a folyadékkromatorgáfiás módszerek fejlesztése beleértve természetesen a hozzájuk tartozó mintaelőkészítési lépéseket is. Az új módszerek kidolgozása során az analitikai teljesítményjellemzők (kimutatási határ, mérési tartomány, torzítatlanság, ismételhetőség...) mellett mindig igyekszünk tekintettel lenni a környezetvédelmi és gazdaságossági szempontokra is.

Jelen közleményben egy, az utóbbi szempontoknak is kiválóan megfelelő gázkromatográfiás (GC) módszert mutatunk be, mivel úgy véljük, hogy tevékenységünk bemutatására alkalmasabb egy adott fejlesztésünk részletes ismertetése, mint az elmúlt évek szerteágazó fejlesztéseinek felületes felsorolása.

#### 2. A többgyűrűs aromás szénhidrogének

A többgyűrűs aromás szénhidrogének (polycyclic aromatic hydrocarbons; PAH) a szerves szennyezők közé tartoznak. Kondenzált gyűrűkből állnak, és nem tartalmaznak heteroatomot, vagy oldalláncot. Magas hőmérsékleten (T>700°C), természetes vagy antropogén folyamatok hatására (égetés, elgázosítás, hőbomlás, stb.) keletkeznek széntartalmú vegyületekből. A környezetben elsősorban a talajban és üledékben fordulnak elő. Dúsulnak továbbá olajban, szenekben és kátrányos lerakódásokban valamint fontos komponensei a levegőben szuszpendált apró szemcseméretű anyagoknak is. A levegőben terjedő PAHok (viszonylag csekély vízoldhatóságuk ellenére) a felszíni vizekben - felületaktív anyagok közreműködésével - oldatba kerülnek, más részük a növények levelére kondenzálódik. A felszíni vizekből bejuthatnak az ivóvízbe és az élelmiszerekbe is.

Számos tanulmány bizonyítja, hogy létezik korreláció a PAH expozíció és rákos megbetegedések kialakulása között.<sup>1,2</sup> A többgyűrűs aromás szénhidrogének közül több is bizonyítottan karcinogén, mutagén és teratogén hatással rendelkezik.<sup>3,4</sup>

### 3. A többgyűrűs aromás szénhidrogének meghatározása ivóvíz-mintákban

A fentiek alapján nem meglepő, hogy a PAH-ok mennyiségének monitorozása környezeti mintákban fontos, folyamatos és nagy mintaszámot eredményező feladat. A feladat megoldására természetesen már sokféle válasz született, melyek között éppúgy találunk gáz-, mint folyadékkromatográfiás elválasztást alkalmazókat. Ezek közül bármelyiket is válasszuk a minta-előkészítés meghatározó lépése az analitikai módszerünknek.

Az MSZ 1484-6:2003 szabvány szerint a minta-előkészítés folyadék-folyadék extrakcióval (LLE) végezhető el. Felszíni vizek PAH tartalmának meghatározásához 250 - 2000 ml térfogatú mintát kell több részletben, összesen 30-90 ml apoláris oldószerrel, pl. n-hexánnal extrahálni, majd ezt kb. 1 ml térfogatra koncentrálni. E lépés megvalósítható rotációs vákuumbepárlóval, vagy Kuderna – Danish féle, esetleg nitrogénáramban végzett bepárlással. A tömegspektrometriás detektorral (MSD) felszerelt gázkromatográfba 1 µl koncentrátumot áramlás leosztás mentes (splitless) üzemmódban injektálva várhatóan 1-5 ng/l-es alsó meghatározási határ (LOQ) érhető el. Ez a technika tehát megfelelően alacsony kimutatási határt biztosít, egyszerű és kellően robosztus, korszerűsége viszont megkérdőjelezhető. A módszer hátránya, hogy nem lehet automatizálni, nagy az idő- és a mintaigénye, továbbá nagy mennyiségű veszélyes hulladékot termel.

A szilárd fázisú extrakció (SPE) szintén széles körben elterjedt. Alkalmazható PAH-ok szelektív dúsítására akár

\* Tel.: +36-1-372-2500/1623; fax: +36-1-372-2592; e-mail: eke.zsuzsanna@wirec.eu
vízmintákból, akár más, bonyolultabb mátrixokból is. Sokféle SPE patron létezik, ezek közül PAH-ok vízből történő meghatározásához a legjellemzőbb a szilika alapú oktadecil (C18) töltet alkalmazása. A töltetet metanollal kondícionálják, majd metanol vagy i-propanol 10%-os vizes oldatával ekvilibráliák. A felhasznált mennyiségek eltérnek. de mindkét lépésnél minimum a töltet térfogatának kétszerese és 10 ml közötti értéket javasolnak a szerzők. A megfelelő kimutatási határ eléréséhez 500-1000 ml mintát kell a töltetre felvinni. Az elúcióhoz többségében diklórmetánt vagy diklórmetán : n-hexán, esetleg diklórmetán : metanol 1:1 arányú elegyét alkalmazzák. Az eluálószer térfogata 2 es 15 ml közötti. Szükség szerint további töményítési lépésként nitrogénáram alatt történő bepárlást lehet alkalmazni.5,6,7 A módszer meglehetősen idő- es munkaerő-igényes, de automatizálására már létezik megoldás.

A szilárd fázisú mikro-extrakció (SPME) kevésbé elterjedt a PAH-ok minta-előkészítési lehetőségei között annak ellenére, hogy praktikus, manuálisan és automatizálva is alkalmazható, oldószermentes, kis mintaigényű technika. Az extrakciót követő deszorpciós lépés a gázkromatográf injektorában kivitelezhető, ilv módon a minta-előkészités a mintabemérését követően akár emberi beavatkozás nélkül megvalósítható. PAH-ok SPME-s meghatározásához a polidimetilsziloxán (PDMS) a legszélesebb körben elterjedt abszorbens. Ez a fázis lehetővé teszi az Amerikai Egyesült Államok Környezetvédelmi Hivatalának (US EPA) előírásai szerint vizsgálandó 17 PAH egyidejű, jó kimutatási határokkal történő meghatározását.8 A technika hátránya az abszorpciós fázist hordozó szálacska sérülékenysége és a technikát jellemző viszonylag gyengébb ismételhetőség. Az SPME technika egyensúlyi folyamatokon alapuló diffúzió-kontrollált eljárás, ennek megfelelően a lehető legkisebb kimutatási határ és a viszonylag jó robosztusság elérésének érdekében, az egyensúly beállása a folyadék es a polimer fázis között elengedhetetlen. Az egyensúly kialakulásához szükséges idő (45-90 perc) függ a hőmérséklettől, a kevertetéstől és a mérendő komponens anyagi minőségétől.9,10,11

Akeverőbabás extrakció (SBSE) elve hasonlít a SPME-éhez: egy keverőbaba üvegtestének felületére kémiailag rögzített polimer réteg szelektíven abszorbeálja a célvegyületeket. Az extrakciós lépés és a szárítás után a komponensek egy speciális eszközzel deszorbeálhatóak közvetlenül a gázkromatográf injektorába. A PAH mérésre kidolgozott módszerek PDMS fázist alkalmaznak. E technikával is megfelelően alacsony kimutatási határokat lehet elérni. Ugyanakkor a nagyobb mintakapacitást biztosító, vastagabb PDMS fázis mérete miatt az egyensúly beállásához elegendő extrakciós idő általában több óra.<sup>12,13,14</sup>

Napjainkban megjelent egy új mintaelőkészítési technika, a MEPS (Microextraction by Packed Sorbent), amely az előzőekben említett módszerek hibáinak kiküszöbölésével kitűnő alternatívát jelenthet. A technika elve megegyezik a SPE-ével. Tulajdonképpen az SPE miniatürizált változata. A MEPS tű 2-3 mg szilárdfázisú töltetet tartalmaz, amely lehet C2, C8, C18, ioncserélő, vagy módosítatlan szilikagél. Ezt a hegyet lehet csatlakoztatni 10 - 250 µl-es, esetleg nagyobb térfogatú fecskendőhöz. A minta oldatok átpumpálásakor a célvegyületek abszorbeálódnak az állófázison. A megfelelő oldószeres mosással a zavaró anyagok egy részét eltávolíthatjuk, ezután közvetlenül eluálhatunk folyadékkromatográf injektorába vagy nagytérfogatú injektálásra alkalmas GC injektorba.<sup>15</sup> A módszer előnye, hogy csatlakoztatható automata mintaadagolókhoz, ezáltal költséghatékonyan lehet automatizálni. További előnye, hogy kevesebb időt, mintát és oldószert igényel, mint a korábbi módszerek. Korlátozottan illékony szerves vegyületek meghatározásához sikeresen alkalmazták már ezt a minta-előkészítési módot. Példaként említhetjük a heroin függők vérplazmájából ópiátok kimutatását,<sup>16</sup> atorvasztatin és metabolitjainak analízisét biológiai mintákból<sup>17</sup> és gyógyszermaradványok kimutatását környezeti vizekből.<sup>18</sup>

# 4. Kísérleti rész

# 4.1. Anyagok, eszközök

A 17 célkomponenst tartalmazó ciklohexános referencia oldatot, amelynek a koncentrációja minden komponensre 10 µg/ml, a Dr Ehrenstorfer Gmbh-tól (Augsburg, Németország) vásároltuk. Belső standardként az Absolute Standards Inc (Hamden, CT, USA) által forgalmazott "Semivols Internal Standards mix"-et használtuk. A szerves nyomanalitikai tisztaságú n-hexánt és SupraSolv minőségű metanolt és izo-propanolt a Merck Hungary-tól (Budapest, Magyarország) kaptuk. Az adalékolt minták elkészítéséhez desztillált vizet használtunk.

A módszerfejlesztéshez kezdetben lángionizációs detektorral felszerelt (FID) Agilent 7890 GC-t (Agilent, Palo Alto, USA), később Agilent 5975 tömegszelektív detektorral (MSD) ellátott ugyancsak Agilent 7890-es GC-t és Gerstel MPS 2 XL (Gerstel, Müllheim a.d.R, Németország) automata mintaadagolót használtunk. A nagytérfogatú injektáláshoz Peltier hűtéssel ellátott Gerstel CIS 4 injektort alkalmaztunk mindkét készülék esetén. Állófázisnak a HP-5 MS (30m x 0,25mm x 0,25um) oszlopot (Agilent, Palo Alto, USA) választottuk. A minta-előkészítéshez az SGE (Ringwood, Australia) által forgalmazott C8 módosított szilikagél alapú MEPS fázist használtuk 100 μl-es gáztömör fecskendőhöz csatlakoztatva.

# 4.2. Kromatográfiás körülmények

Bár a kidolgozott módszer a megfelelő szelektivitás elérése érdekében tömegszelektív detektorra épül a referencia oldatokkal végzett módszerfejlesztési lépések jelentős részét FID-del felszerelt készülékkel végeztük. A két készülék a detektorukat leszámítva mindenben egyezik, ezért a GC-FID készüléken beállított injektálási paraméterek és optimált mintaelőkészítési lépések módosítás nélkül átvihetők a tömegspektrométerrel szerelt készülékre. A módszer kidolgozás egyes lépései (pl ionforrás paraméterek beállítása), a validálás és a minták mérései a GC-MS készülékkel történtek.

A nagytérfogatú injektálási módszer fejlesztéséhez referenciaként használt méréseknél ún. hideg splitless üzemmódban injektáltunk 1 µl oldatot. Az injektort 10°Cról 720°C/perc sebességgel fűtöttük fel 310°C-ig. Ezt a hőmérsékletet az injektor 5 percig tartotta. Az oszloptér hőmérséklete a hőmérséklet program első 2 percében 40°C volt. Ezt 20°C/perc sebességgel 320°C-ig emeltük és 10 percig tartottuk. A FID-et 325°C-on 20 Hz mintavételi frekvenciával üzemeltettük.

1. Tábláz:	at.
------------	-----

Név	Célion (T)	Minősítő ion (Q)	Arány (T/Q)
	[amu]	[amu]	[%]
naftalin-d8	136	-	-
naftalin	128	127	13
nartann	120	102	8
2-metil-naftalin	142	141	83
2-meth-nantann	142	115	27
1-metil-naftalin	142	141	88
		115	28
acenaftilén	152	153	18
		76	10
acenaftén-d10	164	-	-
acenaftén	153	152	54
		76	18
fluorén	166	165	90
		139	8
fenantrén-d10	188	-	-
fenantrén	178	176	19
		152	9
antracén	178	176	19
		152	8
fluorantén	202	200	19
		101	11
pirén	202	200	19
		101	13
benzo(a)antracén	228	226	29
1 . / 112	240	114	15
krizen-d12	240	-	-
krizén	228	226	30
		114	12
benzo(b)fluorantén	252	250	28
		250	10
benzo(k)fluorantén	252	230	10
		250	24
benzo(a)pirén	252	230	54 21
perilén_d12	264	120	21
permen-ur2	204	- 276	-
dibenzo(a,h)antracén	278	138	53
		274	17
benzo(g,h,i)perilén	276	138	24
		150	24

Az egy lépcsős lefúvatást alkalmazó nagytérfogatú injektálás során 100 μl oldatot injektáltunk 1,5 μl/másodperc sebességgel ún. "solvent vent" üzemmódban. Az injektort 1,10 percig tartottuk 10°C-on, majd 720°C/perc sebességgel fűtöttük 310°C-ig, amit 5 percig tartottunk. A split ágat 1,1 percig tartottuk nyitva 150 ml/perces áramlási sebesség mellett, majd az injektálás befejeztével 3,5 percnél nyitottuk ki újra. Az oszloptér hőmérséklete a hőmérséklet program első 3,5 percében 40°C volt. Ezt 20°C/perc sebességgel 320°C-ig emeltük és 10 percig tartottuk. A FID-et 325°C-on 20 Hz mintavételi frekvenciával üzemeltettük.

A két lépcsős lefúvatást alkalmazó nagytérfogatú injektálás során 100 µl oldatot injektáltunk 1,6 µl/másodperc sebességgel ún. "solvent vent" üzemmódban. Az injektort 1,04 percig tartottuk 10°C-on, majd 720°C/perc sebességgel fűtöttük 70°C-ig, amit 3 percig tartottunk, aztán újra 720°C/ perc sebeséggel tovább fűtöttünk 310°C-ig, amit 5 percig tartottunk.. A split ágat 1,04 percig tartottuk nyitva 160 ml/perces áramlási sebesség mellett, majd az injektálás befejeztével 6,96 percnél nyitottuk ki újra. Az oszloptér hőmérséklete a hőmérséklet program első 6,96 percében 40°C volt. Ezt 20°C/perc sebességgel 320°C-ig emeltük és 10 percig tartottuk. A FID-et 325°C-on 20 Hz mintavételi frekvenciával üzemeltettük.

A kidolgozott módszer: 1,5 ml mintához 0,6 V/V% izopropanolt adunk és lezárt fiolában az automata tálcájára helyezzük. A mintából 60-szor 100 µl-nyit pumpálunk át a C8-as MEPS tölteten 10 µl/másodperc sebességgel. A kondícionáláshoz és ekvilibráláshoz rendre 200 - 200 µl n-hexánt, izo-propanolt és vizet használunk. Az elúciót 3szor 40 µl n-hexánnal végezzük, az injektálás előtt legalább 10 percet várunk. A felső fázisból 100 µl-nyit injektálunk a két lépcsős lefúvatást alkalmazó nagytérfogatú injektálás paramétereinek megfelelően. Az oszloptér hőmérsékletét 6,96 percig tartjuk 40°C-on, majd 20°C/perc sebeséggel emeljük 320°C-ig, amit 10 percig tartunk. A GC-t az MSD-vel összekötő szakaszt 320°C-on tartjuk és 70 eV-os ionizációs energia mellett szelektív ionkövetéses (SIM) üzemmódban mérünk.

A belső standardok és a mérendő komponensek cél- és minősítő ionjainak tömege és azok intenzitás arányai az 1. táblázatban szerepelnek.

### 4.3. Nagytérfogatú injektálás

Mivel a MEPS állófázison abszorbeált anvagok telies eluálásához nagyobb mennyiségű oldószerre van szükség, mint amennyit a hagyományos split/splitless technikával injektálni lehet nagytérfogatú injektálás mellett döntöttünk. Az ideális injektálási beállítások kerese során minden komponensre nézve 0,1 µg/ml koncentrációjú PAH csúcsterületeket egy referencia kromatogram n hexános csúcsterületeihez viszonyítottuk, belső standardos korrekció nélkül. A referencia kromatogramot 1 µl 10 µg/ml koncentrációjú oldatot ún. hideg splitless módú injektálásával vettük fel, így biztosítva, hogy a referencia és a vizsgált körülmények között azonos legyen az injektorba jutatott mérendő komponens anyagmennyisége.

Programozhatóan fűthető injektort alkalmazva a nagytérfogatú injektálás klasszikus módszerének tekinthető,

az ún. "solvent vent" injektálás. Ilyenkor a mintát alacsony hőmérsékleten juttatjuk az injektorba, miközben a split ág nyitva van. Megfelelő gázáramlást biztosítva a minta oldószere a split ágon keresztül eltávolitható, majd a split ág zárását követően a kevésbé illékony mérendő komponensek az injektor felfűtésével juttathatók az oszlopra. A módszer alkalmazásának elengedhetetlen feltétele, hogy számottevő különbség legyen a minta oldószerének és a legillékonyabb mérendő komponensnek az illékonysága között.

A nagytérfogatú injektálás ideális beállításainak megállapításakor elsődleges szempont, hogy az oldat kiáramlása a fecskendőből elég lassú legyen ahhoz, hogy a folyadék a liner falán filmet képezzen. Ehhez nyújt segítséget az alábbi összefüggés, amely megadja az injektálás optimális sebességét adott paraméterek mellett.<sup>19</sup>

$$= \frac{M * P_s}{\rho * R * T_a} * \frac{P_a}{P_{inlet}} * F_{split}$$

Ĩ

Ahol I az injektálás sebessége [ml/perc], M az oldószer moláristömege [g/mol],  $\mathbf{P}_{a}$  az oldószer gőznyomása az injektor kiindulási hőmérsékletén [bar],  $\boldsymbol{\rho}$  az oldószer sűrűsége [g/ml], R az egyetemes gázállandó [ml\*bar]/[mol\*kg],  $\mathbf{T}_{a}$  az injektor kiindulási hőmérséklete [K],  $\mathbf{P}_{a}$  a légköri nyomás (általában 1,013 bar),  $\mathbf{P}_{inlet}$  a fejnyomás és a légköri nyomás összege,  $\mathbf{F}_{split}$  az áramlási sebesség a split ágon [ml/perc].

A következő paramétereket az elérhető legkisebb értékeken rögzítettük: az injektor kezdeti hőmérsékletét 10°C-nak, a fejnyomást 0 bar-nak választottuk. Ezután optimáltuk a lefúvatás áramlási sebességét és az injektálási sebességet. Az előbbi hatását vizsgáltuk 80, 120 és 150 ml/perc-nél. Az injektálási sebesség hatását pedig az előbbi egyenletből kapott értéknél, valamint annak 1,2; 1,4 és 1,5-szörösénél vizsgáltuk. Sajnos a legillékonyabb komponens, a naftalin, visszanyerése legjobb esetben sem érte el az 50%-ot.



 Ábra. A két lépcsős lefűvatást alkalmazó nagytérfogatú injektálás menete: a) Injektálás ideje, az injektált mennyiségtől és a sebességétől függ; b) A maradék oldószer az oszlopon keresztül fúvatódik le; c) Az illékony komponensek az oszlop elején fókuszálódnak; d) Minta transzfer az oszlopra, GC analízis elindul

Megoldásként áttértünk a laboratóriumunkban korábban kidolgozott, két lépcsős lefúvatást alkalmazó módszerre.<sup>20</sup> Az illékony komponensek nagyobb visszanyerését

érhetjük el úgy, hogy az oldószer nagy részét a split ágon fúvatjuk le, az utolsó néhány mikrolitert pedig az oszlopon keresztül, ahol az injektorból elpárolgó komponensek az oldószerrel felduzzasztott fázisban fókuszálódnak. A kétlépcsős lefúvatás során az oldószer teljes elpárolgása előtt az injektor hőmérsékletét megemeljük az oldószer forráspontja alá 10°C-kal és a split szelepet bezárjuk. hőmérséklet emelésétől az oldószer gőznyomása A megnő, miyel a split szelep zárva van, csak az oszlopon keresztül tud lefúvatódni, ahol az illékony komponensek fókuszálódnak az oldószerrel felduzzasztott állófázisban (1. ábra). E módszer alkalmazásával a 4.2 fejezetben bemutatott beállításokkal elérhető, hogy a legillékonyabb komponens, a naftalin, visszanyerése is 100% legyen és a csúcsalakok is megfelelőek legyenek.

## 4.4. A minta-előkészítés

Amennyiben vízminták feldolgozására szilárdfázisú extrakciósminta-előkészítéstalkalmaznakgázkromatográfiás analízis előtt, a töltet pórusaiban és a pórusok közötti térben maradt víz problémát okoz, ezért az extraktumot Na2SO4 szárítószeren vízmentesítik. Mivel a MEPS minta-előkészítési technika elve megegyezik a szilárdfázisú extrakcióéval, a vízmentesítés ezúttal is szükséges. Ennek igazolásához a kidolgozott kétlépcsős lefúvatást alkalmazó injektálással hexános standard oldatot injektáltunk olyan MEPS fecskendővel, melyet előzőleg vízzel mostunk. Az így kapott eredmények mentesek az extrakció hibájától, csak a tölteten maradó víztartalomból adódó hibát tartalmazzák. E mérések során akkora vízmennyiség került az oszlopra, hogy a detektor (FID) lángját elhaladtában több alkalommal is eloltotta. Azon esetekben, amikor a detektálás nem hiúsult meg az eredmények szórása nagy volt: a kapott csúcsterületek relatív szórása komponenstől függően 16 és 31% közé esett. Ez egyrészt visszavezethető arra, hogy a tölteten maradt vízmennyiség miatt nem lehetett pontosan felszívni 100 µl apoláris oldószert, azaz a felszívott mennyiség nem volt reprodukálható. Másrészt a nagytérfogatú injektálás a bepárlási lépések miatt igen érzékeny a minta oldószerének illékonyságára, ami a reprodukálhatatlan mennyiségben jelenlévő víz miatt számottevően és reprodukálhatatlanul változik. A tölteten maradt vízmennyiséget először többszöri levegő átpumpálásával kíséreltük meg eltávolítani, de ez nem vezetett sikerre. Ezért az extrakció után az anyagot nem közvetlenül az injektorba, hanem egy szűkítővel ellátott fiolába eluáltuk. Így kihasználható, hogy a n-hexán és a víz egymással nem elegyedő oldószerek és a PAH-ok nagyságrendekkel jobban oldódnak n-hexánban. Bizonyos idő után a fázisok szétválnak, az alsó vizes fázis gyakorlatilag nem tartalmaz célkomponenseket, a felső hexános fázis pedig vízmentes. A leoldás hatékonyságának növelése érdekében az elúciót  $4 \times 30 \ \mu l$  (összesen 120  $\mu l$ ) oldószerrel végezzük. Így már az első 30 µl-es elúció eltávolítja a tölteten maradt víz nagy részét. A fázisszétváláshoz tapasztalataink szerint 10 perc elegendő. Ezt követően ugyan csak 100 µl n-hexános oldatot injektálunk, a fellépő kb. 16 %-os veszteségért azonban bőven kárpótol minket a módszer reprodukálhatóságának javulása (ld. RSD% a 2. táblázatban)

A PAH-ok vízmintákból történő meghatározásának további ismert nehézsége, hogy a PAH-ok rossz vízoldhatóságuk

miatt a mintából kitapadnak a mintatartó edény falára. Az LLE alkalmazásakor megoldást jelenthet, ha a minta ismert térfogatát tartalmazó mintatároló edény falát is átmossuk az extrahálószerrel. SPE és MEPS esetén ez azonban nem kivitelezhető. Ilyen esetben megoldást jelenthet, ha a PAHok oldékonyságát a mintában izopropanol hozzáadásával javíthatjuk. Ráadásul az izopropanol egyaránt elegyedik a PAH-ok törzsoldatainak oldószerével, a ciklohexánnal és a vízzel. Ezért a munkaoldatokat célszerű izopranolos hígítással készíteni. Figyelembe kell azonban venni, hogy túl sok izopropanol viszont rontja az extrakció hatásfokát. A mintákhoz adandó izopropanol ideális mennyiségének meghatározását 1 ng/ml PAH tartalmú vizes oldatokkal végeztük. A csúcsterületeknek az izopropanol koncentrációjának függése a fenantrén példáján a 2. ábrán látható. A görbének maximuma van 0,6 V/V% izopropanol tartalomnál. Az izopropanol kisebb mennyiségben adagolva még nem viszi teljesen oldatba a komponenseket, nagyobb mennyiségben viszont rontja az extrakció hatásfokát. Mérés előtt tehát a mintákhoz célszerű minden esetben ennek megfelelő mennviségű izopropanolt adni, figyelembe véve a minta adalékoláshoz használt izopropanolos standard oldatok és az izopropanolos belső standard oldatok mennyiségét is.

A mért minták térfogata minden esetben 1,5 ml volt. Egy extrakció során az alkalmazott fecskendő méretéből adódóan 100 µl oldatot áramoltattunk át a MEPS állófázison 10 µl/sec sebességgel. Az állófázison való átpumpálás többszöri ismétlésével nő az extrakciós hatásfok. Az 50 - 100 tartományban vizsgálva az átpumpálások számát, azt tapasztaltuk, hogy 60 pumpálás már minden vizsgált komponens esetén elegendő a maximális visszanyerés eléréséhez.



 Ábra. A fenantrén csúcsterületének nagysága a mintához adalékolt izopropanol koncentrációjának függvényében.

Az SPE patronokkal szemben a MEPS tűk nem csak egyszer használatosak. Emiatt feltétlenül fontos, hogy két minta között megfelelően kitisztítsuk a tűben lévő szorbenst. A memóriaeffektus vizsgálatához a legtöményebb kalibrációs minta (200 ng/ml) mérését követően a tűt a adott mennyiségű n-hexánnal, izopropanollal és vízzel mostuk, illetve kondicionáltuk, úgy ahogy ez a mérések során a következő extrakció előtt is történik. Ezt követően azonban az extrakció elvégzése helyett rögtön az elúciós lépés következett, hogy lássuk maradt-e még mérendő komponens a tölteten az előző mintából. Tapasztalataink szerint a felsorolt oldószerek mindegyikéből 200 µl-et használva biztosítható, hogy ne maradjon a következő mérés eredményét befoyásoló mennyiségű PAH a tölteten.

### 4.5. A kidolgozott módszer jellemzése

A kidolgozott módszer analitikai teljesítmény jellemzőit a 2. táblázatban fogaltuk össze.



Time-->

**3.** Ábra. Adalékolt csapvíz-minta totál ion kromatogramja (10 ng/l) a)naftalin-d8, b)naftalin, c) 2-metil-naftalin, d) 1-metil-naftalin, e) acenaftilén, f) acenaftén-d10, g) acenaftén, h) fluorén, i) fenantrén-d10, j) fenantrén, k) antracén, l) fluorantén, m) pirén, n) benzo(a)antracén, o) krizén-d12, p) krizén, q) benzo(b)fluorantén, r) benzo(k)fluorantén, s) benzo(a)pirén, t) perilén-d12, u) dibenzo(a,h)antracén, v) benzo(g,h,i)perilén

A módszer szelektivitását az MSZ 1484-6:2003 szabvány szerinti méréssel ellenőrzötten PAH-okat nem tartalmazó csapvíz és felszíni vízminták, valamint ezek PAH-okkal adalékolt részleteinek vizsgálatával ellenőriztük és megfelelőnek találtuk.

A módszer linearitását az 5-200 ng/L koncentrációtartományban hét különböző szinten adalékolt 5-5 párhuzamos minta elemzésével igazoltuk. A legkisebb négyzetek módszerével meghatározott regressziós paraméterket 2. táblázat tartalmazza. E paraméterek közül az egyenes meredeksége egyúttal a módszer érzékenységét is jól jellemzi.

A 2. táblázatban feltüntetett torzítatlanság és ismételhetőség meghatározást 10 ng/l koncentrációjú oldatból végeztük 5 párhuzamos mérésével. A torzítatlanság értékek minden komponensre 80 és 120% közé esnek, a relatív szórás pedig egyedül az acenaftilén esetén haladja meg a 8%-ot, de ebben az esetben is 15 % alatt marad. Az adott koncentráció szinten ezen értékek azt jelentik, hogy a módszer megfelelően pontos mérést tesz lehetővé.

Egy komponens kimutatási határa (LOD) az a koncentráció, amelyhez tartózó jel megegyezik a vakminta válaszjelének és a vakminta válaszjeléhez tartozó tapasztalati szórás háromszorosának összegével. A gyakorlatban elterjedt, hogy az LOD-t a kalibrációs egyenes extrapolációjával, a definícióban szereplő csúcsterülethez tartozó koncentráció értékek számításával adják meg. Az extrapolációból eredően azonban az ily módon meghatározott LOD értékek rendszerint kisebbek a legkisebb valóban kimutatható koncentrációnál. Ezért döntöttünk úgy, hogy az extrapoláció helyett egyre hígabb oldatok mérésével határozzuk meg az LOD-t. A 2. táblázatban szereplő LOD érték (1 ill. 2,5 ng/l) tehát annak a leghígabb oldatnak a koncentrációja, amelyben az adott komponens jele legalább akkora, amekkora megfelel az LOD definíciójának.

Az LOQ érték esetében amellett, hogy a jel/zaj arány meghaladja a tízet, fontosnak tartjuk, hogy ezen a ponton a mérés bizonyítottan megfelelő pontosságú legyen. Ezért az LOQ értékek egyben a kalibrációs tartomány alsó pontjai is. Az így kijelölt 5 ng/l-es LOQ a szabványos, LLE metodikával elérhető LOQ-val azonos nagyságrendbe esik.

2. Táblázat. A kidolgozott módszer főbb analitikai teljesítményjellemzői.

A végleges módszert alkalmazhatóságát valós mintákra PAH sztenderdekkel adalékolt csapvíz és felszíni vizek felhasználásával teszteltük. A vizsgálatok során bizonyítást nyert, a mátrix-komponensek ilyen típusú minták esetén nem terhelik meg túlzottan a csupán 2-3 mg-nyi töltetet. Ugyanez szennyvízmintáknál már vélhetően problémát okozna, akárcsak a sokkal nagyobb minta és töltet mennyiséggel működő SPE technikánál. A 3. ábán példaként egy, a PAH-okat 10 ng/ml koncentrációban tatralmazó adalékolt csapvízminta totálion kromatogramja látható.

A kidogozott módszer különös előnye, hogy a méréshez csupán 1,5 ml mintára és mintánként 530 µl szerves oldószerre (210 µl izopropanol és 320 µl n-hexán) van szükség. A mintamennyiség tekintetében ez azt jelenti, hogy jelentősen csökkenthetők a mintaszállítási és tárolási költségek, hiszen a szükséges minta térfogata 2-3 nagyságrenddel kisebb, mint az LLE-nél és az SPE-nél, és kb. egy nagyságrenddel kisebb, mint a SPME-nél és az SBSE-nél. Szemben a SPME és az SBSE technikákkal a MEPS mintaelőkészítés nem kivitelezhető oldószerek alkalmazása nélkül még gázkromatográfiás analízis esetén sem. Az összesen alig több mint 0,5 ml n-hexán és izopropanol alkalmazása még mindig jelentősen kisebb környezetterhelést jelent, mint a két nagyságrenddel nagyobb mennyiségű szerves oldószert igénylő LLE. A módszer további előnye az automatizáltsága. A minta-előkészítés elvégeztethető például a sokoldalú, GC-hez csatlakoztatható Gerstel MPS2 automatával, mely az előkészített mintát egyúttal injektálja

	Kimutatási határ (LOD) / ng/l	A meghatározás alsó határa (LOQ) / ng/l	A meghatározás felső határa / ng/l	A kalibrációs egyenes meredeksége	A kalibrációs egyenes tengelymetszete	R <sup>2</sup>	Torzítatlanság (%)	Ismételhetőség (RSD %)
naftalin	1	5	200	0,016	0,899	0,999	104,1	3,58
2-metil-naftalin	1	5	200	0,011	0,095	0,998	115,0	7,70
1-metil-naftalin	1	5	200	0,010	0,162	0,999	107,2	5,33
acenaftilén	1	5	200	0,016	-0,021	0,998	94,17	13,2
acenaftén	1	5	200	0,020	0,037	0,999	90,07	6,14
fluorén	1	5	200	0,022	0,041	0,999	111,4	6,58
fenantrén	1	5	200	0,018	0,111	0,999	108,7	6,46
antracén	1	5	200	0,018	-0,007	0,999	94,10	6,03
fluorantén	1	5	200	0,020	0,032	0,999	103,2	4,55
pirén	1	5	200	0,020	0,052	0,999	108,6	6,64
benzo(a)antracén	1	5	200	0,019	-0,010	0,998	117,6	7,14
krizén	1	5	200	0,019	0,047	0,999	95,12	5,10
benzo(b)flourantén	2,5	5	200	0,020	-0,007	0,996	89,52	6,50
benzo(k)flourantén	2,5	5	200	0,021	0,041	0,999	88,35	4,50
benzo(a)pirén	2,5	5	200	0,019	-0,009	0,999	93,80	5,98
dibenzo(a,h)antracén	1	5	200	0,021	0,013	0,998	81,60	6,51
benzo(g,h,i)perilén	1	5	200	0,018	0,046	0,999	85,18	7,32

is. A 60- szoros átpumpálás ugyan soknak tűnhet, fontos azonban megjegyezni, hogy ezt a 60 átpumpálást, sőt a teljes

minta-előkészítést az automata azon idő alatt végzi, míg a GC az előző mintát kromatografálja.

# 5. Összefoglalás

Az Elválasztástechnikai Kutató és Oktató Laboratórium által végzett módszerfejlesztések során az analitikai teljesítményjellemzők mellett minden esetben igyekszünk figyelembe venni a gazdaságossági és a környezetvédelmi szempontokat is. Ezeknek legkönnyebben úgy felelhetünk meg, ha a korábban már elért analitikai teljesítményt kevesebb mintából kevesebb oldószer felhasználásával, lehetőleg rövidebb idő alatt és automatizálva érjük el. PAHok vízmintából történő mérésénél a miniatürizált SPE-nek tekinthető MEPS technika mindezen elvárásoknak meg tud felelni. A minta-előkészítést a GC tetejére szerelt automata a kromatográfiás futás ideje alatt elvégzi. Miként azt a validálás során igazoltuk az általunk kidolgozott módszerrel 17 PAH vegyület 1,5 ml mintából 530 µl szerves oldószer felhasználásával a szabványos extrakciós módszerrel (LLE) azonos nagyságrendű kimutatási és meghatározási határ mellett határozható meg. A módszer szelektív, az 5-200 ng/ ml tartományban lineáris, torzítatlan és precíz.

## Köszönetnyilvánítás

Az ismertetett módszerfejlesztés a KMOP-1.1.4-08/1-2008-0043 azonosító számú pályázat keretében, annak támogatásával valósulhatott meg

## Hivatkozások

- Simioli, P.; Lupi, S.; Gregorio, P.; Siwinska, E.; Mielzynska, D.; Clonfero, E.; Pavanello, S. *Mutat. Res.* 2004, 562, 103-110.
- Mastrangelo, G.; Fadda, E.; Marzia, V. Environ. Health Perspect. 1996, 104, 1166-1170.
- 3. World Health Organization, International Agency For Research On Cancer IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 32 Polynuclear

### Gas Chromatographic Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Small Sample and Solvent Amonts

The Joint Research and Training Laboratory on Separation Techniques(EKOL) is run by the Institute of Chemistry (Eötvös Loránd University) and WESSLING NCo. together. Its almost one decade long operation gives a remarkable example for involving company funds in the educational and research work of a University. Regarding research, EKOL can provide easily accessible analytical background for the work of other research groups. On the other hand EKOL itself is interested in developing new methods in the field of gas and liquid chromatography including sample preparation as well. Beside the classical analytical performance parameters (accuracy, reproducibility, limit of detection, ect.) we have always took an emphasis on economic and environmental aspects. Thus we often try to decrease sample and solvent usage. The determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in water samples by Microextraction by Packed Sorbent (MEPS) coupled to gas chromatography-mass spectrometry is an excellent example of this approach.

The group of PAHs is classified as one of the most dangerous organic pollutant primarily due to their mutagenic and carcinogenic features. By reason of the healthcare effect and the extensive emission PAHs are of great concern. According to the EPA method Aromatic Compounds, Part 1, Chemical, Environmental and Experimental Data.

- Toxicological Profile For Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, U.S. Department Of Health And Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Kanchanamayoon, W.; Tatrahun, N. World *Journal of* Chemistry 3 2008, 2, 51-54.
- Werres, F.; Balsaa, P.; Schmidt, T.C. Journal of Chromatography A 2009, 1216, 2235–2240.
- 7. Kabzinski, A.K.M.; Cyran, J.; Juszczak R. Polish Journal of Environmental Studies 2002, 11, 695-706.
- 8. Ruey-an Doonga; Sue-min Changa; Yuh-chang Sunb Journal of Chromatography A 2000, 879, 177–188.
- Bianchin, J. N.; Nardini. G.; Merib. J.; Dias, A. N.; Martendal E.; Carasek, E. Journal of Chromatography A 2012, 1233, 22–29.
- Eisert, R.; Levsen, K. Journal of Chromatography A 1996, 733, 143-157.
- 11. Kinga, A.J.; Readmanb, J.W.; Zhoua, J.L. Analytica Chimica Acta, 2004, 523, 259–267.
- Prieto, A.; Zuloaga, O.; Usobiaga. A.; Etxebarria, N.; Fernandez, L.A. *Journal of Chromatography A* 2007, *1174*, 40–49.
- 13. Roy, G.; Vuillemin, R.; Guyomarch, J. *Talanta* **2005**, *66*, 540–546.
- León, V.M.; Llorca-Pórcel, J.; Álvarez, B.; Cobollo, M.A.; Munoz, S.; Valor, I. Analytica Chimica Acta 2006, 558, 261– 266.
- 15. sge.com/products/meps
- Somaini, L.; Saracino, M.A.; Marcheselli, C.; Zanchini S.; Gerra, G.; Raggi, M. A. *Analytica Chimica Acta*, 2011, 702, 280–287.
- Vlcková, H.; Solichová, D.; Blaha, M.; Solich, P.; Novakova, L. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2011, 55, 301–308.
- Noche, G. G.; Fernández Laespada, M. E.; Pérez Pavón, J. L.; Cordero, B. M.; Muniategui Lorenzo, S. *Journal of Chromatography A*, 2011, *1218*, 9390–9396.
- 19. gerstel.com
- Szekeres, Z.; Volk, G.; Eke, Z. International Journal Of Environmental Analytical Chemistry 2009, 89, 461-471.

3500 series the recommended sample preparation method is liquidliquid extraction or solid phase extraction. These methods typically process 1 L of sample using relatively large amount of organic solvents. Besides, they are both time-and labour- consuming procedures, and availability of automation is restricted especially in combination with GC. In general these methods don't suit the expectations regarding economical as well as environmental aspects.

MEPS is a miniaturized version of solid phase extraction (SPE). 2-3 mg sorbent is incorporated in a syringe needle which can be coupled with 10-250  $\mu$ l syringes. Sample aliquots are withdrawn through the sorbent by the syringe, the analytes adsorbed to the solid phase. The target compounds can be eluted by passing through clean solvents directly into the instrument's injector. From water samples the PAHs can be extracted efficiently by C8 sorbent. The highest enrichment factors with the lowest sample amount needed were achieved by the extraction 1.5 mL samples: The sorbent was conditioned with 200  $\mu$ l n-hexane, i-propanol and water. For extraction 60 times 100  $\mu$ l sample aliquots were pumped through it. PAHs were eluted with 3 x 40  $\mu$ l hexane into a separate vial. Finally an appropriate aliquot of the hexane phase was injected into GC- MS after phase separation. Thus the water remaining on the sorbent didn't cause nor elution neither chromatographic problems. The presented conditioning and elution technique ensures that carry over effect didn't take place.

To achieve further concentration we decided to use large volume injection. Instead of the classical solvent vent injection mode we applied a two step split-splittless technique which was developed in our laboratory just recently to facilitate the discrimination free large volume injection of target compounds with very different volatilities. With this naphthalene as well as benzo(g,h,i)perilene can be fully recovered with good peak shapes from 100  $\mu$ l injection.

Compared to the standardized liquid-liquid extraction the presented method uses two orders of magnitude smaller amounts of both sample and organic solvents. This means significantly decreased amount of waste as well as notably more efficient transportation and storage of samples. The linearity of the method was checked for 17 PAHs in the 5 ng/l-200 ng/l range. The relative standard deviation remained under 15% and the accuracy ranged from 80 to 120%. The method enabled the automation of all the sample preparation steps including the sample concentration elution and injection. These results prove that MEPS can be an outstanding alternative of the standardized method.

# Kémlelni a láthatatlant: építőelemek, foldamerek, peptidek és fehérjék

# BODOR Andrea, FARKAS Viktor, HARMAT Veronika, JÁKLI Imre, KARANCSINÉ MENYHÁRD Dóra, STRÁNER Pál és PERCZEL András<sup>\*</sup>

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Fehérjemodellező Kutatócsoport, Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratórium, Pázmány Péter sétány 1/A, 1117 Budapest, Magyarország.

Az MTA-ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoport és a Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratórium közös munkájának rövid bemutatása, az ott folyó kutatások sokrétűsége okán szép, ám összetett feladat. Közös gondolkodásunk és munkánk középpontjában a természetes poliamid rendszerek, közismert nevükön a polipeptidek és fehérjék állnak. Kutatási témáink gyakran teázás vagy borozás közben kezdődnek, mikor biológus vagy orvos kollégáink mesélnek egy érdekes jelenségről, egy örökletes betegség és egy azzal társítható fehérje működéséről. Mikor a probléma már kellően körvonalazott, akkor következnek a molekulamodellezési feladatok, majd a peptid, foldamer, fehérje szintézise vagy expressziója, majd tisztításuk. Ezután megkíséreljük a "képalkotást" részben diffrakciós, részben spektroszkópiai (NMR, ECD, VCD, IR, stb.) módszerek bevetésével. Gyakran nem csak a "hogyan néz ki" kérdésre keressük a választ, hanem a 3D-téralkat belső dinamikáját, a különböző időskálákon történő mozgások lehető legpontosabb leírását is szeretnénk megadni. Néha elegendő egy, a részleteket mellőző összehasonlító vizsgálat is. Åm gyakran, "mivel az ördög a részletekben rejlik" csak hosszantartó, s a makromolekula atomi részleteit is feltáró vizsgálatok vezetnek megoldásra. Mint általában a kutatás, a miénk is egyfajta belső iteráció mentén finomodik, s a partnerekkel való konzultációk sora, újabb és újabb mutánsok és variánsok előállítása vezet a keresett válasz felé. Ma már nem csak eredményesen működünk együtt több hazai és külföldi kutatócsoporttal, de komplex belső projekteken is dolgozunk. Ilyenkor a kérdésfelvetéstől az előzetes számolásokon és modellezéseken át, a preparatív, foldamer- és expressziós labor munkákon keresztül, a szerkezetvizsgálatig, a feladatok teljes sorát igyekszünk megoldani a csoporton belül. Míg korábban egyes ferrocének és heterociklusok fehérje konjugátumait és glikozidjait állítottuk elő és tanulmányoztuk, addig ma szénhidrát származékokból állítunk elő β-aminosavakat, s vizsgáljuk önmagukkal, valamint α-aminosavakkal alkotott poliamid rendszereiket. Az elmúlt évtizedben a szintetikus szerves kémia eszköztára nagyban gazdagodott és bővült. Ma már nem csak hogy enzimeket használunk a szerves laborban, de nem tekinthető igazi újdonságnak az sem, hogy kémikusok fehérjéket és peptideket bakteriális, vagy éppen feltárt sejtes rendszerek segítségével szintetizálnak.

Az élő rendszerek gyakran alkotnak "közösséget", nincs ez másként az élet molekuláris alapjaiért felelős fehérjék esetében sem. A biokémiai folyamatok megértése és feltérképezése során elengedhetetlen tehát a résztvevő Az alábbiakban a teljesség igénye nélkül, egy-egy részfeladat bemutatásán keresztül adunk képet munkánkról, a vele járó sikerekről, kudarcokról, és intellektuális kihívásokról.

# 1. Manus facere: kémiai szintézis kézzel, géppel vagy sejtekkel

Hogy pontosan mennyi is az ismert molekulák száma, az attól függ, hogy ezt mikor kérdezzük (l. a http: //www.cas.org/ című honlapot). Ez a szám e cikk olvasása pillanatában már vélhetőleg meghaladja a 67 milliót! Mégis a szerves kémikus megszállottan keresi és szintetizálja újabb reakciók, eszközök és rendszerek alkalmazásával - az újabb molekulákat. A szintetikus biológia hajnalán, amikor akár egy teljes bakteriális genomot is elő lehet állítani, a kémia egyik új és izgalmas területe a biomimetikus makromolekulák világa, s ezen belül is az úgynevezett foldamer-kémia. Ezen a területen végzett kutatásaink célja olyan vegyületek tervezése, szintézise és vizsgálata, melyek téralkata a fehérjék másodlagos szerkezeti elemeihez hasonlít, azok kémia konstitúciója azonban eltér a természetes α-(L)-aminosavakból felépülő rendszerekétől. E vegyületcsalád érdekessége, hogy bár bio-mimetikus és biodegradábilis molekulák, az élő rendszerekben - a megfelelő hasító enzimek (proteázok) hiányában, - lényegesen tovább maradnak meg, mint a polipeptidek és fehérjék. A nemrég kialakított preparatív laboratóriumainkban elsősorban egyszerű monoszacharidokból kiindulva, hagyományos szerves kémiai szintetikus úton állítunk elő peptidkötésre

fehérjék mellett azok ligandumainak, szabályzó partnermolekuláinak és kölcsönhatási hálózatuknak atomi szintű feltérképezése. Az elmúlt évek során például több proteáz (kimotripszinek család tagjai, prolil-oligopeptidázok) és a hozzájuk kapcsolódó kismolekulák (szubsztrát vagy inhibitor), valamint ezen fehérjék között létrejövő kölcsönhatás részleteit vizsgáltuk. A proteázok nemcsak az említett kölcsönhatások tanulmányozásához kínálnak kiváló modellt, de fontos szerepet játszanak különböző életfolyamatok szabályozásában is, s így munkánk esetenként átvezet a racionális gyógyszertervezés területére. A fehérjék "születnek", működnek, hatnak és szabályoznak, majd a kellő pillanatban lebomlanak, és a szervezetben úira hasznosulnak. Különösen izgalmas folvamat, a születő fehérie feltekeredése, vagy a lebontást iniciáló denaturáció és aggregáció. A belső mozgás, dinamika, re- és denaturáció, illetve ezen utóbbi jelenséget kísérő aggregáció mélyebb megértése áll érdeklődésünk középpontjában. E vizsgálatokhoz állítunk elő speciális polipeptideket, foldamereket, valamint kis és nagyobb méretű fehérjéket.

<sup>\*</sup> email: perczel@chem.elte.hu

alkalmas  $\beta$ -aminosavakat, a már ismertebb gyűrűs  $\beta$ aminosavak (pl. aminociklopentán-karbonsav) vízoldható analógjait (1. ábra).



 Ábra. Egyszerű cukrokból többlépéses szintézis során vízoldható βaminosavak állíthatók elő.

Fülöp Ferenc és Martinek Tamás (Szegedi Α Tudományegyetem Gyógyszerkémiai Intézet) vezette kutatócsoport eredményei által inspirálva, hidrofil és hidrofób β-aminosavak variálásával egyrészt önmagukban is érdekes téralkatú peptido-mimetikumokat szintetizálunk, másrészt felhasználjuk a tervezett foldamereket egyes polipeptidek és fehérjék térszerkezetének rögzítésére is. A Tóth Gáborral (Szegedi Tudományegyetem Orvosi Vegytani Intézet) és munkatársaival β-aminosav származékok felhasználásával,  $\alpha/\beta$  hibrid-peptidek szintézisével, majd kémiai összekapcsolásával speciális biológiai aktivitású makromolekulákat szintetizálunk. Különösen izgalmas téma az Exenatid (Ex-4) – a II-típusú cukorbetegség gyógyítására használt, 39 aminosavból álló polipeptid pirossal kiemelt alegységének kicserélése a megfelelő foldamerre (2. ábra). A β-peptidrészlet beépítésétől az eredeti molekula helikális részletének a természetesnél merevebb formáját kívánjuk megalkotni, remélve ezzel az eredeti hatóanyag bioaktivitásának fokozását és lebomlásának lassítását. Ebben a konkrét esetben olvan specifikus, biológiailag aktív peptidet módosítunk, amely már bizonyítottan kiváló terápiás tulajdonságokkal rendelkezik. Itt jegyezzük meg, hogy az Ex-4 három másodlagos szerkezeti elemet tartalmaz: egy hosszabb  $\alpha$ - és egy rövidebb 3<sub>10</sub>-hélixet, valamint egy poliprolin-II C-terminális részt. Célunk hogy jobban megértsük az Ex-4 molekula kötődését a GLP1receptorhoz, valamint az, hogy a kölcsönhatásban részt nem vevő fragmensét merevebbé, ezáltal a lebontó enzimekkel szemben ellenállóbbá tegyük.



2. Ábra. Az Ex-4 primer szekvenciája (fent) és a molekula oldatfázisú (NMR-) térszerkezete (lent). Piros kapcsos zárójellel jelöltük a foldamerre cserélendő peptidszakaszt. A cserétől a molekula mozgékony részének stabilizálását, lebomlásának lassulását reméljük.

A szerkezetkutató már a szintetikus munka közben is a születendő molekula térszerkezetén, stabilitásán gondolkozik. Jó példa erre az előbb említett Ex-4 egyik analóg vegyülete, egy, a közeli UV-tartományban fontos kromofór-párral rendelkező variánsa. Ez a tirozin és triptofán tartalmú fehérje jellegzetes téralkatát az emelkedő hőmérséklet hatására, sajátságos módon veszíti el. Bár ez a fehérje igen kicsi, mégis a hidrofób magja (az un. Trp-kalicka) a hőmérsékletemelésnek, akár 40°C-ig is eredményesen ellenáll (3. ábra).<sup>1,2</sup> Ez azzal magyarázható, hogy a triptofánt körülvevő hidrofób partnerek együttműködésének köszönhetően a fehérje magja nagyobb hőstabilitást mutat, mint a kompakt  $\alpha$ -helikális ..rúd". Ez utóbbi  $\alpha$ -hélix, partner és védőfaktor hiányában, folyamatosan veszít stabilitásából, a hőmérséklet emelkedésével folyamatosan letekeredik. Mindezt látványosan jelzi az elektronikus cirkuláris dikroizmus (ECD) spektrum n $\rightarrow \pi^*$  (222 nm) intenzitásának lineáris csökkenése. Már ebből a viszonylag egyszerű kísérletből is kiolvasható, hogy az alkalmas molekularészek (hidrofób aminosavak) kooperativitása mennyire eredményes lehet egy külső, kedvezőtlen behatás leküzdése céljából. Az együttműködés világos szelekciós előnnyel jár nem csak a molekularészletek, de az evolúció magasabb szintjén is, ahogy ezt Freund Tamás, a 2010-es Széchenyi-emlékesten mondott beszédében számos biológiai példa segítségével plasztikusan összegezte.



3. Ábra. A jobb oldalon látható minifehérje ECD spektrumában kiválasztott 2 sáv intenzitásának hőmérsékletfüggése. Az  $\alpha$ -hélix n $\rightarrow$  $\pi^*$  (222 nm, fekete négyzet) és a hidrofób magot felépítő Tyr $\leftrightarrow$ Trp oldalláncok (ábrán kiemelve) kölcsönhatására utaló (280 nm, piros négyzet) jelek intenzitásváltozása eltérő. Míg az  $\alpha$ -hélix folyamatosan letekeredik, addig a hidrofób mag az 5-40°C-os tartományban eredményesen áll ellen a termikus denaturációnak, s csak ennél magasabb hőmérsékleten kezdődik a lassú szétesése.

Már több mint 5 éve hogy Nyitray Lászlónak és munkatársainak köszönhetően (ELTE Biokémia Tanszék) kiépítettük a "Protex labort", ahol polipeptideket és fehérjéket állítottunk elő élő *E. coli* sejtekben. Bár ilyen módon fehérjéket ma sok helyen expresszálnak az országban, a mi munkának érdekessége nem csak az, hogy ezt kémikusként egy kémiai intézetben tesszük, bővítve ezzel a szerves kémia eszköztárát, hanem az is, hogy alkalmas fúziós rendszerek kifejlesztését és optimalizálását követően akár rövidebb polipeptidek szintézise és (15N, <sup>13</sup>C) izotópjelölése is megoldhatóvá vált. A prokarióta expressziós rendszerek alkalmazásának legfőbb előnye, hogy segítségükkel nagy mennyiségben termeltethetők fehérjék, a baktériumtörzsek fenntartása és a fehérjék izolálása könnyen kivitelezhető. Hátrányos viszont, hogy több eukarióta fehérje (membránfehérjék, receptorok, stb.) mérgezi az E. coli gazdasejtet. További nehézséget jelenet, hogy általában 40 aminosavnál rövidebb poliamidok önálló termeltetése nem lehetséges, mert az ilyen rövidebb peptidek "nem férnek el" a riboszómán, nem vesznek

fel kellően kompakt téralkatot, s ezért a gyártó sejt saját fehérjebontó enzimei szinte születésük pillanatában le is bontják azokat. Az elmúlt években ilyen típusú molekulák előállításához fúziós rendszereket dolgoztunk ki, ahol a cél-peptidet összekötjük egy alkalmas segédfehérjével (pl. ubiquitin-nel), s a fúziós peptid-fehérie együttest kovalens kötéssel összekapcsolva fejezzük ki, majd izoláljuk. Később, egy alkalmasan beépített hasító helvnek köszönhetően leválasztiuk a cél-peptidet a fúziós fehérjéről. Az expressziós laborunk most egészül ki egy speciális, nagyhatékonyságú kromatográfiás rendszerrel, amelynek köszönhetően spektroszkópiai tisztaságú makromolekulákat tudunk majd előállítani. A polipeptidek és minifehérjék biotechnológián alapuló szintézise tovább gazdagítja a Bruckner Győző által több mint 50 éve kezdeményezett, és a Medzihradszky Kálmán és munkatársai által nemzetközi szintre emelt fehérjekutatásokat az ELTE Szerves Kémiai Tanszékén

Kutatócsoportunk egyik ígéretes projektje – a GLP-1 receptor és ligandumainak előállítása – szorosan összekapcsolja munkánkat a gyógyszerkutatással. E munkánk során a II-es típusú cukorbetegség egy lehetséges gyógyszercélpontjaként ismert Glucagon-like-Peptide-1 receptorát és alkalmas(?) 20-39 aminosav tagszámú ligandumait fejezzük ki és vizsgáljuk in vitro kölcsönhatásukat, ligandum kötésük atomi részleteit. Bár a receptor-ligandum kötődés vizsgálatához elegendő a GLP-1 receptor extracelluláris doménjének bakteriális kifejeztetése, tehát nem szükséges a teljes transzmembrán fehérje (>500 aminosav) előállítása, most legfőbb gondunk a 6 ciszteint tartalmazó fehérje helyes feltekeredési körülményeinek meghatározása.

## 2. In silico számítások segítik kísérleti munkánkat

csoportunkban folyó kísérleti munka segítése-, értelmezése- és kiegészítéseként, molekulamodellezési feladatokat. adatbányászatot, programfejlesztéseket és alkalmazott kvantumkémia számításokat végzünk. Az adott elméleti szinten megvalósított modellezések alkalmasak a kísérletileg nehezen kezelhető régiók, (mozgékony hurkok), a pontmutációk, a pH és hőmérsékleti változások, vagy kémiai módosítások szerkezeti hatásának előrejelzésére. Az enzimkatalizált folyamatok jobb megértése végett in silico meghatározhatjuk szubsztrát vagy inhibitor molekulák elhelyezkedését az aktív helyen, és kötődésük részleteit vizsgálhatjuk. A következőkben példákat adunk a molekulamodellezés és az alkalmazott kvantumkémi hasznosságáról, majd az adatbányászás és módszerfejlesztések előnyeit mutatjuk be röviden.

Molekuladinamikai (MD) szimuláció módszerével tanulmányozzuk a már fent említett GLP-1 analógok hőstabilitását, illetve a korábban ismertetett ECD mérések hőmérsékleti érzékenységükben során kimutatott. tapasztalható különbségeket (4. ábra). MD számításaink rámutattak arra, hogy hol találhatók ezen peptidek legstabilabb régiói, illetve hogy a helikális rész középső szakasza, valamint az N-terminális régió által kialakított "Trp-kalicka" miként és milyen körülmények között tekeredik le. Ezen szimulációk eredményeit használjuk fel az újabb mutánsok tervezése során, s bár az MD számolások nem helvettesítik az NMR méréseket, mégis segítenek a helyes mutánsok és variánsok körének megválasztásában.



**4. Ábra.** Egy MD szimulációval követett GLP-1 analóg molekula magas hőmérsékleten történő szerkezeti destabilizációjának állomásai. A baloldali képen bekeretezett Trp-kalicka még intakt, stabilitásáért a központi Trp oldalláncát körülvevő hidrofób aminosavak, valamint speciális H-híd a felelősek. Jobbra a már részlegesen vagy teljesen kitekeredett téralkatokat láthatjuk.

Röntgendiffrakciós módszerrel meghatároztuk egy oligopeptidáz enzim kovalensen kötődő inhibitorával képzett komplexének térszerkezetét.<sup>3</sup> A kovalensen kötődő inhibitor az enzimreakció közti termékének analógja. A molekulamodellezés eszköztárát és a meghatározott

kristályszerkezetet felhasználva felépítettük az enzim aktív helyén a szubsztrát-kötött állapotot, amely a hasítás előtti állapot modellje, a teljes, 7 aminosav hosszúságú szubsztrátot is tartalmazza. Az elrendeződést Monte Carlo Multiple Minimum módszerrel (a peptid torziós szögeinek véletlenszerű megváltoztatásával majd a kapott szerkezetek energia minimalizációjával) optimáltuk, és a legalacsonyabb energiájú elrendeződés stabilitását molekuladinamikai szimulációval vizsgáltuk (5. ábra). A számítások eredményei szerint a szubsztrát N-terminusával a hidroláz doménen található katalitikus triád közelében kötődik meg (mint az a kristályszerkezetből is kiderült). A peptidlánc pedig a méretszelekcióért felelős propeller domén központi csatornájába fűződik be. Az általunk meghatározott komplex szerkezete arra utal, hogy a kis méretű ligandum a propeller domén csatornáján keresztül közelíti meg az eltemetett aktív helyet, valamint analizálhatóvá tette, hogy mely aminosavak felelősek az enzim specifitásáért, és hogy milyen típusú szintetikus ligandumok lennének az enzim hatékony inhibitorai.



5Ábra. Az Aeropyrum pernix-ből származó acilpeptid hidroláz szubsztrát-kötött állapotának modellje oldalnézetben (A) és felülnézetben (B). Sötétebb lila a katalitikus Ser oldalláncot (zöld) tartalmazó hidroláz domén, míg világosabb színnel a propeller domént jelöltük. A világoskék színnel ábrázolt peptid szubsztrát a propeller domén központi csatornájának belsejében helyezkedik el.

Számos neurodegeneratív betegség kialakulása a peptidek aggregációja során létrejövő ún. amiloid szerkezetű plakkok jelenlétéhez köthető, melyekhez hasonló jellegű aggregátummá a legtöbb fehérje átalakulhat, függetlenül azok primer szekvenciájától. Ezen aggregátumokban szereplő amiloid szerkezetek β-redőzött rétegeket tartalmaznak.<sup>4,5</sup> Ezen a téren vizsgálataink kétféle forrásból származó eredményekből táplálkoznak. Egyrészt β-szálak elméleti (MD és QM) számításain keresztül feltérképezzük ennek a fontos másodlagos szerkezeti elemnek a belső energiaviszonyait, különös tekintettel a peptidláncok között működő kölcsönhatásokra. Másrészt több adatbázist és automata adatkezelő rendszert hoztunk létre fehérje szerkezeti adatbázisokból (pl. Protein Data Bank) a vizsgált molekuláris környezet minél nagyobb és változatosabb adathalmazzal való lefedése céljából.6

Hogy közelebb kerülhessünk az aggregációs folyamatok haitóereiének megértéséhez, kvantumkémiai (OM)módszerekkel vizsgáltuk kisebb modell peptidek átalakulását, az amiloidra jellemző β-redős szerkezetté. Kiszámítottuk különböző termodinamikai függvények (entalpia, entrópia, illetve szabadentalpia) változását az aggregátumok létrejötte során, majd általánosítottuk a számítási módszert nagyobb rendszerekre.7 Az antiparallel redő esetében rezgési analízist végeztünk a dimerizációs folyamatra és azt találtuk, hogy a csökkenő entrópiát a dimerben újonnan létrejövő rezgések kompenzálják. A redők kialakulásakor fellépő szabadentalpia változás minden esetben negatívnak, így a kialakuló amiloid szerkezet stabilnak adódik. A jelenséget a természetes kötőpályák (natural bond orbitals, NBO) segítségével szemléltettük (6. ábra).



**6. Ábra.** A szomszédos β-szálak között kialakuló (C-H) (kék) \* (C-H) vonzó és taszító kölcsönhatás szemléltetése NBO analízis segítségével.

Az elvégzett kvantumkémiai számítások magyarázatot adnak a fehérjék amiloid szerkezeteinek kialakulására, illetve az aggregációs folyamatok termodinamikai hajtóerejét sikerült minden kétséget kizáróan ab initio módszerekkel igazolnunk. Eredményeinket felhasználva következtetni lehet hasonló, kiterjedtebb rendszerek stabilitására, illetve az ezek disszociációjához szükséges befektetendő energia nagyságrendjére így növelve az aggregáció visszaszorításának esélyét.

Felépítettük a β-redőzött rétegekben egymás mellett futó polipeptid szálakban az egymással közvetlen szomszédságban, és bizonyos geometriai elrendeződés esetén hidrogénkötésben lévő aminosavak (7. ábra) adatbázisát. Ennek folyamatos karbantartását az adatok összegyűjtésétől a másodlagos szerkezetek szűrésén át a statisztikai elemzésekig automatikusan elvégzi az általunk kifejlesztett keretrendszer.

A létrehozott szerkezeti adatbázisokat számos területen felhasználhatjuk. Ezek közül a legjelentősebb a β-edőzött réteg szerkezetekben annak megállapítása volt, hogy βszálak esetén mely aminosavak kerülnek gyakrabban egymás szomszédságába. A nagyobb adatbázisnak köszönhetően a korábbi elemzéseket ki tudtuk terjeszteni az aminosav oldalláncok állásának a pár-preferenciákra gyakorolt hatására is. A β-redőzött réteg szerkezetekben leggyakrabban előforduló aminosavakból (Gly, Ala, Val, Ser) felépített modellvegyületekre végzett kvantumkémiai számításokból kiderült, hogy az oldallánc állásának jelentős hatása van a szerkezet stabilizációs energiájára, ez összhangban van a szerkezeti adatbázisokból nyert adatokkal. Eredményeink felhasználásával mód nyílik a β-kanyar és β-redőzött rétegek stabilitásának és aggregációs hajlamának becslésére, ezáltal e szerkezetek tervezésére. Adatbázisaink másik fontos felhasználási területe a β-redős szerkezetek csavarodásának és meghajlásának elemzése. Az Åarhus Universityvel együttműködésben kvantumkémiai módszerekkel vizsgáltunk poly-Gly, poly-Ala és poly-Val modelleket. Összehasonlítottuk az aminosav összetétel, a lánchossz és a kiralitás hatását az adatbázisból kapott adatokkal



7. Ábra. A béta redőzött rendszerek aminosav-párjainak adatbázisát karbantartó keretrendszer.

különböző szintű számítások esetén. Megállapítottuk, hogy a csavarodás mértéke és a peptid gerinc konformációja szigorúan összefügg és ezt csak kis mértékben befolyásolja az aminosav oldalláncának milyensége vagy a kiralitása Lvagy D-volta. A ténylegesen megfigyelt csavarodás mértékét a potenciális energia felszínen található lokális minimumok helye határozza meg. Vizsgálataink során a "csavarodás" fogalmát kiterjesztettük a teljes Ramachandran térképre és ezzel a fehérje feltekeredettségére jellemző, egydimenziós mérőszámot kaptunk, amelynek reményeink szerint a különböző foldamerek leírásában fogjuk hasznát venni.

## 3. Azóródott röntgensugár nyomában: fehérjekrisztallográfia

Az ELTE Kémiai Intézetben Náray-Szabó Gábor és Böcskei Zsolt vezetésével 1993-ban kezdődtek meg a fehérjekrisztallográfiai kutatások, amikor az első térdetektoros röntgen-diffraktométert üzembe helyezték. A laboratóriumban 2009 óta Rigaku R-AXIS IV++ típusú készülék működik az MTA-ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoport irányítása alatt. A laboratórium részét képezi egy felszerelt kristályosító labor, mely kiegészül egy elsősorban oktatási célokat szolgáló kristályosító robottal. A laboratórium célja a hazai kutatócsoportok fehérjekrisztallográfiai igényeinek kiszolgálása együttműködésben végzett kutatások keretében, mérési idő biztosítása és tanácsadás, valamint a leendő krisztallográfusok elméleti és gyakorlati képzése. Ennek a célnak a kiteljesítését elősegítendő 2011-ben a BME Biostruct Laborral és a KKI Röntgendiffrakciós Laborral együtt létrehoztunk egy nyitott szerveződést a hazai infrastruktúra megosztása és használatának széles körű elterjesztése céljából.

Kutatásaink során szerin proteázok esetén vizsgáltuk az enzimműködés mechanizmusát és szabályozását, kismolekulás és fehérje inhibitorokkal való kölcsönhatásaikat. Bekapcsolódtunk emellett más fehérjék (kalmodulin, dUTPáz, dinein könnyűlánc) szerkezet/funkció összefüggéseinek feltárásába is a fehérje/fehérje és fehérje/ kismolekulás ligandum kölcsönhatások jellemzésével. Együttműködő partnereink az MTA Enzimológiai Intézet több kutatócsoportjának és az ELTE Biokémiai Tanszékének munkatársai.

Egyik fő kutatási területünk, az MTA Enzimológiai Intézettében Závodszky Péterrel és Gál Péterrel együtt a komplement rendszer aktiválás első fázisában részt vevő enzimek vizsgálata. A komplement rendszer a veleszületett immunitás fontos részét képezi, működésének célja a szervezetbe került kórokozók és károsodott saját sejtek eltávolítása egy enzim kaszkádrendszer segítségével. Rendellenes aktiválódása súlyos szövetkárosodáshoz vezethet (gyulladásos és autoimmun folyamatok), ezért a különböző aktiválódási utak megismerése és szelektív gátlásának kidolgozása gyakorlati jelentőséggel is bír. Az aktiválódás klasszikus és lektin útjának első enzimatikus lépései a homológ, moduláris felépítésű szerin proteázok autoaktiválódása, valamint a kaszkád következő tagjának aktiválása. A katalízisért a kimotripszin-szerű szerin proteáz domén felelős.

A lektin út enzimei, a MASP-1 és a MASP-2 a kaszkád elindításában betöltött szerepének vizsgálata céljából MASP-1- és MASP-2-specifikus fehérje inhibitorokat fejlesztettek ki SGPI kanonikus tripszin inhibitor vázon Pál Gábor (ELTE Biokémiai Tanszék) közreműködésével, amelyekkel bizonyították, hogy a MASP-1 a MASP-2 fiziológiás aktivátora<sup>8</sup>. Meghatároztuk a komplexálatlan enzimek szerkezetét, majd az enzim/inhibitor komplexek (MASP-2/SGMI-2 és MASP-1/SGMI-1) szerkezetvizsgálatával a specificitás szerkezeti hátterét derítettük fel Fodor (EMBL-Hamburg) Krisztiánnal együttműködésben. Magyarázatot kaptunk arra is, hogyan járul hozzá az S1/P1 kölcsönhatás az inhibitor specifitáshoz (az SGMI-2 esetén arginin és lizin kötődése is kedvező, míg SGMI-1 esetén csak az arginint tartalmazó variánsok gátolják az enzimet). A MASP-2 esetén az inhibitor kötődése nagyobb mértékű

konformáció változással járt, ami különösen a 3 hurokrégiót, és az inhibitor ezzel kölcsönható szakaszát érintette. A 3 hurokrégió elmozdulása allosztérikusan, a Gln224 oldallánc közvetítésével érinti az S1 zsebet is, megőrizve azt a lehetőséget, hogy a P1 helyzetű arginin és lizin oldallánc egyaránt kedvező kölcsönhatásokat alakíthasson ki. A MASP-1 esetén a 224. helyzetű arginin oldallánc az Asp189 aminosavval sóhidat alakít ki és verseng az inhibitor P1 aminosavjával, ezért a hosszabb oldalláncú és erősebb kölcsönhatást létesítő, P1 helyzetű arginin kötődése kedvező, a liziné nem.



8. Ábra. A szubsztrát specifitási zseb környezetének átrendeződése a MASP-2/SGMI-2 (balra) és MASP-1/SGMI-1 (jobbra) komplexekben. A szabad enzim szürke, a komplex zöld/világoskék, az inhibitor narancs/lila, az aminosavakat a kimotripszin számozás szerint jelöltük. A MASP-2 esetén az inhibitor kötődésekor a 3 hurokrégió lefelé mozdul el, ennek következtében térbeli okok miatt a Gln224 befordul, és a zseb H-híd rendszerében vesz részt (l. a sárga nyilakat az ábrák alsó részén). A megfelelő Arg224 a szabad MASP-1-ben ebben a zseb felé fordult konformációban van. Az inhibitor P1 arginin oldallánca verseng vele az Asp189 sóhídért, így az inhibitor kötéskor kifordul.

Egy másik szerin proteáz család, a szerin oligopeptidázok vizsgálatát több mint egy évtizede végezzük Polgár László (MTA Enzimológiai Intézet) meghatározó közreműködésével. A katalízis és specificitás mellett egy további érdekes kérdés, hogy hogyan jut be a szubsztrát az aktív helyre a szerin oligopeptidázokban. Ezek csak oligopeptideket képesek elhasítani, nagyobb fehérjéket nem, ugyanis az aktív helyük a propeller és hidroláz doménjük közötti üregben helvezkedik el. Az aktív helv a család egyes képviselői esetén (pl. dipeptidil peptidáz IV) egy oldalsó nyíláson keresztül hozzáférhető a szubsztrát számára, míg másoknál (pl. prolil oligopeptidáz, acilpeptid hidroláz) az aktív enzim szerkezete zárt 9. Az acilpeptid hidroláz vizsgálata során olyan kristályformát sikerült előállítanunk, amelyben együtt van jelen az enzim csukott, formája, amelyben a katalitikus hely aktív konformációban van, és a nyitott forma, amelyben a két domén szétnyílt. A nyitott formában jelenlévő oldalbejáraton keresztül az aktív hely hozzáférhető a szubsztrát molekula számára, azonban a katalitikus triád középső tagját tartalmazó hurok destabilizálódott és elmozdult, elveszítvén a propeller doménnel alkotott kölcsönhatásait, tehát ebben az állapotában az enzim inaktív (9. ábra). A méretszelekció tehát azáltal valósul meg, hogy nyitott állapotban, amikor nagyobb fehérjék is hozzáférhetnének az aktív helyhez, az enzim katalitikusan inaktív, aktív állapotában pedig az enzim ürege korlátozza a szubsztrát méretét. A két állapot közötti átmenet elképzelhető szubsztrát-indukált módon vagy konformációs szelekció szerint is. Az, hogy a szabad enzim nyitott és csukott állapotban is megfigyelhető, az utóbbi mechanizmusra utal.



9. Ábra. Az A. pernix acilpeptid hidroláz nyitott és csukott konformációjú szerkezetei. Színezés mozgékonyság szerint, piros: mozgékony, kék: merev; a katalitikus triád aminosavait S, H, D jelöli; a hisztidin helyét a nyitott szerkezetekben gömb jelzi. Balra: több kristályforma összevetésével egyféle csukott és egyféle nyitott globális konformációt találtunk. A nyitott formában a propeller domén eltávolodásával a hisztidint hordozó hurok mozgékonnyá válik, és a szerkezetekben különböző konformációt is felvehet. Jobbra: nagyított kép az aktív helyről. A csukott szerkezet az intakt katalitikus triáddal szürke, a nyitott szerkezetek mozgékonyság szerint vannak színezve.

## 4. A spinek "bevilágítanak" akár egy egész fehérjét

Az ELTE Természettudományi Karán működő NMR spektroszkópiai laboratórium három készüléknek ad otthont és összeköti munkánkat a Kémiai Intézet munkatársaival, Rohonczy János és Csámpai Antal kollégákkal. Az Avance 250, a DRX 500 illetve az Avance III 700 típusú Bruker (10. ábra) készülékek számos mérőfejjel vannak felszerelve, melyek a mindennapi gyakorlatban leginkább előforduló <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N, <sup>19</sup>F, <sup>31</sup>P mérések mellett a tanulmányozott kémiai, biológiai rendszertől függően <sup>10</sup> más, ritkábban kiaknázott NMR aktív magok mérését is lehetővé teszik. Ezek közé sorolható például a <sup>17</sup>O, <sup>27</sup>Al, <sup>29</sup>Si, <sup>51</sup>V, <sup>111</sup>Cd, <sup>195</sup>Pt. Mindezek hűen tükrözik, hogy szerteágazó kémiai, biológiai kérdésekre lehet keresni a válaszokat.

Szerkezetkutató laboratóriumunk egyik fő kutatási irányvonalát a fehérjék oldatfázisú szerkezetvizsgálata, dinamikus tulajdonságaik feltérképezése jelenti. Kisebb rendszerek esetén a természetes izotóparány adta érzékenység kiaknázása is elégséges lehet, ám nagyobb méretű fehérjék esetében szükség van <sup>15</sup>N, <sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N, vagy akár <sup>2</sup>D/<sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N izotópjelölésre. Ahogy arra már korábban utaltunk, a fehérje expressziós laboratórium beüzemelésének egyik hajtóereje éppen a költséges izotópjelölés házon belüli megoldása volt. Mindezek tükrében a fehérjék viselkedéséről az NMR spektroszkópia számos igen hasznos információt szolgáltat. A térszerkezet meghatározás feladata mellett gyakran fontos a peptid gerinc belső mozgásának jellemzése, az úgynevezett dinamikai paraméterek meghatározása is. A



10. Ábra. A 700 MHz-es NMR spektrométer és hasznos kellékei.

fehérje – ligandum (hatóanyag vagy gyógyszermolekula) kölcsönhatásának mikéntje, az atomi részletek meghatározása kiemelten fontos feladat, miközben nem csak az egyensúlyi komplex, de az enzimreakciók kinetikájának követése, a mechanizmus útvonalak feltérképezése is lehetővé válik a korszerű NMR spektroszkópiának köszönhetően. Paradox módon a rendezetlen (IDP, IUP) fehérjék szerkezeti jellemzése is megoldható ügyes NMR-es kísérletek segítségével, és meg kell említeni azt is, hogy előszeretettel végzünk úgynevezett in-cell NMR méréseket, amikor a kiszemelt fehérje téralkatára, kölcsönható partnereire nem izolált hanem élő sejtes körülmények közepette lehet következtetni. Alább ízelítőt adunk néhány fehérjecsalád kapcsán végzett NMR-es munkánkból.

A motorfehérjék közé sorolható homodimer dinein téralkatát, Nyitray Lászlóval (ELTE Biokémiai Tanszék) közösen vizsgáltuk,<sup>11</sup> szabad állapotában valamint egy rendezetlen miozin lánc fragmensével együtt (ll. ábra). Jellemeztük a rendezetlen fragmenst mind szabad, mind kötött állapotában. Megállapítottuk a kötődéskor képződő béta redő jelenlétét, s kimutattuk a fehérje és peptid oldaláról is a kötőhely atomi jellemzőit.



11. Ábra. A dinein kölcsönhatása rendezetlen miozin lánccal (zöld színnel jelölve).

Reményi Attila (ELTE Biokémiai Tanszék) javaslatára vizsgáltuk a MAPK kinázokkal kölcsönható lineáris motívumokat (12. ábra). Az esetenként 15-25 aminosavból álló peptid fragmensek teljes multinukleáris NMR jellemzését végeztük el. Ez által rendezetlenségi paramétereket határoztunk meg vizes oldatban és 8 mol/ dm<sup>3</sup> karbamid denaturáló közegben. Célunk a kölcsönhatás feltérképezése mellett a kinázok regulációs működési mechanizmusának mélyebb megértése.



12. Ábra. MAPK kinázokkal kölcsönható lineáris peptidlánc.

Batta Gyula (Debreceni Egyetem, Szerves Kémiai Tanszék) kollégánkkal relaxáció diszperziós méréseket végeztünk az antifungális PAF fehérjén (13. ábra), amely molekula 55 aminosavból épül fel, mégis komplex diszulfidhíd jellemzőket mutat. Megállapítottuk, hogy e fehérje esetében csak viszonylag magas hőmérsékleten jellemző a lassú (mili-, mikro-szekundumos) időskálájú mozgás.<sup>12</sup>



13. Ábra. Az antifungális PAF fehérje.

Nyitray Lászlóval (ELTE Biokémiai Intézet) közösen vizsgáltuk az S100A homodimer fehérje Ca<sup>2+</sup> kötő képességét. NMR mérésekre alapozva megállapítottuk, hogy a fehérje 2:1 arányú komplexet képez egy 45 aminosav hosszú miozin lánccal. Megfigyeltük, hogy a két fehérje kötődése során a szimmetria megbomlik (l. 14. ábra).

Végül de nem utolsósorban érdemes megemlíteni hogy a modern nagytérerejű NMR készülékek, valamint a biotechnológiai módszerek ötvözésének köszönhetően lehetőség nyílik ma már akár kisebb fehérjék



14. Ábra. Az S100A homodimer fehérje modellje.

állapotváltozásának (pl. termikus denaturáció, koncentráció kiváltotta aggregáció, stb.) atomi szinten történő nyomon követésére. A beépített izotópoknak (15N, 13C, 2H) és a gyors pulzusszekvenciáknak hála, értékes információ gyűjthető akár néhány 100 µl mennyiségű (50-100 µMos) minta esetén, mindössze néhány perc leforgása alatt. A már korábban említett Trp-kalitka, minifehérje esetében (15. ábra) ez azt jelenti például, hogy megfigyelve NMR-ielek hőmérsékletfüggését úgvnevezett egves diszkrét "letekeredési állapotokat" (folding intermediate) azonosíthatunk és jellemezhetünk, jobban megértve ezzel bioaktív makromolekulák szerkezet-hatás-dinamika а összefüggéseit.13



15. Ábra. Egy "Trp-kalitka" fehérje hődenaturációjának nyomon követése heteronukleáris korrelációs NMR spektrumok segítségével.

## 5. Kitekintés

A molekuláris szemlélet ma már meghatározó szerepet játszik a biológiában. A modern preparatív, műszeres és modellezési módszerek fejlődése lehetővé teszi, hogy az elemi életfolyamatokat megismerjük a molekulák szintjén, értelmezzük, és ennek alapján akár tervezzük is. Ez a megközelítés döntő szerepet játszik a modern gyógyszerkutatásban is, sokszínű laboratóriumunkkal ezt igyekszünk szolgálni. Csoportunk egymással állandó kölcsönhatásban álló, jelentősen különböző kísérleti technikákat magas szinten alkalmazó tagjai képesek arra, hogy ezeket együttesen alkalmazva egy-egy téma kutatásában a hazai és nemzetközi igényeknek megfelelő eredményeket érjenek el.

## Köszönetnyilvánítás

Perczel András, mint a csoport vezetője köszöni korábbi munkatársainak és hallgatóinak, valamint a képen látható összes személynek a kitartó és eredményes munkát. Köszönet a hazai (OTKA, MTA TKI, TAMOP, stb.) és külföldi (FP7, Wellcom Trust, ICGEB, stb.) támogatásokért.

### Hivatkozások

- Hudáky, P.; Stráner, P.; Farkas, V.; Váradi, G.; Tóth, G.; Perczel, A. *Biochemistry* 2008, 47, 1007-1016.
- Rovó, P.; Farkas, V.; Hegyi, O.; Szolomajer-Csikós, O.; Tóth, GK.; Perczel, A. *Journal of Peptide Science* 2011,17, 610-619.
- Szeltner, Z.; Kiss, AL.; Domonkos, K.; Harmat. V; Náray-Szabó, G.; Polgár L *Biochimica et Biophysica Acta* 2009, 1794, 1204-1210.
- Pohl, G.; Beke, T.; Csizmadia, IG.; Perczel, A. Journal of Physical Chemistry B 2010,114, 9338-9348.
- 5. Beke-Somfai, T.; Perczel, A. *Journal of Physical Chemistry Letters* **2010**, *I*, 1341-1345.
- Perczel, A.; Gáspári, Z.; Csizmadia, IG. Journal of Computational Chemistry 2005, 26, 1155-1168.
- 7. Perczel, A.; Hudáky, P.; Pálfi, VK. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 14959-14965.
- Dobó, J.; Harmat, V.; Beinrohr, L.; Sebestyén, E.; Závodszky, P.; Gál, P. *The Journal of Immunology* 2009, 183, 1207-1214.
- Kiss, AL.; Palló, A.; Náray-Szabó, G.; Harmat, V.; Polgár, L. Journal of Structural Biology 2008, 162, 312-323.
- Gyimesi, M.; Kintses, B; Bodor, A.; Perczel, A.; Fischer, S.; Bagshaw, CR.; Málnási-Csizmadia, A. *Journal of Biological Chemistry* 2008, 283, 8153-8163.



16. Ábra. Az MTA-ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoport és a Kémiai Intézet Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratóriumának tagjai és diákjai (nyár 2011).

- 11. Hódi, Z.; Németh, A.; Kovács, E.; Hetényi, C.; Bodor, A.;
- Perczel, A.; Nyitray, L. *FEBS Journal* 2005, *272*, 335-335.
  12. Gáspári, Z.; Várnai, P.; Szappanos, B; Perczel, A. *Current* Protein & Peptide Sciences 2010, 11, 515-522.
- 13. Rovó, P.; Stráner. P.; Láng, A.; Bartha, I.; Huszár, K.; Nyitray, L.; Perczel, A. Chem Eur J, 2012, nyomdában.

### Observing the invisible, foldamers and structural building blocks of peptides and proteins

Among biomolecules, proteins fulfill the most diverse roles in a cellular system. Recent advances in X-ray diffraction techniques, NMR-spectroscopy and computational advances made possible to characterize both their structure and internal motion, on a wide range of time-scale. Beside their 3D structures and dynamics it is fundamental to understand their biological activity coupled to its physical chemical properties. A brief introduction is provided on how protein structure and motion can be captured and analyzed. Our most recent results associated with chemical synthesis as well asbacterial expression of polypeptides, foldamres and proteins are described here. In silico methods (MM, MD, QM, ab initio, functionals etc.) are widely used in our Protein Modeling Research Group (HAS-ELTE) to describe various aspects of polypeptide structure and stability. X-ray diffraction methods resulted in structural information on larger proteins (e.g. Acylaminoacyl peptidase) are discussed in details. Finally, our most recent bioNMR spectroscopy related studies are spelled out. The detailed research summery of the Laboratory of Structural Chemistry and Biology is concluded by an outlook, focusing on how various molecular systems of biological importance could be studied to understand more on their Dynamics-Structure-Activity Relationships.

# A szililezett savamid-származékok kémiájának újabb eredményeiről az ELTE-n folyó kutatások tükrében

SZALAY Roland,<sup>a,\*</sup> MÖRTL Mária,<sup>a,b</sup> PONGOR Gábor,<sup>a</sup> KOLOS Zsuzsanna,<sup>a</sup> ROHONCZY János<sup>a</sup> és KNAUSZ Dezső<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Szilíciumorganikus Kémiai Laboratórium, ELTE Kémiai Intézet, Pázmány Péter sétány 1/A, 1117 Budapest <sup>b</sup>Központi Környezet- és Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet, Herman Ottó út 15., 1022 Budapest

# 1. Bevezetés

Napjainkban a szilíciumorganikus vegyületek szinte a kémia összes alkalmazási területén jelen vannak.1 Példának okáért megemlíthetők a szilikon műanyagok, melyeknek számos változatát gyártják a legkülönfélébb felhasználási célokra; vagy az illékony, és egyben hőre viszonylag érzékeny szilánok, melyek gyakran alkalmazott előanyagok kerámiák előállításánál, vékonyrétegek kémiai leválasztásánál (pl. elektronikai célokra); vagy az ún. szilán-kapcsoló (silane coupling) ágensek, melyek mind a hétköznapokban (pl. textilöblítés, kompozit anyagok), mind pedig a korszerű kutatásban (pl. DNS-csip technológia) fontos szerephez jutnak; vagy akár a szililező szerek, melyek különféle vegyületek (alkoholok, fenolok, karbonsavak, tiolok, amidok, aminok, stb.) mozgékony hidrogénatomját képesek szilil-csoportra (jellemzően Me<sub>3</sub>Si-re) cserélni. A szililezés eredményeként a célmolekula illékonysága és hőstabilitása jelentősen megnövekedhet, amit előszeretettel alkalmaznak a gázkromatográfiás, illetve a tömegspektrometriás vizsgálatok során (származékképzés). Szililezéssel ugyanakkor nemcsak az említett vegyületek jellemző csoportjait "blokkoló", hanem a molekula más részleteinek reakciókészségét fokozó (aktiváló), illetve irányító hatást is el lehet érni, amit gyakran ki is aknáznak soklépéses szerveskémiai szintézisekben.<sup>2</sup> Számos kondenzációs típusú (hidrogén-klorid-, víz-, stb., kilépéssel járó) átalakításban pedig sokszor előnyös, ha a kismolekulás melléktermék szililezett formában (pl. klórszilánként, hexametil-disziloxánként) válik szabaddá.

Az utóbbi alkalmazásokhoz kapcsolódóan indultak el az ELTE-n Knausz Dezső irányításával a három évtizedes múltra visszatekintő, a karbamidsav szililészterek és származékainak körében folyó kutatások.3 A vegyületcsalád egyik legkorábban előállított és egyben legalaposabban tanulmányozott képviselőjének, O-trimetilszililaz N,N-dimetil-karbamátnak a kiemelkedő jelentőségét jól fémjelzi az a tény, hogy a kutatócsoport tevékenységének köszönhetően több neves, finomvegyszert gyártó világcég is kereskedelmileg forgalmazza (a *Fluka* 1983-tól, az *Aldrich* 1993-tól).<sup>4</sup> A vegyület szililezőszerként igen előnyös tulajdonságokkal rendelkezik: (a) alkoholok, fenolok, karbonsavak esetében egyértelmű terméket szolgáltat; (b) enyhe kísérleti körülmények között reagál (szobahőfok,

rövid reakcióidő); (c) a szililezés során felszabaduló, de az elegyben kismértékben oldva maradt amin autokatalitikus hatású; (d) mind a vegyület, mind pedig a belőle képződött melléktermékek illékonyak; (e) folyékony halmazállapota miatt oldószer nélkül is alkalmazható; (f) a szililezett minta a szililezőszer feleslegében bomlás nélkül hosszú ideig eltartható (1. ábra).

A kutatócsoportban az elmúlt pár évtized során számos szililezett karbamidsavat és rokon vegyületeket állítottak elő,<sup>5</sup> molekulaszerkezetüket mind kísérleti, mind elméleti módszerekkel behatóan tanulmányozták,<sup>6</sup> változatos körülmények között vizsgálták reakciókészségüket,<sup>7</sup> továbbá a vegyületek alkalmazásával eljárásokat dolgoztak ki kémiai problémák gyakorlati megoldására.<sup>8</sup> Jelen közleményben az ezredforduló óta eltelt időszak (részben csak előadásokon, konferenciákon bemutatott) fontosabb eredményeit foglaljuk össze.

## 2. A szilil-karbamátok reakcióinak vizsgálata oxovegyületekkel

A szilil-karbamátok nem csupán szilil-csoport átadásával járó reakciókban (szililezés) vehetnek részt, de általuk bizonyos szerves funkciós csoportok is átalakíthatók egymásba.

# 2.1. Enaminok képződése

Enaminok előállítására több módszer ismeretes, a legrégebbi és leggyakrabban használatos szerint az aminok és az oxovegyületek között lejátszódó, vízkilépéssel járó reakció során nyerik a terméket. Nehézséget jelent ugyanakkor az illékony aminokból (pl. dimetil-aminból) elkészíteni a megfelelő származékot, ilyen esetekben hosszú reakcióidőkkel, illetve drága reagensek alkalmazásával kell számolni. Mörtl és mtsai új módszert dolgoztak ki, melyben *O*-trimetilszilil-*N*,*N*-dialkil-karbamátokból (R = Me-<sup>*n*</sup>Bu) mint szekunder amin-helyettesítőkből kiindulva jutottak a megfelelő enaminhoz általában jó hozammal (> 70%), enyhe körülmények között (néhány óra alatt, rendszerint szobahőfokon, kis reagensfelesleg mellett, oldószer nélkül).<sup>9</sup>



1. Ábra. Az O-trimetilszilil-N,N-dimetil-karbamát szililezési reakciója.

\* Tel.: 36 1 372 2500/1607 ; fax: +36 1 372 2592 ; e-mail: szalayr@chem.elte.hu

A szilil-karbamát és az oxo-vegyület optimális mólarányára a 2,5:1 értéket találták, ennek értelmében tehát a szililkarbamát egyben vízelvonószerként is hat a szintézis során (2. ábra). Gyűrűs ketonok (ciklopentanon, ciklohexanon) minden esetben a megfelelő enamint szolgáltatták. Acetilacetonnál (R' = MeCO, R" = Me) még nagy reagensfelesleg jelenlétében is csak az egyik karbonil-csoport alakult át, az acetecetészterben (R' = EtOCO, R" = Me) pedig az észterrészlet maradt változatlan. Megállapították továbbá, hogy az eljárás nem adja a várt enaminokat aldehidekkel (R" = H), valamint R = Me esetén metil-ketonokkal (R" = Me), illetve R = Et-"Bu esetén acetonnal, helyettük nemkívánt aldol-kondenzációs melléktermékek képződnek az oxovegyületekből. Utóbbi folyamat megakadályozása céljából a propion-aldehidet, illetve a metil-etil-ketont előzőleg etilén-, illetve propilén-glikollal dioxolánná is átalakították, de ezek a védett származékok nem reagáltak a szilil-karbamáttal.<sup>96</sup> A reakció mechanizmusával kapcsolatban vizsgálták azt is, hogy az enaminképződés lejátszódhat-e szilil-enoléter típusú köztiterméken keresztül, de mivel *N*-trimetilszilil-*N*,*N*-dimetilaminból az 1-tetralonnal és a ciklohexanonnal elkészített megfelelő szilil-enoléterek *O*-trimetilszilil-*N*,*N*dimetil-karbamáttal nem reagáltak, ezért kizárták ezen reakcióút lehetőségét.

$$2 R_2 N - \begin{pmatrix} O \\ O-SiMe_3 \end{pmatrix} + R' - \frac{O}{R''} + R' - 2 CO_2 \end{pmatrix} R' - R' - R' + (Me_3Si)_2 O + Me_2 NH$$

2. Ábra. Az O-trimetilszilil-N,N-dialkil-karbamátok reakciója oxo-vegyületekkel.

### 2.2. Iminek és alkoximok képződése

A primer aminok és oxo-vegyületek között lejátszódó kondenzációs reakció szilícium-analógjaként, Mörtl és mtsai tanulmányozták aldehidek és ketonok átalakításának lehetőségét a megfelelő *N*-metil-, illetve -fenil-iminekké *N*,*O*-bisz(trimetilszilil)-*N*-metil-, illetve -fenil-karbamát reagens segítségével (3. ábra).<sup>10</sup> Az *N*-metil származékok esetében mérsékelt hozamokat értek el, nagy térigényű, illetve aromás ketonok reakcióiban pedig még reagensfelesleg és magasabb hőmérséklet alkalmazásakor is csak kismértékű átalakulást tapasztaltak. 1,3-dioxo-vegyületekből (acetilaceton, acetecetészter) imin helyett a stabilabb tautomer

alak, az enamin keletkezését figyelték meg. Ferrocenilaldehid származékok esetén viszont jó hozammal nyerték a megfelelő *N*-metil-imint, habár háromszoros reagensfelesleg használatára volt szükség.

Szintetikus kémiai szempontból sokkal eredményesebbnek mutatkoztak azok a vizsgálatok, melyek során primer aminhelyettesítőként az *O*-metil-hidroxil-aminból levezethető *N*,*O*-bisz(trimetilszilil)-*N*-metoxi-karbamátot reagáltatták különféle oxo-vegyületekkel, így hexametil-disziloxán és szén-dioxid eliminációjával nyerték a megfelelő *O*-metiloxim származékot rendszerint a *syn* és az *anti* izomerek keverékeként (3. ábra).<sup>10</sup>



3. Ábra. Az N, O-bisz(trimetilszilil)-N-metil/metoxi-karbamátok reakciója oxo-vegyületekkel.

Érdemes megjegyezni, hogy az irodalom szerint az alkiloximokat általában a hidroximok O-alkilezésével készítik, de nemkívánt melléktermékként gyakran a megfelelő izomer nitront (*N*-alkilimin-*N*-oxidot) kapják. Utóbbi reakció egyébként más, szilíciumorganikus típusú reagens használatával sem volt kivédhető. További problémát jelent a haloketonok átalakítása is, mivel az alkalmazott hidroxil-amin feleslege a halogénatom szubsztitúciójával hidroxilamino-oxim típusú terméket eredményez, ráadásul mind  $\alpha$ -haloketonok, mind pedig aromás aldehidek esetében a metanol szokásos oldószerként való használata a megfelelő acetál képződésével jár.

A felsorolt hátrányok jól kiküszöbölhetők a fent említett szilil-karbamát reagens alkalmazásával. A reakciókat minden esetben savkatalízis (általában 2 mól% trifluorecetsav) jelenlétében hajtották végre, gyakran szobahőmérsékleten, néhány óra alatt. Az 1,3-dioxo-vegyületek közül az acetecetészternek csak a keto-csoportja alakult át oximmá,

az acetil-acetonnál viszont bonyolultabb volt a helyzet: a kiindulási anyagok 1:1 mólarányánál a monoxim (mo) és a dioxim (do), míg a szilil-karbamát / diketon 2,5: 1 aránya esetén a dioximon kívül az acetilacetonnak mind a monoszilil-enolétere (se), mind pedig a vegyes szililenoléter-monoxim (semo) származéka is képződött (4. ábra). Az utóbbi elegy etanolos kezelése után csak a sztöchiometrikus reakciónál tapasztalt termékek (mo és do) maradtak vissza, melyeket desztillációval lehetett elválasztani egymástól. A fenti reakcióktól függetlenül, más úton is elkészítették a monoszilil-enolétert (acetilacetonból hexametil-diszilazánnal), és az így kapott terméket reagáltatták aztán az N,O-bisz(trimetilszilil)-N-metoxikarbamáttal, de mivel átalakulás nem játszódott le, ezért megállapították, hogy a vegyes szililenoléter-monoxim esetében a metoxim-képződés meg kell, hogy előzze a szililenol-éter részlet kialakulását. Fontos megemlíteni, hogy a szteroidok gázkromatográfiás vizsgálatához kapcsolódóan a Knausz és mtsai által korábban közölt eredményekkel

összhangban,<sup>8a</sup> a fenolos hidroxil-csoportot is tartalmazó ketonok, aldehidek esetében a szilil-karbamáttal kettős származékképzés megy végbe, mivel az OH funkció szililezésével párhuzamosan játszódik le az oxo-csoport metoximmá alakulása, habár az előző folyamat sokkal gyorsabb. Haloketonokból ugyanakkor az előzőekben említett szubsztitúciós mellékreakció nélkül nyerhetők jó hozammal a megfelelő metoximok. Megjegyzendő,

hogy míg 1-tetralonnal átalakulás nem volt tapasztalható, addig alifás aldehidekkel (pl. propionaldehiddel) összetett termékelegy keletkezett, feltehetően az enaminoknál fent már tárgyalt aldolkondenzációs mellékreakciók miatt. Végezetül megemlíthető, hogy az eljárást sikeresen lehetett kiterjeszteni *N*-sziloxi-imin előállítására is *N,O*bisz(trimetilszilil)-*N*-trimetilsziloxi-karbamát reagens alkalmazásával.



**4.** Ábra. Az acetilaceton és az *N*,*O*-bisz(trimetilszilil)-*N*-metoxi-karbamát reakciója során képződött termékek: 1:1 mólaránynál **mo** és **do**, illetve 1:2,5 aránynál **se**, **semo** és **do** származékok.

# 3. Vegyes (tio)karbamidsav-(tio)anhidridek előállítása szilil-(ditio)karbamátokból

A szilil-karbamátoknak az oxo-vegyületekkel fent tárgyalt, illetve a karbonsav-származékokkal (savkloridokkal, savanhidridekkel) korábban Knausz és mtsai által vizsgált reakcióit<sup>3a</sup> Mörtl és mtsai később kiterjesztették a szililditiokarbamátok analóg reakcióinak tanulmányozására is.<sup>11</sup>

Megállapították, hogy a szilil-ditiokarbamátok különféle oxo-vegyületekkel (4-metil-2-pentanon, ciklohexanon, propionaldehid, acetilaceton, acetecetészter,  $\gamma$ -butirolakton) lejátszódó reakciói komplex termékelegyhez vezetnek, így preparatív szempontból nem hasznosíthatók, ezzel szemben karbamoil-, illetve tiokarbamoil-kloridokkal egységes termékhez, a megfelelő tiokarbamidsav-tioanhidridekhez jutottak közel kvantitatív hozammal (5. ábra). Miközben szilil-ditiokarbamátok karbamoil-kloriddal trimetilа klórszilán kilépése mellett készségesen alakíthatók át a vegyes tioanhidriddé, addig a szilil-karbamátok tiokarbamoilkloriddal sokkal lassabban reagálnak. A reakciók sebességét a sztérikus hatások jelentősen befolyásolják, nagytérigényű csoportokat hordozó reaktánsokkal jóval vontatottabban megy végbe az átalakulás, ezzel összefüggésben viszont az így kapott termékek számottevő termikus bomlását is meg lehetett figyelni. A vegyes anhidridek stabilitása ugyanakkor nő a termék kén-tartalmának növekedésével; míg pl. a dimetil-karbamidsav-anhidrid rövid idő alatt elbomlik

a megfelelő tetrametil-karbamidot hátrahagyva, addig a három kénatomot tartalmazó *N*,*N*-dimetil-*N'*,*N'*-dietiltiurám-monoszulfid szobahőfokon 3-4 hónap alatt alakul csak át *N*,*N*-dimetil-*N'*,*N'*-dietil-tiokarbamiddá. Szemben a hőre érzékeny karbamidsav-anhidridekkel, a tio-analógok (különösen a nagyobb S-tartalmúak) vákuumdesztillációval már kényelmesen tisztíthatók. A hőbomlást egyébként mindig szén-dioxid vagy szén-diszulfid kihasadása kíséri, olyan vegyes anhidrideknél, melyeknél karbonil-szulfid kilépésére is van elvi lehetőség, sohasem sikerült ezt megfigyelni.

A továbbiakban az S-trimetilszilil-N,N-diciklohexilditiokarbamát, mint modellvegyület, reakcióját vizsgálták különböző savkloridokkal (5. ábra). Míg acetil-, illetve benzoil-kloriddal a megfelelő N,N-diciklohexil-amidok képződtek, ami értelmezhető a kezdetben keletkező anhidrid CS<sub>2</sub>-vesztésével, addig a klórhangyasav-etilészterrel lejátszódó reakció a megfelelő vegyes tiokarbamidsavszénsav-tioanhidridet eredményezte, mely csak fokozatosan (1-2 hónap alatt) alakult át CS<sub>2</sub> kilépése közben O-etil-N,Ndiciklohexil-karbamáttá.

Ezt követően a fent említett eljárással nyert vegyes (tio)karbamidsav-(tio)anhidrideket további reakcióba vitték sztöchiometrikus mennyiségű trimetilszilil-*N*,*N*-dimetil-karbamáttal, de számottevő átalakulást, szemben a tioanhidridekkel, csak az anhidridek esetében tapasztaltak.



5. Ábra. A szilil-(ditio)karbamátok reakciója (tio)savkloridokkal.

### 4. Reaktív köztitermékek előállítása szililkarbamátokból

Mörtl és mtsai korábban már tanulmányozták az *N*trimetilszilil-*N*-trimetilsziloxi-karbamátok termikus bomlását, melynek során hexametil-disziloxán α-eliminációjával alkoxi-/sziloxi-karbonil-nitrén intermediert generáltak.<sup>12</sup> A tömegspektrometriával is kimutatott nitrént különféle reagensekkel csapdázták, így pl. beékelődött C-H kötésbe, irányított cikloaddícióban vett részt, stb. A továbbiakban vizsgálataik körébe bevonták az *N*-szilil-*N*-sziloxiamidokat, melyek hőbomlásakor viszont a keletkező nitrén izocianáttá rendeződött át.<sup>13</sup> Ezen tapasztalat kapcsán elkezdték módszeresen tanulmányozni a karbonil-csoport szubsztituensének befolyását az átalakulás termékére. Megállapították, hogy alkoxi és sziloxi szubsztituens esetén a megfelelő nitrén (MS, csapdázás), míg alkil, szilil és dimetil-amino szubsztituensnél pedig a megfelelő izocianát (MS, IR, GC) mutatható ki (6. ábra).

Preparatív szempontból érdemes kitérni arra, hogy az *N*-szilil-*N*-sziloxi-karbamidok előállításakor a kiindulási *N*-hidroxikarbamidot a szokásosnak számító 70-80 °C-on hexametildiszilazánnal szililezve a várt *O*-szililezett karbamid helyett izocianát keletkezett. Ebből az a következtetés vonható le, hogy ilyen körülmények között a nitrogén szilileződése szintén lejátszódik, majd az így képződött *N*-szilil-*N*- sziloxi-karbamid bomlásából származó nitrén átrendeződése is bekövetkezik. Az OH-csoport szelektív szililezését végül *O*-trimetilszilil-*N*,*N*-dimetil-karbamáttal hajtották végre, az NH-csoportét pedig trietil-amin jelenlétében trimetilklórszilánnal valósították meg.

A nitrén-izocianát izomerek stabilitási viszonyainak értelmezéséhez Pongor és mtsai kvantumkémiai (szemiempirikus PM3, ab initio Hartree-Fock és B3LYP funkcionálos DFT) számításokat végeztek, melynek eredményei alátámasztották a kísérleti tapasztalatokat.<sup>14</sup> A triplett alapállapotú nitréneket megszorításos nyílt-héjú Hartree-Fock (ROHF), a zárt-héjú szingulett alapállapotú izocianátokat a szokásos RHF típusú hullámfüggvénnyel (illetve ezek Kohn-Sham-pályákkal képzett változataival) írták le.



6. Ábra. Az N-trimetilszilil-N-trimetilsziloxi-savamid származékok termikus bomlása.

# 5. Szilil-karbamátok mint karbamáto-csoportot átvivő reagensek

Az átmenetifém-komplexek szintézisére hagyományosan a megfelelő, leginkább hozzáférhető fém-klorid és a ligandum alkálifém-sója között lejátszódó sóeliminációs reakciót használják, de ilyenkor problémát jelenthet a ligandumforrás csekély oldhatósága az elegyben, túl nagy bázicitása/nukleofilitása, a melléktermék alkálifém-klorid csapadék rossz szűrhetősége, stb. A felsorolt hátrányok kényelmesen kiküszöbölhetők, ha a ligandum bevitelére annak szililezett származékából indulunk ki, mivel az általában folyékony halmazállapotú és a szokásos aprotikus oldószerekben (tetrahidrofurán, 1,2-dimetoxi-etán, toluol, stb.) jól oldódik, bázicitása elhanyagolható, valamint a klórszilán melléktermék is illékony.

Az átmenetifémek karbamáto-komplexei iránt tapasztalható érdeklődés hátterében főleg az áll, hogy a szén-dioxid kémiai megkötésének, illetve tárolásának egyik lehetséges módját éppen a fém-amidok karboxilezésével nyerhető származékok jelentik.<sup>15</sup> Mörtl és mtsai korábban már beszámoltak vegyes karbamáto-kloro-, illetve ciklopentadienil-karbamáto-kloro-titán(IV) komplexekről, melyeket a titán-tetraklorid, illetve a ciklopentadienil-titán-triklorid és a megfelelő *O*-trimetilszilil-*N*,*N*-dialkil-karbamát között lejátszódó reakcióval nyertek (7. ábra).<sup>16</sup>



7. Ábra. A titán(IV)-klorid reakciója O-trimetilszilil-N,N-diizopropil-karbamáttal tetrahidrofurános oldatban.

Az (Pr,NCOO)<sub>2</sub>TiCl<sub>2</sub>.THF származék egykristályröntgendiffrakciós szerkezete azt mutatta, hogy a titán körül pentagonális bipiramisos elrendeződéssel helyezkednek el a fémhez közvetlenül kapcsolódó ligandum-atomok: az ekvatoriális síkban a kétfogú karbamáto-csoportok és a THF összesen öt O-atomja, az axiális pozíciókban pedig a két Cl-atom található. Mivel hetes koordináció esetében számos izomer megjelenésére nyílik lehetőség, Rohonczy és mtsai az analóg összetételű (de egyben egyszerűbb színképet adó) dimetil-karbamáto-komplex oldatbeli szerkezetét kezdték el tanulmányozni 1D <sup>1</sup>H- és <sup>13</sup>C-, illetve 2D (<sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C HMQC) NMR-spektroszkópiával.<sup>17</sup>



8. Ábra. A (Me<sub>2</sub>NCOO)<sub>2</sub>TiCl<sub>2</sub> oktaéderes komplex három fac és egy mer izomerje.

Beható vizsgálataik alapján megállapították, hogy a hetes koordinációjú (Me<sub>2</sub>NCOO)<sub>2</sub>TiCl<sub>2</sub>.THF komplex deuterokloroformos oldatban irreverzíbilisen elveszti THF-tartalmát és a hatos koordinációjú, három különböző *fac*-, illetve egy *mer*-Cl<sub>2</sub>(Me<sub>2</sub>NCOO)<sub>2</sub>Ti oktaéderes izomerek képződnek statisztikus súlyuknak megfelelő arányban, továbbá amíg a *mer*-alakban a szimmetrikusan kétfogú karbamáto ligandum O-atomjai egyenértékűen kötődnek a titánhoz, addig a *fac*izomerekben azok nem ekvivalensek (8. ábra).

### 6. Szilil-karbamátok alkalmazása a gázkromatográfiástömegspektrometriás analitikában

A bevezetésből már kiderült, hogy a szilil-karbamátok (különösen az *N*,*N*-dimetil származék) mint szililezőszerek számos előnyös tulajdonsággal rendelkeznek, ezért származékképző reagensként előszeretettel alkalmazzák a gázkromatográfiás (GC) elválasztástechnikában, illetve annak tömegspektrometriás detektorral kapcsolt (GC-MS) változatában.

A vizes környezetekben való széles körű elterjedtségüknek, mérgező, illetve kellemetlen érzékszervi tulajdonságaiknak köszönhetően a fenolok és klórfenolok kiemelten fontos szennyezőknek számítanak, melyeknek igen alacsony kimutatását koncentrációkban történő nemzetközi szabványok írják elő; pl. az EU-s irányelvek szerint ivóvízben a megengedett összes fenol-tartalom maximálisan 0,5 µg/L lehet, de az egyedi fenol-koncentráció megengedett szintje nem haladhatja meg a 0,1 µg/L-es határt. Fenolokra a leggyakrabban alkalmazott nyomanalitikai módszereket a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) és a különféle detektorokkal felszerelt gázkromatográfia képviseli. Utóbbi technika esetén a fenolok általában származékképzés nélkül is analizálhatók, de a polárisabb molekulájúak hajlamosak irreverzíbilis megkötődésre, illetve bomlásra a kromatográfiás elválasztó rendszer aktív helvein, melynek eredményeképpen nem kielégítő jelalak, illetve anyagveszteség tapasztalható, különösen a környezeti minták kis koncentráció-értékeinél. Mindezek kiküszöbölésére, és egyben az alsó kimutatási határ csökkentésére, eddig már számos származékképzési eljárást dolgoztak ki, de az összes fenolra egyaránt hatékonyan alkalmazhatót még nem igazán sikerült. Alkilezéssel vagy acilezéssel a környezetanalitikai szempontból fontos fenolokat nem lehet mind átalakítani; így pl. az acilezési reakció során a vizsgálandó komponenseknek fenolát-anionként kell jelen lenniük, ez viszont a minta lúgos kémhatását igényli, melvnek káros következményeként a dihidroxi-benzolok (pirokatechin, rezorcin, hidrokinon) oxidatív bomlást vagy polimerizációt szenvednek. A diazometán hatékony reagens, de igen robbanékony és egyben rákkeltő hatású, ezért a származékképzést megelőzően helyben (in situ) kell azt elkészíteni. A trimetilszilil-diazometánt, mint az előbbi reagens alternatíváját, egyre növekvő mértékben alkalmazzák a fenoxi-sav típusú peszticidek analízisében, de csak a savasabb jellemű fenolokkal (pl. pentaklór-fenol, dinitro-fenolok) képes reakcióba lépni. A metil-jodiddal végrehajtott extraktív metilezés pedig szintén lúgos kémhatást, magasabb hőmérsékletet (65 °C) és a minta háromnegyed órán át tartó erőteljes rázatását igényli. Az irodalomban eddig közölt, alkil-, nitro-, illetve klórfenolok szililezéssel történő származékképzésében viszont a nagyobb térigényű terc-butil-dimetilszilil-csoport bevitele a minta hosszan tartó melegítését (80 °C 1 órán át) kívánja meg, habár beszámoltak már arról is, hogy a 4-nonil-fenolok N-(terc-butil-dimetilszilil)-N-metil-trifluoracetamiddal (MTBSTFA) végrehajtott szililezése 10 perc alatt játszódott le 60 °C-on.

Mörtl és mtsai a kutatócsoport korábbi eredményeire<sup>3a, 18</sup> támaszkodva gyors és egyszerű eljárást fejlesztettek ki 24 fenol (köztük az összes klórfenol-izomer) trimetilszililezett származékának szimultán meghatározására GC-MS technika segítségével (9. ábra).<sup>19</sup> A szililezési reakció szobahőfokon játszódik le, továbbá mivel a reagens és az illékony melléktermékek korán eluálódnak a kromatogramon, így nem zavarják a vizsgálandó komponensek jeleit. Habár a szililezett származékok nedvességre érzékenyek, legalább egy napig számottevő hidrolízis nélkül eltarthatók az extraktum és a szililezőszer 1:1 térfogatarányú elegyében. A származékképzési módszert egy szilárdfázisú extrakciós (SPE) lépés előzte meg, melynek körülményeit szintén optimálták a minél hatékonyabb analízis érdekében. A teljes analitikai eljárás során az összes fenolra (kivéve a rezorcint) 0,05-100 ng/L-es kimutatási határt értek el.



9. Ábra. A trimetilszililezett fenolok és klórfenolok totál-ion kromatogramja (TIC).

Mörtl és mtsai egy másik közleményükben a környezeti mintákban megjelenő klórfenoxi-karbonsav típusú herbicidek GC-MS vizsgálatáról számoltak be.<sup>20</sup> Hazánkban ezen vegyületeket széles körűen használják a mezőgazdaság

és erdőgazdálkodás területén, de mivel viszonylag jól oldódnak vízben, ezért könnyen képesek kimosódni a talajból. A vegyületcsalád némely tagja (pl. a 2,4-D: R = R" = H, R' = Cl vagy a 2,4,5-T: R = H, R' = R" = Cl),



illetve metabolitjaik mérgező hatásúak, ezért környezeti mátrixokban kulcsfontosságú a rendszeres monitorozásuk. Bár számos analitikai technikát alkalmaztak már a kimutatásukra, a GC-MS technika változatlanul a fő vizsgálati módszernek számít a kiváló elválasztási és kimutatási képességeinek köszönhetően. Szabad karboxilcsoporjuk miatt ugyanakkor a GC analízist megelőzően elkerülhetetlen a származékká alakításuk. Bár a szililezéssel történő származékképzéseket tekintetbe véve a trimetilszililcsoportot (TMS) átvivő reagenseket használják leggyakrabban, sok esetben jobb eredmények érhetők el a terc-butil-dimetilszilil-csoport (TBDMS) alkalmazásával, mivel a szililezőszer kevésbé érzékeny nedvességre, továbbá a minta TBDMS-származékká alakított komponensei tömegspektrometriás detektálhatóságuk szempontjából a szerkezetvizsgálat számára kedvezőbb diagnosztikájú mintázattal, illetve fragmentációs kiválasztott-ion követési üzemmódban (SIM) pedig jellemző ionokkal rendelkeznek. A fentiek értelmében tehát a GC-MS analízisekhez a különböző klórfenoxi-sav típusú herbicidek aktív összetevőjét alakították át TMS-, illetve TBDMSszármazékokká az *N*,*N*-dimetil-karbamidsav megfelelő szililészterének segítségével. A továbbiakban vizsgálták a kétféle szilil-csoportnak a retenciós indexekre, illetve az MS-detektálhatóságukra gyakorolt hatását is. A TBDMS-származékok tömegspektrumát döntő mértékben határozta meg a nagyon jellemző [M-57]<sup>+</sup> ion jelenléte. Végeredményben 5-100 pg-os kimutatási határt tudtak elérni a vizsgált komponensek esetében.

# 7. *N*-trimetilszililezett gyűrűs savamid-származékok deszililezésének vizsgálata

Szalay és mtsai egy korábbi cikkükben szililezett dikarbamidsav származékok pirolíziséről számoltak be, melynek során jó hozammal tudták a megfelelő N-szililezett gyűrűs karbamidokat izolálni.5d A így kapott termékek azonos körülmények között készített metanolos oldatainak gázkromatográfiás elemzése során azt tapasztalták, hogy miközben az 5-tagú ciklusok a várt retenciós időknél jól eluálódó komponensre jellemző jelalakot szolgáltatnak, addig a 6-, illetve 7-tagú gyűrűk esetében semmiféle, a termékre utaló GC-csúcsot nem lehet detektálni. Bebizonyosodott, hogy protikus oldószerben (vízben, metanolban) az utóbbi származékok deszilileződése pillanatszerűen játszódik le, ezért nem mutatható ki a kromatogramon a szililezett karbamid. Ennek kapcsán érdemes megjegyezni, hogy - főleg a szintetikus kémiában - az N,N'-bisz(trimetilszilil)karbamidot (BSU) gyakran használják szililezőszerként.<sup>21</sup> Ilyen előzmények után szisztematikus kinetikai vizsgálatokat indítottak el a molekulaszerkezet és a reaktivitás közötti összefüggések feltárása céljából.22



A vegyületek hidrolízisével kapcsolatos előkísérletek során megállapították, hogy míg az 5-tagú gyűrűs diszililimidazolidinon felezési ideje 19 nap (illetve a *C*-metilszubsztituált gyűrűnél 10 nap), addig a 6-tagú pirimidinonszármazék esetében ez kb. 2 perc. Összehasonlításképpen meghatározták a BSU  $t_{1/2}$  értékét is, amely 25 percnek adódott.

Ezt követően merült fel az *n*-oktanol, mint szolvolizáló ágens alkalmazása, mely a következő előnyökkel rendelkezik: (a) a reaktív 6-tagú ciklusok lassabban deszilileződnek benne, így kényelmesebben vizsgálhatók; (b) a reakció előrehaladása során a szilil-karbamidon kívül a szililoktanol koncentrációnövekedése is nyomon követhető a kromatogramokon; (c) az alkohol és a szililezett származéka jól elválnak egymástól, illetve a többi komponenstől; (d) a kis illékonyságnak köszönhetően több napos-hetes méréssorozat alatt sem számottevő a párolgási veszteség, valamint kevésbé higroszkópos; (e) kevésbé degradálja a poli-sziloxán állófázist.

A diszilil-karbamidok (BTMSU) 1×10<sup>-3</sup> mol/dm<sup>3</sup> koncentrációjú tetrahidrofurános oldatainak szobahőfokon lejátszódó oktanolízisét gázkromatográfiásan követték, belső standardnak *n*-alkánokat használtak. A folyamat során mind a szubsztrátum fogyását, mind pedig a trimetilszilil-oktanol (OktOTMS) képződését regisztrálták (10. ábra).



10. Ábra. A diszililezett tetrahidro-pirimidin-2-on oktanolízise.

A monoszililezett karbamid, mint köztitermék, koncentrációja minden esetben gyakorlatilag elhanyagolható volt, amit a BTMSU és az OktOTMS aktuális csúcsterületeinek jó lineáris korrelációja jelzett, ezért megállapítható, hogy a második szilil-csoport sokkal könnyebben hasad le, mint az első. A mérési adatokat a szolvolízis körülményeinek (kb. 100-szoros reagensfelesleg) megfelelően pszeudo-elsőrendű kinetikai modell szerint értékelték ki.

Az ábráról kitűnik, hogy már az első mérési pontban (0,7 percnél) az OktOTMS-konverzió kb. 30%. Ezt azzal magyarázták, hogy a magas hőmérsékletű (250 °C) GC-injektorban a minta az igen rövid tartózkodási idő (< 1 sec) ellenére számottevően elreagál, ugyanakkor a jóval kevésbé reaktív 5-tagú gyűrűknél hasonló konverzióugrást nem tapasztaltak. Feltételezésük igazolására ezért – szemben a szokásos gyakorlattal, amikor is ugyanazt a reakcióelegyet elemezték különböző időpontokban – most több (kb. 10) reakciót indítottak el párhuzamosan, melyeket aztán eltérő időpontokban nagy mennyiségű víz vagy metanol hozzáadásával "kvencseltek" a GC-mintavétel előtt. Ennek értelmében tehát a kinetikai modell az OktOTMS képződésére a kvencselés nélküli mérésekre:

$$[OktOTMS] = [OktOTMS]_{\infty} (1 - ae^{-k_{exp}t}),$$
  
$$a = e^{-k^*t^*}, \quad 0 < a < 1,$$

ahol [OktOTMS], ill. [OktOTMS]<sub> $\infty$ </sub> a *t*, ill.  $\infty$  időponthoz tartozó koncentrációk,  $k_{exp}$  a pszeudo-elsőrendű sebességi állandó;  $k^*$ , ill.  $t^*$  az injektorra vonatkozó hipotetikus értékek; a kvencselés utáni mérésekre pedig:

$$[OktOTMS] = [OktOTMS]_{\infty}(1 - e^{-\kappa_{exp}t}).$$

A mért pontok és a két modell alapján számított kinetikai görbék jó illeszkedését a 11. ábra mutatja.



11. Ábra. A trimetilszilil-oktanol kinetikai görbéi.

A felezési idők értékeiből jól látható, hogy a vegyületek reakciókészsége között hasonlóan nagy eltérések vannak, mint a hidrolízis esetében: a 6-, illetve 7-tagú gyűrűs származékok kb. 4 nagyságrenddel gyorsabban szililezik az alkoholt, mint az 5-tagúak. A jelenség molekulaszerkezeti magyarázata céljából mind kísérleti (egykristályröntgendiffrakciós), mind elméleti (kvantumkémiai) téren beható vizsgálatokat folytattak.

A szerkezeti paraméterek közül érdemes kiemelni az N-Si kötéshosszakat, különös tekintettel arra, hogy éppen az ehhez tartozó kötés hasad fel a szolvolízis során. A kevésbé reaktív 5-tagú ciklusoknál ez mind a mért, mind a számított értékek esetén kismértékben, bár szignifikáns módon (kb. 0,02 Å-mel) rövidebbnek mutatkozott, mint a reaktívabb 6-, illetve 7-tagúaknál. A természetes populációs analízissel (NPA) kapott eredmények alapján ugyanakkor a nitrogénatom s-karaktere nagyobbnak adódott a diszililezett 5-tagú gyűrűnél (sp<sup>1,69</sup>), mint a 6- (sp<sup>1,91</sup>), illetve 7-tagú (sp1,93) analógnál, ezzel párhuzamosan viszont a szilíciumatom parciális töltése kisebb pozitív értékű volt az előbbi vegyületre (+1,975), mint a két utóbbira (+1,981, illetve +1,979), ami összhangban van az 5-tagú gyűrű Siatomjának kevésbé kedvező nukleofil támadásával. Szintén figyelemre méltó, hogy minden molekulában a van der Waals-sugarak összegénél (3,6 Å) egyébként jóval kisebb Si...O(=C) nemkötő távolságok 0,2-0,3 Å-mel hosszabbak az 5-tagú ciklusokban a nagyobb tagszámúakhoz képest, ezért a karbonilos O-atomot ötödik ligandumnak tekintve, az utóbbi vegyületekben inkább várható a szilícium tetraéderes konfigurációjának torzulása a (pszeudo) pentakoordináltnak megfelelő trigonális bipiramisos (TBP) irányába. Ennek értelmében a Tamao által bevezetett %TBP értékét23 (az eredeti, illetve a másodlagos irodalomban egyaránt hibásan szereplő, de általunk kijavított) képletből számíthatjuk:



ahol  $\theta_n$ , illetve  $\varphi_n$  (n = 1-3) az ábra szerinti három-három apikális-ekvatoriális, illetve ekvatoriális-ekvatoriális kötéssszöget jelenti. A %TBP-ok összehasonlításából látható, hogy a Si-atom pszeudo-pentakoordinációja kevésbé kifejezett a kevésbé reaktív 5-tagú gyűrűkben (2,1-3,8 %TBP és 3,5-6,6 %TBP), szemben a reaktívabb 6-(9,9-11,8 %TBP és 17,7-20,9 %TBP), illetve 7-tagúakkal (9,3 %TBP és 16,6 %TBP).

Nukleofil szubsztitúciós reakciókban a pentakoordinált szilíciumot tartalmazó vegyületek megnövekedett reakciókészsége bőségesen dokumentált az irodalomban.24 Ezekben a komplexekben a Si-atomhoz általában egy kétfogú ligandum is kapcsolódik, mellyel az egy öttagú kelát-gyűrűt alkot. Kisebb, 4-tagszámú kelátokra csak kevés példa akad, habár Pongor és mtsai a szilil-karbamátokban és rokon vegyületekben éppen a SiOC(O), illetve SiOC(N) típusú 4-tagú kelátok részeként gyenge Si...O, illetve Si...N kölcsönhatásokra következtettek a Si-atom erősen torzult (pszeudo) TBP környezetében.25 Ehhez hasonlóan pedig a szilil-karbamidokban egy SiNC(O) típusú kelátgyűrű tagjaként a Si-atom nagyobb mértékű pszeudopentakoordinációja hozható összefüggésbe a nagyobb szolvolízis-sebességgel.

Szalav és mtsai később kiterjesztették kinetikai és molekulaszerkezeti vizsgálataikat N-szililezett az dikarbonsav-imidek, illetve laktámok körére is.26 Hasonló kísérleti körülmények között határozták meg a szolvolízisek felezési idejét (zárójelben a  $t_{1/2}$ /h értékek szerepelnek): az N-trimetilszililezett 5-tagú ciklusos szukcinimid (100) és ftálimid (35), illetve a 6-tagú glutárimid (5) és 1,8-naftálimid (0.3) esetében hasonló, bár kevésbé markáns tendenciát tapasztaltak a gyűrű tagszámától függő reaktivitásban. amelyet a pszeudo-pentakoordinációban eleve részt venni nem képes karbonil-oxigén és a gyűrű síkjában fekvő Me(Si)csoport közötti taszító jellegű kölcsönhatás is befolyásol. Ennek kapcsán a szilil-csoport sztérikus hatásának tanulmányozása céljából a ftálimidnek az N-dimetilszilil (0,2) és N-(terc-butil-dimetilszilil) (> 500) származékát is vizsgálták. A laktámok esetében az 5-tagú gyűrűs pirrolidinon

(> 700) és a 6-, illetve 7-tagú valero-, illetve kaprolaktám (mindkét esetben < 0.15) N-trimetilszililezett származéka hasonló mértékű reakciókészséget mutatott, mint az azonos tagszámú ciklussal rendelkező szilil-karbamid. Az eddig tárgyalt funkciós csoportok kombinációjának tekinthető, és biológiai szempontból is igen fontos heterociklusos savamidok (hidantoin, uracil, húgysav, stb.) "perszililezett" származékának szolvolízis vizsgálata, továbbá a kísérletileg meghatározott (röntgendiffrakció) és a számított molekulaszerkezetek elemzése jelenleg is folyamatban van. Az eredmények birtokában tervezhetővé válhat ezen multifunkciós heterociklusos vegyületek kemo-, illetve regioszelektív deszililezése, illetve más szilil-csoportot tartalmazó szililezőszerrel történő "visszaszililezése", ami preparatív szempontból hasznos védett, illetve aktivált köztitermékek előállítását tenné lehetővé.



nukleozid-származékok szintézisének Α egvik legkíméletesebb és éppen ezért leggyakrabban alkalmazott módszere az ún. szilil-Hilbert-Johnson- (vagy Vorbrüggen-) reakción alapul, melvben a szililezett heterociklusos bázist a védett és a glikozidos hidroxil-csoportján acetilezett cukorral kapcsolják.<sup>27</sup> Az átalakulást általában Lewis-savak katalizálják, jóllehet az egyik leghatásosabbnak bizonyuló, és ezért előszeretettel alkalmazott trimetilszililtriflát (TMSOTf) a szabad, és egyben nukleofil nitrogénatomot szililezés útján blokkolhatja, illetve nemkívánt átglikozileződést válthat ki, mely folyamatok csökkenthetik a reakció regioszelektivitását. Az utóbbi két folyamathoz kapcsolódóan Szalay oldatfázisban (CDCl,) 1D 1H- és <sup>13</sup>C-NMR spektroszkópiával módszeresen tanulmányozta a korábban előállított szililezett gyűrűs savamid-származékok, mint nukleozid-bázis analóg modellvegyületek TMSOTf-tal

lejátszódó komplexképződését, illetve N-O típusú szililvándorlását.<sup>28</sup> Az eddigi vizsgálatok eredményeiből az alábbi következtetéseket lehetett levonni: (a) szemben az irodalomban közölt megállapításokkal,29 a ciklusos N,N'bisz(trimetilszilil)-karbamidok izomerizációja a megfelelő N,O-diszililezett izokarbamiddá, a gyűrűtagszámtól függetlenül, már katalitikus mennyiségű TMSOTf hatására lejátszódik, mely az NMR-időskálán (is) lassú folyamatnak tekinthető; (b) az N-szilil-laktámok TMSOTf-tal 1:1 összetételű adduktot képeznek, mely a sztöchiometrikus arány eléréséig az NMR-időskálával összemérhető sebességű cserefolyamatban tart egyensúlyt a reaktánsokkal; (c) mind az N-szilil-laktámokból, mind pedig az adduktokból (az állás során képződő vagy adalékolt) trifluormetán-szulfonsav hatására, illetve a szabad laktám TMSOTf-tal végrehajtott szililezésének eredményeképpen, a megfelelő O-szililimidát termék keletkezik protonált formában (12. ábra).



12. Ábra. Az N-trimetilszilil-pirrolidin-2-on trifláttal indukált szilil-vándorlása.

# 8. Szilil-karbamátok és rokon vegyületek szililezőképességének elméleti vizsgálata

Az *N*-szubsztituált trimetilszilil-karbamátok erélyes szililezőképességének molekuláris szintű magyarázatával összefüggésben Pongor és mtsai 8 szilil-karbamát származék röntgendiffrakciós molekulaszerkezetének áttekintése során szokatlanul rövid Si...O=C távolságokra figyeltek fel, amit a karbamáto-ligandum kvázi-kétfogú kötődésének eredményeképpen a szilícium-atom pszeudo-pentakoordinált környezetével hoztak kapcsolatba.<sup>25</sup> Ennek nyomán kvantumkémiai módszerekkel néhány szilil-karbamát, illetve szén-analógjuk molekulaszerkezetét optimálták MP2/DZ(2)P szinten (13. ábra).



**13.** Ábra. Az *O*-trimetilszililezett *N*,*N*-dimetil-karbamidsav és *N*,*N*,*N*'-trimetil-izokarbamid fontosabb számított szerkezeti adatai.

Az elméletileg meghatározott, azaz a gázfázisbelihez hasonlító szerkezetek szintén megerősítették a Si...O térenkeresztüli kölcsönhatás jelenlétét, illetve a Si-atom pszeudopentakoordinált konfigurációját. A számítási eredmények birtokában pedig kidolgoztak egy, az alapállapotú molekula szerkezeti paraméterei által meghatározott egyszerű prediktív modellt, melynek alapján a szilil-karbamátok erőteljes szililezőképessége a fent említett adatok ismeretében megbecsülhető (14. ábra).<sup>30</sup>

A modell segítségével azt is valószínűsítették, hogy a szililkarbamátokhoz képest a rokon vegyületeknek tekinthető, de mind ez ideig még nem szintetizált *O*-szilil-izokarbamidok az erősebb Si...N=C kölcsönhatással összefüggésben nukleofilekkel szemben hatékonyabb szilil-donoroknak bizonyulnak. Érdemes megjegyezni, hogy a modell alkalmazhatósági köre túlmutat a szililezőszereken, mivel a nukleofil szubsztitúciós reakciókban szintén reaktívnak, azaz hatékony alkil-donornak előrejelzett *O*-alkilizokarbamidok a szintetikus kémiában valóban általánosan használt alkilezőszerek.



14. Ábra. A trimetilszilil-karbamátok szililezési reakciójának vázlatos mechanizmusa (az egyszerűség kedvéért csak az ionos út van feltüntetve).

# 9. Az 1,3-dihidro-benzimidazol-2-on szililezése: egy preparatív termékelegy számításos kémiai elemzése

Kolos és mtsai a címben szereplő gyűrűs karbamid *N,O*bisz(trimetiszilil)-trifluoracetamiddal (BSTFA) szobahőfokon egy órán át tartó szililezése kapcsán vetették fel azt a kérdést, hogy a mind az oxigén-, mind pedig a két nitrogénatomon egyaránt szililezhető molekula esetében az összes mono-, illetve diszililezett származék lehetőség szerinti képződésekor a reakcióelegyről felvett infravörös színképből mennyi információ nyerhető ki.

Az eredeti problémából kiindulva, közleményükben demonstrálták a kiterjesztett sűrűségfunkcionál-elméletből (DFT) származó skálázott kvantummechanikai (SQM) erőtér alkalmazhatóságát egy kémiai szintézis termékének előrejelzésében.<sup>31</sup> Az említett konkrét példában az elvileg lehetséges termékek számított erőterét B3-LYP/6-31G\* szinten határozták meg és az irodalomból<sup>32</sup> nyert átvihető skálafaktorokkal skálázták azokat. A számított SQM infravörös (IR) színképeket aztán összevetették a termékelegyről felvett kísérletivel, majd a két spektrum közötti különféle hasonlósági mértékek (*S* skalárszorzat, reziduális *R*-faktor és standard RMS) kiszámításával az *N,N'*-bisz(trimetilszililezett) származék képződésére következtettek (15. ábra). (Az NMR-színkép ezt az eredményt függetlenül is megerősítette.) Az algoritmikus módszerükkel automatikusabb eljárások is megalapozhatók, pl. a kombinatorikus szintézisek területén. Tapasztalataik szerint a számított és a kísérleti spektrumok összevetésénél az *S*-faktor tűnt a leghasznosabb hasonlósági mértéknek.



Pongor és mtsai a későbbiekben jelentős fejlesztést értek el a kémiai elegyek összetételének mennyiségi (és korlátozott értelemben vett) minőségi analízise területén.33 Az új módszerük, melyet a "direkt invertálás a spektrális altérben" (Direct Inversion in the Spectral Subspace, röviden: DISS) névre kereszteltek, az elegy és komponensei molekulaspektrumának (pl. UV/látható, IR, Raman, NMR, EPR, CD, VCD, stb.) ismeretét igényli, tehát az alakfelismerés területének nevezéktana szerint az ún. "felügyelt osztályozás" széles osztályába tartozik. Az elegy spektruma mindig kísérleti spektrum, míg a komponensek spektrumai mind kísérleti, mind számított spektrumok is lehetnek. Három egyszerű feltételt (L,-beliség, additivitás, lineáris függetlenség) elfogadva, valamint az egyetlen kényszerfeltételt (a lineárkoefficiensek összege egységnyi) Lagrange módszerével figyelembe véve egy elegáns és linearizált egyenletrendszert vezettek le, mely rokonságot mutat Pulay és Császár kiterjedten alkalmazott DIIS és GDIIS eljárásaival<sup>34</sup>. Bár az említett kényszerfeltétel látszólag redundáns, kimutatták, hogy alkalmazása lehetővé teszi a lineáris kombináció formájában fölírt elegyspektrum ismeretlen normálási együtthatójának, mint paraméternek



**15.** Ábra. A szililezett benzimidazol-2-on származékok számított infravörös spektrumai, illetve a reakcióelegyről felvett színkép.

figyelembe vételét. A különbséget a DIIS eljárásokkal szemben a DISS módszer kisfokú nem-linearitása jelenti. A feladat (a megfelelő funkcionál minimalizálása) a linearizált

egyenletrendszer ismételt megoldásával (a konvergencia eléréséig) megoldható. A DISS módszer két változatát dolgozták ki: az egyikben a komponensek spektrumai normáltak, a másikban pedig nem normáltak; az elegy kísérleti spektruma mindig normált. A normált változat egy durva becslést ad az elegy összetételéről (IR és NMR vizsgálatok szerint néhány mólszázalék), ugyanakkor alkalmazása igen egyszerű: nem igényli a moláris extinkciós koefficiensek vagy moláris ellipticitások, stb., ismeretét, és még az azonos cellaméretet sem (abszorpciós spektrumok esetén). A nem-normált változat nagyobb pontosságú leírást biztosít (természetesen az additivitás és a zaj függvényében), de kiegészítő információ ismeretét kívánja meg, mely kalibrációval biztosítható. A DISS eljárás segítségével az eredeti, szililezett reakcióelegy analízisének problémája is sokkal elegánsabban oldható meg.

# 10. Az O-trimetilszilil-N,N-diizopropil-karbamát por-, illetve hőmérsékletfüggő oldat-NMR spektruma

A szilárdfázisú NMR-spektrumok egyik legfőbb előnye abban rejlik a folyadékfázisúakkal szemben, hogy segítségükkel a kémiai eltolódást ( $\delta$ ) alapvetően meghatározó árnyékolási tenzor ( $\sigma$ ) izotróp átlagán ( $\sigma_{iso}$ ) túlmenően annak további két független paramétere, az ún. anizotrópia ( $\Delta \sigma$ ) és az aszimmetria ( $\eta$ ) paraméterek is megfigyelhetők.<sup>35</sup> Kvantumkémiai módszerekkel az árnyékolási tenzor valamennyi komponense számítható. Annak érdekében, hogy ezen értékeket ( $\sigma^{calc}$ ) összehasonlíthassák a kísérleti eltolódásokkal ( $\delta^{exp}$ ), általában azt az utat követik, hogy a relatív árnyékolás kísérleti meghatározására használt ún. referencia-vegyület árnyékolási tenzorát ( $\sigma_{ref}^{calc}$ ) is kiszámítják. Rohonczy és mtsai más eljárást alkalmaztak, melynek alapötletét az elméleti rezgési spektroszkópiában meghonosodott SQM (Scaled Quantum Mechanical) erőtér módszerétől kölcsönözték.<sup>36</sup> Ennek értelmében ahelyett, hogy a kívánt spektroszkópiai pontosságot a kvantummechanikai közelítési szint körülményes és költséges emelésével biztosítanák, annak egy elfogadható, de aránylag könnyen kivitelezhető "mérsékelt" szintjén végzik el a számításokat, majd a kívánt pontosságot néhány empirikus paraméter (az ún. skálafaktorok) alkalmazásával érik el.

Rohonczy és mtsai modellvegyületként a kristályos diizopropil-karbamidsav szililésztert választották, melyben a szén-magok hat, kísérletileg megkülönböztethető kémiai környezetben fordulnak elő (C<sub>s</sub> konformációban), ezért a molekula különféle környezetű magjaira vonatkozóan a számított izotróp árnyékolások ( $\sigma_{iso}^{calc}$ ) és a kísérleti eltolódások között legkisebb négyzetes lineáris regresszióval meghatározhatók az A és az m empirikus paraméterek:  $\delta_{iso}^{ecq} \approx \delta_{iso}^{ECQM} = A - m \cdot \sigma_{iso}^{calc}$ , ahol az ECQM index az eltolódás empirikusan korrigált kvantummechanikai értékére vonatkozik.<sup>37</sup> Az árnyékolási tenzorból származtatott másik két mennyiség számított értékei pedig levezethetően az alábbi összefüggésben állnak a korrigáltakkal:  $\Delta \delta^{ECQM} = -m \cdot \Delta \sigma^{calc}$  és  $\eta^{ECQM} = \eta^{calc}$ . Az ab initio MP2 szintű kvantumkémiai számítások során vizsgálták a kapott eredmények bázisfüggését, a legjobb, azaz a legkisebb szórással rendelkező A és m paramétereket az általuk DZ(2)P-

nek nevezett bázissal kapott eredmények szolgáltatták. Az így meghatározott három paraméterrel végezték el aztán a vegyület <sup>13</sup>C-NMR sztatikus porspektrumának szimulálását, melynek az eredményeképpen kapott számított színkép kiváló egyezést mutatott a kísérletivel (16. ábra).



16. Ábra. A kísérleti és a szimulált por <sup>13</sup>C-NMR spektrumok.

Rohonczy és mtsa egy új programot (MC-DNMR) is kifejlesztett dinamikus magmágneses rezonancia spektrumok szimulációjára.<sup>38</sup> A Monte Carlo típusú algoritmus az egyszeres spinvektor modell csatolt spinrendszerekre történő kiterjesztésén alapul. A program legfőbb előnye a jelentősen kisebb méretű mátrixok kezelésében rejlik, szemben a sűrűségmátrix-elmélet talaján álló programokkal, ilymódon olyan rendszerek is szimulálhatók, melyekre korábban ez nem volt megvalósítható. A programot tesztelték a diizopropil-karbamidsav szililészter kísérletileg régebben vizsgált hőmérsékletfüggő spektrumának kiszámításában.6ª A molekulában a lehetséges cserefolyamatokat az N-C(=O) amid-kötés körüli forgás és a két N-C(Pr) kötés körüli, szimultán lejátszódó, "fogaskerékszerű" gátolt rotáció képviseli. A bekarikázott H-atom ennek értelmében négy, egymástól különböző kémiai környezetben (A-D) fordulhat elő.



Rohonczy a vegyület konformációs egyensúlyi viszonyait előzőleg már tanulmányozta és bizonyos egyszerűsítések bevezetésével szimulációkat végzett a spektrum metinrészletére vonatkozóan.<sup>39</sup> Ezúttal az új program segítségével egyszerűsítések nélkül számították ki a színképeket az algoritmus teljesítőképességének bonyolultabb (szimmetria nélküli) spin-rendszerekre való bemutatása céljából. A 17. ábra jól szemlélteti a mért és a számított spektrumok illeszkedését.



17. Ábra. Az izopropil-csoport metin-, illetve metil-részletének kísérleti és számított <sup>1</sup>H-NMR spektruma különböző hőmérsékleteken.

#### Hivatkozások

- (a) Auner, N; Weiss, J., Eds. Organosilicon Chemistry VI: From Molecules to Materials, Wiley-VCH: Weinheim, 2005.
   (b) Rappoport, Z.; Apeloig, Y., Eds. The Chemistry of Organic Silicon Compounds: Vol. 3 (Patai's Chemistry of Functional Groups), John Wiley & Sons: Chichester, 2001. (c) Jutzi, P.; Schubert, U., Eds. Silicon Chemistry, Wiley-VCH: Weinheim, 2003.
- (a) Colvin, E. W. Silicon in Organic Synthesis, Butterworths: London, 1981. (b) Vorbrüggen, H. Silicon-mediated Transformations of Functional Groups, Wiley-VCH: Weinheim, 2004. (c) Compounds of Group 15 (As, Sb, Bi) and Silicon Compounds, Fleming, I., Vol. Ed. In Science of Synthesis, Georg Thieme: Stuttgart, 2001; Vol. 4.
- (a) Knausz, D.; Meszticzky, A.; Szakács, L.; Csákvári, B.; Újszászy, K. J. Organomet. Chem. 1983, 256, 11-21. (b) Knausz, D.; Meszticzky, A.; Csákvári, B.; Karácsonyi, B.; Benczik, J.; Novák, R.; Sebők, D.; Juhász-Nagy, B.; Lukács, J. Magyar Szabadalom 30704 A2, 1984; Chem. Abstr. 1984, 101, 152065. (c) Knausz, D.; Meszticzky, A.; Szakács, L.; Csákvári, B. J. Organomet. Chem. 1984, 268, 207-211. (d) Knausz, D.; Csákvári, B.; Gebhardt, I.; Meszticzky, A.; Kolos, Zs.; Rohonczy, J.; Szederkényi, F.; Újszászy, K.; Volford, J. Brit. UK Pat. Appl. 2182331, 1987; Chem. Abstr. 1987, 107, 217839.
- (a) Aldrich Chemistry *Finomvegyszer kézikönyv* 2009-2010, termékszám: 376124. (b) van Look, G.; Simchen, G.; Heberle, J. *Silylating agents*, Fluka Chemie AG: Buchs, 1995, termékszám: 39860.
- (a) Knausz, D.; Kolos, Zs.; Rohonczy, J.; Újszászy, K. Acta Chim. Hung. 1985, 120, 167-170. (b) Szalay, R.; Knausz, D.; Szakács, L.; Újszászy, K.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. 1995, 487, 267-271. (c) Mörtl, M.; Knausz, D.; Böcskei, Zs.; Kolos, Zs.; Újszászy, K.; Szakács, L.; Sohár, P. J.Organomet. Chem. 1995, 492, 115-119. (d) Szalay, R.; Knausz, D.; Lovász, Cs.; Újszászy, K.; Szakács, L.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. 1996, 510, 93-102.
- (a) Rohonczy, J.; Knausz, D.; Csákvári, B.; Sohár, P.; Pelczer, I.; Párkányi, L. J. Organomet. Chem. 1988, 340, 293-302. (b) Párkányi, L.; Kolos, Zs.; Knausz, D. Z. Kristallogr. 1996, 211, 863-864. (c) Böcskei, Zs.; Szalay, R.; Rohonczy, J.; Knausz, D. Acta Crystallogr., Sect. C 1996, 52, 2063-2066. (d) Pongor, G.; Kolos, Zs.; Újszászy, K.; Knausz, D. Kém. Közl. 1996, 82, 113-120. (e) Csonka, I. P.; Mörtl, M.; Knausz, D.; Harmat, V.; Szepes, L. J. Organomet. Chem. 1999, 579, 38-44. (f) Szalay, R.; Knausz, D.; Rohonczy, J.; Sohár, P. ACH - Models in Chemistry 1999, 136, 549-560.
- (a) Böcskei, Zs.; Knausz, D.; Gál, M.; Szakács, L.; Csákvári, B. *J. Organomet. Chem.* **1988**, *342*, 159-165. (b) Mörtl, M.; Knausz, D.; Kolos, Zs.; Szakács, L.; Csákvári,

B. J. Organomet. Chem. **1994**, 482, 183-185. (c) Szalay, R.; Knausz, D.; Szakács, L.; Újszászy, K.; Sohár, P. J. Organomet. Chem. **1995**, 493, 267-270.

- (a) Knausz, D.; Meszticzky, A.; Rohonczy, J.; Kolos, Zs.; Csákvári, B.; Szederkényi, F.; Újszászy, K. J. Chromatogr. 1986, 365, 183-190. (b) Bouquet, G.; Knausz, D.; Galácz, J. Építőanyag 1986, 38, 71-73. (c) Burger, K.; Nemes-Vetéssy, Zs.; Vértes, A.; Suba, M.; Knausz, D. Inorg. Chim. Acta 1988, 148, 223-226. (d) Szederkényi, F.; Ambrus, G.; Horváth, Gy.; Ilköy, É.; Knausz, D.; Csákvári, B.; Ábermann, M.; Újszászy, K. J. Chromatogr. 1988, 446, 253-257. (e) Morvai, M.; Molnár-Perl, I.; Knausz, D. J. Chromatogr. 1991, 552, 337-344. (f) Morvai-Vitányi, M.; Molnár-Perl, I.; Knausz, D.; Sass, P. Chromatographia 1993, 36, 204-206.
- (a) Kardon, F.; Mörtl, M.; Knausz, D. *Tetrahedron Lett.* 2000, 41, 8937-8939. (b) Kardon Ferenc *PhD értekezés*, Eötvös Loránd Tudományegyetem, 2010.
- Kardon, F.; Mörtl, M.; Csámpai, A.; Újszászy, K.; Knausz, D. Synth. Commun. 2011, 41, 914-924.
- 11. Kardon, F.; Mörtl, M.; Magyarfalvi, G. Synth. Commun. 2008, 38, 192-199.
- (a) Mörtl, M.; Knausz, D.; Újszászy, K.; Rohonczy, J.; Csákvári, B.; Sohár, P. "New N-hydroxy carbamic acid trialkylsilyl derivatives. Preparation and thermal reaction" P 232, X. Nemzetközi Szilíciumorganikus Kémiai Szimpózium, Poznan, 1993. (b) Mörtl, M.; Knausz, D.; Csámpai, A.; Tarczay, Gy.; Blazsó, M.; Sohár, P. "Preparation of oxazole and oxazolon derivatives from silylcarbamates" P 176, 9. IUPAC Fémorganikus Kémiai Szimpózium, Göttingen, 1997.
- (a) Mörtl Mária, Knausz Dezső, Kardon Ferenc "Sziloxisavamidok, mint nitrén prekurzorok" (előadás) absztrakt: 155. o., *EMT VI. Nemzetközi Vegyészkonferencia*, Kolozsvár, 2000. (b) Mörtl Mária, Pongor Gábor "Nitrének generálása szililezett savamidokból és stabilitásuk kérdései" (előadás) *MTA Szervetlen és Fémorganikus Kémiai Munkabizottság*, Pécs, 2003.
- Pongor Gábor, Eőri János, Mörtl Mária, Knausz Dezső "Karbo-alkil/alkoxi-, karbo-szilil/sziloxi- és karboaminonitrének stabilitásának kvantumkémiai vizsgálata" (előadás) absztrakt: 47. o., *EMT IX. Nemzetközi Vegyészkonferencia*, Kolozsvár, 2003.
- Belli Dell'Amico, D.; Calderazzo, F.; Labella, L.; Marchetti, F.; Pampaloni, G. *Chem. Rev.* 2003, *103*, 3857-3897.
- Mörtl, M.; Knausz, D.; Dezsőfi-Kapiller, R.; Sohár, P. "Preparation and structure of some new cyclopentadienyl carbamato titanium complexes" P 337, XVI. Nemzetközi Fémorganikus Kémiai Konferencia, Brighton, 1994.
- Rohonczy, J.; Mörtl, M.; Knausz, D. "Stable Octahedral Degradation Products of the *bis*-(dimethylcarbamato) dichloro mono-tetrahydrofuranato titan(IV) in CDCl<sub>3</sub> Solution" P 438, *XX. Nemzetközi Fémorganikus Kémiai Konferencia*, Korfu, 2002.

- Knausz Dezső "Vízszennyezők meghatározása gázkromatográfiával" in Környezetkémiai analitika – környezettechnológia praktikum; Varga Enikő, Garay Ferenc (szerk.).; ELTE Eötvös Kiadó: Budapest, 1999; pp 121-148.
- (a) Kovács, Á.; Kende, A.; Mörtl, M.; Volk, G.; Rikker, T.; Torkos, K. J. Chromatogr. A 2006, 1194, 139-142. (b) Kovács, Á.; Mörtl, M.; Kende, A. Microchem. J. 2011, 99, 125-131.
- Maloschik, E.; Mörtl, M.; Székács, A. Anal. Bioanal. Chem. 2010, 397, 537-548.
- (a) El Gihani, M. T.; Heaney, H. Synthesis Stuttgart 1998, 4, 357-375. (b) Fluka Chemika Silylating agents 1995, termékszám:.
- Szalay, R.; Pongor, G.; Harmat, V.; Böcskei, Zs.; Knausz, D. J. Organomet. Chem. 2005, 690, 1498-1506.
- (a) Tamao, K.; Hayashi, T.; Ito, Y. Organometallics 1992, 11, 2099-2114. (b) Kost, D.; Kalikhman, I. In The Chemistry of Organic Silicon Compounds; Rappoport, Z.; Apeloig, Y. (Eds.); John Wiley & Sons: Chichester, 1998; Vol. 2, pp 1339-1445.
- Bassindale, A. R.; Glynn, S. J.; Taylor, P. G. *In The Chemistry* of Organic Silicon Compounds; Rappoport, Z.; Apeloig, Y. (Eds.); John Wiley & Sons: Chichester, **1998**; Vol. 2, pp 495-511.
- 25. Pongor, G.; Kolos, Zs.; Szalay, R.; Knausz, D. J. Mol. Struct. (THEOCHEM) 2005, 714, 87-97.
- 26. (a) Szalay, R.; Pongor, G.; Harmat, V.; Kudar, V.; Knausz, D. "Silylated imide derivatives: preparation, structure and reactivity" P 142, XIV. Nemzetközi Szilíciumorganikus Kémiai Szimpózium, Würzburg, 2005. (b) Szalay Roland "Intraés intermolekuláris kölcsönhatások vizsgálata ón(IV)- és szilíciumorganikus savamid-származékokban" (előadás) MTA Szervetlen és Fémorganikus Kémiai Munkabizottság, Pécs, 2008.
- Wang, Z. Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents, John Wiley & Sons: New York, 2010; pp 2915-2919.
- Szalay Roland "Szililezett gyűrűs savamid származékok: trimetilszilil-trifláttal katalizált szililvándorlások vizsgálata" (előadás) MTA Szervetlen és Fémorganikus Kémiai Munkabizottság, Demjén, 2011.

### On the latest achievements in the chemistry of silylated acid amide derivatives with respect to current researches in the Eötvös Loránd University, Budapest

This short review summarizes our results concerning to the chemistry of silylated carbamic acid derivatives and analogue compounds from the Millenium until now.

#### Reactions of silyl carbamates with oxo compounds

The reaction of *O*-trimethylsilyl-*N*,*N*-dialkylcarbamates with different carbonyl compounds gives the corresponding enamines under mild conditions in good yields. The optimum molar ratio of silylcarbamates and oxo compound was found to be 2.5:1. In contrast to other methods this is especially attractive for the preparation of enamines from volatile amines.

The *N*,*O*-bis(trimethylsilyl)-*N*-methoxycarbamate converts ketones to the corresponding *O*-methyloximes as a mixture of the *syn* and *anti* isomers. In the case of carbonyl reactants bearing hydroxyl group the oxime formation and the *O*-silylation take place simultaneously. The method is favourably used for the conversion of  $\alpha$ -haloketones due to the lack of the possibility of halogen substitution. In analogue reactions between *N*,*O*-bis(trimethylsilyl)-*N*-methylcarbamate and oxo compounds the corresponding imines formed, however, some yields are moderate.

- 29. Marquez, V. E. Nucleosides Nucleotides 1983, 2, 81-90.
- 30. (a) Pongor, G.; Szalay, R.; Knausz, D. "Correlation between structure and silylating power. Quantum chemical study of *N*carboxylic acid trimethylsilyl esters" P 143, *XIV. Nemzetközi Szilíciumorganikus Kémiai Szimpózium*, Würzburg, 2005. (b) Kolos, Zs.; Kovács, E.; Knausz, D.; Rohonczy, J.; Tarczay, Gy.; Pongor, G. "Halogenated silyl-carbamates as silylating agents. Comparative theoretical studies and preparation" P144, *XIV. Nemzetközi Szilíciumorganikus Kémiai Szimpózium*, Würzburg, 2005.
- Kolos, Zs.; Knausz, D.; Rohonczy, J.; Vass, E.; Tarczay, Gy.; Pongor, G. Chem. Phys. 2005, 318, 191-198.
- 32. (a) Rauhut, G.; Pulay, P. J. Phys. Chem. 1995, 99, 3093-3100.
  (b) Kalincsák, F.; Pongor, G. Spectrochim. Acta, Part A 2002, 58, 999-1011.
- (a) Pongor, G.; Eőri, J.; Rohonczy, J.; Kolos, Zs. *J. Math. Chem.* 2010, *47*, 1085-1105. (b) Pongor Gábor ,,DISS StatusQuo" (kézirat), 2012.
- 34. (a) Pulay, P. Chem. Phys. Lett. 1980, 73, 393-398. (b) Pulay, P. J. Comp. Chem. 1982, 3, 556-560. (c) Pulay, P.; Császár, P. J. Mol. Struct. 1984, 114, 31-34.
- 35. Lásd pl. Rohonczy János "Szilárd anyagok szerkezetvizsgálata MQMAS NMR módszerrel" in A kémia újabb eredményei; Csákvári Béla (szerk.).; Akadémiai Kiadó: Budapest, 2006; Vol. 95, pp 149-202.
- 36. Pulay, P.; Fogarasi, G.; Pongor, G.; Boggs, J. E.; Vargha, A. J. Am. Chem. Soc. **1983**, 105, 7037-7047.
- Rohonczy János, Kolos Zsuzsanna, Pongor Gábor "Empirikusan korrigált kvantummechanikai (ECQM) árnyékolási tenzorok meghatározása" (poszter) absztrakt: 158-161. o., *EMT XIII. Nemzetközi Vegyészkonferencia*, Kolozsvár, 2007.
- (a) Szalay, Zs.; Rohonczy, J. J. Magn. Reson. 2008, 191, 56-65. (b) Szalay, Zs.; Rohonczy, J. Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. 2010, 56, 198-216.
- 39. "5.3 iPr2SIC Example for Non-mutually Exchanging System" in DNMR Lineshape Analysis Software Manual Version 1.1 Revision 071103 (written by János Rohonczy) © 2007. Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Germany.

# Preparation of mixed (thio)carbamic acid (thio)anhydrides from silylated (dithio)carbamates

The reactions of silyl (dithio)carbamates with different acid chlorides (acetyl and benzoyl chloride, carbamoyl and thiocarbamoyl chlorides, chloroformates) give the corresponding acid derivative (anhydride, amide, urea or carbamate) depending upon the thermal stability of the initially formed mixed acid anhydride. The increasing sulfur content of the anhydride suppress the elimination of CO<sub>2</sub> or CS<sub>2</sub> (COS never observed). The transformation of some prepared mixed anhydrides with equimolar amount of trimethylsilyl *N*,*N*-dimethylcarbamate was also studied.

### Generation of reactive intermediates from silyl carbamates

In contrast to the thermal decomposition of *N*-silyl-*N*-siloxy carbamates, the acyl nitrene intermediate generated from the pyrolysis of *N*-silyl-*N*-siloxy amides promptly rearranged to the corresponding isocyanate. The influence of substituents on the relative stability of the nitrene and isocyanate isomers was revealed in systematic experimental and theoretical studies.

### Silyl carbamates as carbamato ligand transfer reagents

The seven-coordinated (Me<sub>2</sub>NCOO)<sub>2</sub>TiCl<sub>2</sub>.THF complex was prepared from titanium(IV) chloride and trimethylsilyl dimethylcarbamate. Upon dissolution in deutero-chloroform the

complex lost its THF and transformed into a mixture of three different *fac* and one *mer* six-coordinated ( $Me_2NCOO$ )<sub>2</sub>TiCl<sub>2</sub> isomers with a statistically weighted ratio as established by NMR spectroscopy.

### Application of silyl carbamates in GC and GC-MS analysis

Derivatization of the phenols and chlorophenols with *O*trimethylsilyl-*N*,*N*-dimethylcarbamate (TMSDMC) was studied with respect to conversion, reagent excess, medium, temperature and the stability of the TMS derivatives. In sufficient excess of TMSDMC, the reaction takes place instantaneously at room temperature, and the derivatives remain stable for 24 h, making the procedure simple, fast and convenient.

Chlorophenoxy acid-type herbicide active ingredients have been also derivatized successfully with TMSDMC and its tert.butyldimethylsilyl analogue (TBDMSDMC). The TBDMS derivatives have better mass spectral properties and higher hydrolytic stability over the TMS esters.

# Desilylation studies of *N*-trimethylsilylated cyclic acid amide derivatives

The molecular structure of the title compounds was investigated by single-crystal X-ray diffraction and quantum chemical calculations. Octanolysis rate constants were determined by GC measurements. An alternative sampling method was also developed for the rapidly desilylating substrates. In contrast to the 6- and 7-membered rings, half-lives of the 5-membered ones were higher by several orders of magnitude. Correlations between the desilylation rate and the extent of the pseudo-pentacoordination around the Si centre in reactants were established. The TMS triflate-induced N-to-O silyl migration and triflic acid-catalysed desilylation of some cyclic ureas and lactams were also studied by NMR spectroscopy.

# Theoretical investigation of the silylating power of silyl carbamates and related compounds

The molecular structure of some representatives of silyl carbamates and their carbon analogues have been optimized at the MP2/DZ(2)P level. The theoretical structures confirm the existence of a Si...O through-space interaction and the pseudo-pentacoordination at the silicon atom. A simple static (structure-based) predictive model was developed to interpret the high silylating power of O-silyl carbamates and, as an extension, the efficient alkylating capability of the related O-alkylisoureas.

# Silylation of the 1,3-dihydrobenzimidazol-2-one: computational chemical analysis of a preparative reaction mixture

Extended DFT-derived scaled quantum mechanical (SQM) force fields were determined for all possible mono- and disilylated derivatives of the title compound. The calculated SQM infrared spectra were then numerically compared to the experimental spectrum of the mixture of products by a scalar product-based new similarity measure. Later the problem could be solved in a much more elegant way according to the novel so-called Direct Inversion in the Spectral Subspace (DISS) method.

# Powder and temperature-dependent solution NMR spectra of the *O*-trimethylsilyl-*N*,*N*-diisopropylcarbamate

Isotropic chemical shielding values were calculated at HF/DZ(2)P (GIAO) level and fitted by linear regression to the experimental <sup>13</sup>C chemical shifts coming from the solid-phase powder CP NMR spectrum of the title compound. More accurate values of the anisotropy parameters obtained by the regression coefficients gave excellent agreement between the simulated and experimental spectra.

A new Monte Carlo-type program based on the extension of single spin vector model to coupled spin systems was developed for the simulation of dynamic NMR spectra. The capability of the algorithm was demonstrated on the simulation of the temperaturedependent conformational equilibrium of the title compound.

# Molekulaszerkezet és dinamika

CSÁSZÁR Attila,\* CZAKÓ Gábor, FURTENBACHER Tibor, MÁTYUS Edit, FÁBRI Csaba, SZIDAROVSZKY Tamás, SZABÓ István és SARKA János

Molekulaszerkezet és Dinamika Laboratórium, Kémiai Intézet, Eötvös Loránd Tudományegyetem, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/A

## 1. Bevezetés

Bár a kémia megmaradt alapvetően kísérleti tudománynak a XXI. században is, fejlődésében egyre nagyobb szerephez jutnak az elméleti és az információtechnológiai kutatások és azok eredményei. A kémiának alapvető, önállónak tekinthető elmélete csak a kvantummechanikát megelőzően volt. Az utolsó igazán jelentős természettudományos paradigmaváltást a kvantummechanika megjelenése jelentette, a kémia alapvető elmélete már közel 90 éve a kvantumkémia.

A kvantumkémia a Born–Oppenheimer közelítés keretein belül definiálja azon fogalmakat, melyek a kémiai jelenségek megértését alapozzák meg: molekulaszerkezet, potenciális energia felület (PES), tulajdonság hiperfelületek, reakcióutak, átmeneti állapotok, molekularezgések és forgások, inter- és intramolekuláris energiaátadások. Ezek a fogalmak többnyire jól megfelelnek a hagyományos kémiai intuíciónak. Az elméleti alapok így adottak, ugyanakkor a kémiai jelenségek elméleti vizsgálata szükségszerűen igényli a kvantumkémia eszköztárának fejlesztését.

Jelen közleményben a molekulaszerkezet és a dinamika területén az utóbbi néhány évben a Laboratóriumunk munkatársai által elért eredmények közül szemezgetünk.

## 2. A kvantumkémia négy korszaka

A kvantumkémia első három korszakát<sup>1</sup> alapvetően az elektronszerkezet-számítás fejlődése határozta meg. Az első korszakban, a digitális számítógépek megjelenése előtt, a kvantumkémia csupán a kémiai jelenségek kvalitatív értelmezésére szorítkozhatott. Ez a rendkívül fontos korszak a kémia robbanásszerű fejlődéséhez vezetett, de az elmélet nem volt abban a helyzetben, hogy a kísérleti eredményeket megkérdőjelezhette volna.

A kvantumkémia második korszakában, a digitális számítógépek megjelenésével az elektronszerkezet számítás új korszakba lépett, kialakultak a modern, ma is használatos kvantumkémiai módszerek. A módszerfejlesztés ezen extenzív időszakában a számítógépek még nem tették lehetővé pontos számítások elvégzését, de az elmélet és a kísérlet között félkvantitatív egyezés kezdett kialakulni.

A harmadik korszak során gyorsuló ütemben vált lehetővé olyan számítások elvégzése, melyek pontossága (és nem csupán precizitása) vetekedett a kísérletekével. Egyre több klasszikus területen vált elfogadottá, hogy amennyiben az elmélet és a kísérlet ellentmond egymásnak, a kísérletet is új vizsgálat tárgyává kell tenni. Mindazonáltal a kvantumkémia, pontosabban az elektronszerkezet-számítások elsősorban statikus, egyensúlyi képpel dolgoztak, míg a mérések során a molekulák dinamikája meghatározóvá válhat.

A kvantumkémia negyedik korszakában,<sup>2</sup> melyben ma is élünk, a variációs alapú magmozgás-számítások pontossága lehetővé teszi, hogy az elektron- és magmozgások egyidejű tárgyalása segítségével akár effektív, hőmérsékletfüggő, kísérletileg közvetlenül meghatározható mennyiségeket kvantumkémia segítségével. számítsunk а Ezek a mennyiségek segítik az elmélet alkalmazását a szerkezetkutatásban, a nagyfelbontású molekulaspektroszkópiában, a termokémiában, a kémiai kinetikában és a dinamikában, valamint sok egyéb területen, melyet a jelen összefoglaló nem érinthet. Ebben a korszakban a kísérleti módszerek, a kvantumkémiai számítások eredményei, valamint az információtechnológiai eszközök alkalmazása együttesen biztosítják a kémia fejlődéséhez szükséges hátteret (1. ábra).



 Ábra. A kvantumkémia negyedik korszakát a kísérlet (itt molekulaspektroszkópia), az elmélet (itt kvantumkémia) és az információtechnológia (IT, itt aktív adatbázisok) szimbiózisa jellemzi.

## 3. Egyensúlyi és effektív molekulaszerkezetek

Molekulák "egyensúlyi" szerkezetének – a PES lokális minimumhelyeinek – meghatározása még manapság is jelentős nehézségekbe ütközik.<sup>3</sup> Koncepcionálisan az egyik nehézség, hogy a szerkezet fogalmának kialakítása tisztán kvantummechanikai kereteken belül nehézkes,<sup>4</sup> egyszerű értelmet a Born–Oppenheimer közelítés keretein belül nyer ez a fogalom. Kísérletileg a nehézséget az jelenti, hogy molekulák egyensúlyi szerkezete közvetlenül nem mérhető.

<sup>\*</sup> email: csaszar@chem.elte.hu

Kísérletileg csak effektív, többnyire hőmérsékletfüggő molekulaszerkezetek határozhatók meg. Amint azt a 2. ábra mutatja az NH<sub>3</sub> és ND<sub>3</sub> molekulák esetében, az egyensúlyi  $(r_{e})$  és effektív (pl.  $r_{a}$  és  $r_{g}$ ) szerkezeti paraméterek között a különbség akár 0,02 Å (2%) is lehet.



**2.** Ábra. Az NH<sub>3</sub> és ND<sub>3</sub> molekulákra meghatározott elméleti (magas szintű kvantumkémiai) és kísérleti (GED = gáz-elektron diffrakciós) egyensúlyi és effektív kötéshosszak.

Rezgésileg-forgásilag átlagolt molekuláris szerkezeti paraméterek számítására két lehetőség kínálkozik: a perturbációs, illetve a variációs út.<sup>3</sup> Flexibilis és/vagy nagy amplitúdójú mozgásokkal rendelkező molekulák szerkezetének pontos leírására kifinomult módszert biztosítanak a variációs alapú magmozgás számítások. Ezek költséges eljárások, de a magmozgás probléma "egzakt" eredményeket szolgáltatnak, megoldásával valamint biztosítják a rezgésileg-forgásilag átlagolt paraméterek számítását a rezgési és forgási szabadsági fokok szétválasztása nélkül. A magmozgás számító módszerek azt is lehetővé teszik, hogy olyan molekulákra végezzünk nagypontosságú számításokat, melyek leírásához a PES több minimumát is figyelembe kell venni, mint amilyen az NH, molekula. A variációs módszerek további előnye, hogy az átlagolt szerkezeti paramétereket várható értékek számításából kaphatjuk meg. A Laboratóriumunkban kifejlesztett magmozgás számító programok (ld. 4.1 fejezet) "egzakt" rezgési-forgási hullámfüggvények reprezentációját szolgáltatják. Amennyiben egy hőmérsékleti egyensúlyban lévő makroszkópikus molekuláris rendszert tekintünk, hőmérsékletfüggő átlagolt paramétereket a Boltzmanneloszlás figyelembe vételével kaphatunk. Az egyes rezgési-forgási energiaszintekhez tartozó szerkezeti paraméterek Boltzmann-súlyozásánál a forgási állapotok degenerációját és a magspin-statisztikai súlyokat is figyelembe kell venni. Fontos megjegyezni, hogy a tisztán rezgési hullámfüggvényekkel végzett átlagolások nem eredményeznek pontos effektív szerkezeti paramétereket, ezért elengedhetetlenül fontos a forgási korrekciók figyelembe vétele. Amennyiben magasabb hőmérsékleten szeretnénk konvergens szerkezeti paramétereket számítani, a forgási korrekcióra alkalmazhatjuk azt a közelítést, mely szerint a forgási hozzájárulás a szerkezeti paraméter értékéhez a hőmérséklet lineáris függvénye.

Elmondható, hogy kis molekulák esetében a magas szintű elméleti közelítések pontosabb (kisebb bizonytalansággal terhelt) szerkezeti paramétereket szolgáltatnak (ld. a H<sub>2</sub>O<sup>5</sup> és NH<sub>3</sub><sup>6</sup> molekulák esetét), mint a jelenlegi legjobb kísérleti eredményeken alapuló meghatározások.

Nagyobb molekulák esetében a szemiexperimentális egyensúlyi szerkezetek  $(r_e^{\text{SE}})^3$  adják a molekulák egyen-

súlyi szerkezetének legpontosabb reprezentációját. Az izotópszubsztituált származékok forgási állandóinak, a molekula harmadrendű (köbös) erőterének,<sup>7</sup> valamint a finomítás során megkötött szerkezeti paraméterek pontos elektronszerkezet-számításokon alapuló becslésének segítségével az utóbbi években sikerült meghatározni nagyszámú molekula egyensúlyi geometriáját, például a változatos térbeli alakokat felvevő glicin,<sup>8</sup> alanin<sup>9</sup> és prolin<sup>10</sup> aminosavak legalacsonyabb energiájú konformereinek pontos szerkezetét.

# 4. Számítógépes molekulaspektroszkópia

Molekulák nagyfelbontású színképének a kísérleteket megközelítő pontosságú számítása olyan jelentős akadályokba ütközik, hogy ez mindmáig nem megvalósítható a legegyszerűbb kétatomos rendszerek kivételével. Ugyanakkor kísérleti, modellezési és műszaki oldalról nagy igény mutatkozik molekulák rezgéseit és forgásait, valamint a kapcsolódó spektroszkópiai technikákat jellemző adatok közelítően pontos számítása iránt.

# 4.1. Rezgési-forgási energiaszintek kvantumkémiai számításokból

Bár a pontos kísérleti energiaszintek meghatározása jelentős lépés a molekulák teljes spektroszkópiájának megértése felé, nem várható el, hogy a háromatomos molekulákat jellemző akár több milliárd átmenetet valaha is meg lehessen mérni és asszignációval ellátni. A kísérletileg nem vagy csak nehezen, illetve költségesen mérhető átmenetek meghatározása így az elmélet feladata. Ehhez elengedhetetlenek az utóbbi két évtizedben kifejlesztett pontos elektronszerkezet és magmozgás számítást lehetővé tevő algoritmusok.<sup>2</sup>

A víz molekula spektroszkópiájára vonatkozó számításaink<sup>11-16</sup> az elsők a szakirodalomban, amelyek egy többelektronos és többatomos molekula esetén az összes izotopológra a mért rezgési-forgási szinteket ún. spektroszkópiai pontossággal reprodukálják, azaz átlagosan 1 cm<sup>-1</sup>-nél pontosabban.<sup>11</sup> Az elektronszerkezet számítások a Császár és Allen nevéhez fűződő ún. fókuszpont analízis [*focal-point analysis* (FPA)] módszert<sup>17</sup> alkalmazták és figyelembe vették a relativisztikus<sup>18,19</sup> illetve kvantumelektrodinamikai (QED, *quantum electrodynamics*) hatásokat.<sup>20</sup> Legújabban még ennél is pontosabb számításokat közöltünk a H<sub>3</sub><sup>+</sup> molekulaionra és deuterált származékaira,<sup>21</sup> melyek újszerű kísérleti eredmények értelmezésében segítettek.

A rezgési-forgási állapotok számításához ki- illetve továbbfejlesztettünk több olyan eljárást, melyek alkalmasak kis és közepes méretű molekulák rezgésiforgási energiaszintjeinek és hullámfüggvényeinek a variációs elv alapján történő meghatározására a PES és a magtömegek ismeretében. Az algoritmusok és a nekik megfelelő programok rövidítései: DOPI,<sup>22,23</sup> DEWE<sup>24-26</sup> és GENIUSH.<sup>27</sup> A DOPI<sup>22</sup> (discrete variable representation of a Hamiltonian expressed in orthogonal coordinates using a product basis and an iterative diagonalizer) és D<sup>2</sup>FOPI<sup>23</sup> eljárások tetszőleges háromatomos rendszerek esetében alkalmazhatók, tetszőleges belső koordinátákat használnak és lehetővé teszik teljes színképek effektív számítását (ld. 3. ábra). A DEWE (discrete variable representation of the Eckart-Watson Hamiltonian with exact inclusion of the

PES) és GENIUSH (general code with <u>numerical</u>, <u>internal</u> coordinate, <u>user-specified Hamiltonians</u>) programrendszerek egyaránt alkalmasak *N*-atomos molekulák vizsgálatára. A DEWE algoritmus az Eckart–Watson Hamilton-operátort és egyenesvonalú rezgési koordinátákat alkalmaz, így használata félmerev molekulákra előnyös. A legnagyobb méretű Hamilton mátrix, melynek alsóbb sajátértékei meghatározásra kerültek, 500 millió × 500 milliós méretű volt. A GENIUSH algoritmus numerikusan állítja elő a Hamilton-operátort és lehetővé teszi, hogy tetszőlegesen definiáljuk a számításhoz használt koordinátákat, válasszuk meg a molekulához rögzített koordinátarendszert, valamint használjunk redukált modelleket.



3. Ábra. Az energiaszintek becsült pontossága a  $H_2^{16}O$  molekula páratlan szimmetriájú, az első disszociációs határig meghatározott rezgési állapotaira az energia függvényében ábrázolva.

Magasan gerjesztett rezgési-forgási állapotok vizsgálatakor a DEWE és GENIUSH eljárások számítási költsége igen gyorsan nőhet a *J* forgási kvantumszám növekedtével. Ez a jelenség a kövekező okokra vezethető vissza: (a) magasabb *J* értékek esetén egyre több sajátértéket kell kiszámítanunk egy adott spektrumtartomány vizsgálatakor, (b) magasabb *J* esetén megnő a rezgési-forgási bázis mérete, és (c) nő a közeli rezgési-forgási energiaszintek száma, ami lerontja a Hamilton-mátrix diagonalizálásához használt Lánczosalgoritmus konvergenciasebességét.

A fentebb ismertetett problémákat a rezgési altér VS) (vibrational subspace, eliárás bevezetésével oldottuk meg.26 A VS eljárás során először megoldjuk variációsan a tiszta rezgési (J=0) problémát a DEWE, vagy a GENIUSH programokkal, majd pedig az így számított rezgési hullámfüggvényeket merev pörgettyű forgási hullámfüggvényekkel szorozzuk és az így kapott rezgési-forgási bázison fejtjük sorba a számítandó hullámfüggvényeket. A VS módszer a következő fontos előnyökkel bír: (a) a rezgési-forgási bázis igen kompakt, (b) a számított rezgési-forgási hullámfüggvényeket könnyű címkézni közelítő kvantumszámokkal (K, és K, forgási, illetve harmonikus oszcillátor rezgési kvantumszámok) az RRD (rigid rotor decomposition) és NMD (normal mode decomposition) eljárásaink<sup>28</sup> segítségével, (c) a bázisfüggvények tükrözik a vizsgált rendszer szimmetriáját, így a számított rezgési-forgási állapotok szimmetriáját egyszerűen meg lehet állapítani, (d) mivel a Hamilton-mátrix kicsi, a Lánczos-algoritmus helyett alkalmazhatunk olyan direkt diagonalizáló eljárásokat, melyek nem érzékenyek a Hamilton-mátrix spektrálsűrűségére.

A VS eljárást sikeresen alkalmaztuk az ötatomos,  $T_d(M)$  szimmetriájú metán<sup>2</sup> (ld. 4. ábra) és a  $C_{2\nu}(M)$  szimmetriájú ketén (CH<sub>2</sub>CO)<sup>26</sup> molekulákra. Munkánk során egészen az extrém magas J = 50 forgási kvantumszám értékig végeztünk variációs rezgési-forgási számításokat. Az így kapott energiaszintekhez és hullámfüggvényekhez hozzárendeltük a megfelelő rezgési és forgási közelítő kvantumszámokat. A számított eredményeket a MARVEL eljárás (ld. 5.1 fejezet) segítségével validáltuk. Eredményeink segítségével sikeresen asszignáltunk eddig ismeretlen vonalakat a ketén mért színképében.<sup>26</sup>



4. Ábra. A DEWE-VS algoritmus segítségével a metán molekula (00)(01), F<sub>2</sub> szimmetriájú rezgési állapotára számított forgási klaszteresedési effektus a J forgási kvantumszám függvényében.

Összefoglalva, a spektroszkópiai mérésekét megközelítő pontosságú kötött állapot számításokhoz ma már rendelkezésre állnak a megfelelő magmozgás algoritmusok és programok, míg a potenciális energia és tulajdonság felületek pontos számításához szinte minden fizikailag releváns hatást – beleértve a relativisztikus és kvantumelekt rodinamikai effektusokat – figyelembe kell venni, valamint szükséges a nemadiabatikus hatások legalább közelítő kezelése is.

## 4.2. Intenzitások

A kvantumkémiai számítások lehetőséget biztosítanak a rezgési-forgási vonalak intenzitásának többnyire pontos számítására a PES és a dipólusnyomaték-felület (*dipole moment surface*, DMS) ismeretében.<sup>29</sup>

A víz molekulára végzett intenzitásszámítás során nem bizonyultak elhanyagolhatónak a relativisztikus hatások a DMS-ben sem. A számított intenzitások pontossága többnyire meghaladja a nagyfelbontású kísérleti spektroszkópiai módszerekkel meghatározható értékeket, míg a vonalak helyének pontossága lehetővé teszi a színképből az azonosításukat, és így a spektroszkópiai adatbázisok továbbépítése során a kísérleti és elméleti információ optimális felhasználását. A rezgési intenzitások közelítő számítása hozzásegített bennünket ahhoz, hogy azonosítsuk az NCCO gyök több izotopológját a felvett színképekben és elvégezzük a normálrezgések besorolását.<sup>30</sup>

## 4.3. Sávalakok

A molekulák abszorpcióját és emisszióját jellemző átmeneti energia és intenzitás adatok mellett a sávalak számítása is rendkívüli jelentőségű a mérnöki modellezési feladatok és más alkalmazások számára.

A szokásos Voigt-féle sávalak nem adja vissza a nagyfelbontású, kiemelkedően jó jel/zaj arányú kísérletek során észlelhető sávalakot. A kísérleti sávalak és a nyomásfüggés megértéséhez figyelembe kell venni az ütközések indukálta sebességváltozásokat és az ütközési paraméterek sebességfüggését is.<sup>31</sup> Ez a feladat még ma is jelentős kihívást jelent az elmélet számára, egy gyors és egyben pontos algoritmus kifejlesztése még várat magára.

# 4.4. Rezonancia állapotok

A rezonancia, más néven kvázistacionárius állapotok olyan instabil állapotai egy rendszernek, melyekben a rendszer elegendő energiával rendelkezik ahhoz, hogy részrendszereire essen, tipikusan exponenciális bomlást követve az időben. A rezonancia állapotok fontos szerepet játszanak atomfizikai és molekulafizikai folyamatokban, például unimolekuláris reakciókban, továbbá fotodisszociációs, fotoasszociációs és szórási folyamatokban.<sup>32,33</sup> Bár a disszociációs energiához közeli energiájú rezgési-forgási rezonancia állapotok kísérletileg mérhetőek, alapos elméleti vizsgálatukra eddig kevés alkalommal került sor.<sup>34,35</sup>

Legalább két jól meghatározott mechanizmus vezethet a rezonancia állapotok kialakulásához. A disszociációs energiánál alacsonyabb energiájú, tehát még kötött rezgési állapotokra rakódó forgási gerjesztések a rendszer energiáját a disszociációs energia fölé emelhetik, de ugyanakkor olyan, ún. centrifugális gátak kialakulásához is vezetnek, melyek a rendszer szétesését ideiglenesen megakadályozzák. Így jönnek létre az angol szakszóval shape resonance-nak (alakrezonancia) nevezett rezonancia állapotok, melyek élettartamát és így a színképben potenciálisan észlelhető vonalszélességüket a centrifugális gát magassága és alakja szabja meg. Az alakrezonancia állapotok energiája akár jelentősen meghaladhatja a disszociációs energiát, a színképben való megjelenésüket általában keskeny vonalak jellemzik. Az alakrezonanciák felelősek részben a híres Carrington–Kennedy sávokért, melyek a H<sup>+</sup> molekulaion disszociáció közeli színképében található, mai napig asszignálatlan vonalak.<sup>34</sup> Az olyan rezonancia állapotokat, melyek nem disszociatív szabadsági fokokba való rezgési gerjesztéssel jönnek létre, Feshbach vagy Feshbach-Fano rezonanciáknak szokás nevezni. Mindkét fajta rezonancia állapot jelenléte megfigyelhető a vízgőz színképének disszociáció közeli tartományában.36,37 Természetesen a kétfajta mechanizmus kombinációja is megfigyelhető.38

Bár a rezonanciaállapotok matematikailag precíz elmélete manapság rendelkezésre áll,<sup>39,40</sup> ennek megértése a funkcionálanalízis olyan mélységű ismeretét kívánja meg, amivel az átlagos elméleti kémikus nem rendelkezik. Szerencsére számos gyakorlati alkalmazás szempontjából a rezonancia állapotok elméleti leírása lehetséges intuitív megközelítésen keresztül is. Felhasználva a Landau tankönyvében<sup>41</sup> írottakat, illetve a szakirodalmat,<sup>42</sup> a rezonancia állapotokat a Schrödinger-reprezentációban olyan stacionárius kimenő szórási hullámfüggvényekkel azonosítjuk, melyek a disszociációs koordináta mentén exponenciálisan divergálnak. Mivel aszimptotikus tulajdonságaik miatt ezen állapotok nem elemei a Hilbert-térnek, rájuk nézve a Hamilton operátor már nem önadjungált, a hozzájuk tartozó energia sajátértékek komplex számok: a valós érték az állapothoz tartozó "pozíció", avagy az az energiaérték, amelyhez tartozó átmenetek mérhetőek a színképben, míg a komplex rész az állapot "vonalszélessége", mely az inverz élettartammal függ össze. A rezonanciaállapotok aszimptotikusan divergens tulajdonsága természetesen maga után vonja, hogy ezen hullámfüggvények nem négyzetesen integrálhatóak, így kívül esnek az elméleti kémia keretein belül négyzetesen integrálható hullámfüggvényekre kifejlesztett nagy hatékonyságú módszerek hatáskörén.

A számítási probléma áthidalásának céljából az utóbbi évtizedek során kidolgozásra került számos eljárás, amely lehetővé teszi rezonancia sajátállapotok számítását  $L^2$ -módszerek keretein belül. Ezek általában nem önadjungált Hamilton-operátorok használatára építenek: a rezonancia energia sajátértékek a négyzetesen integrálható sajátfüggvényekhez tartozó sajátértékekkel azonosíthatóak vagy közelíthetőek. A két legnépszerűbb módszer a komplex koordináták használata,<sup>43</sup> illetve a komplex abszorpciós potenciál alkalmazása,<sup>44-46</sup> az utóbbi az elterjedtebb.<sup>47-49</sup> Csoportunkban mindkét módszer hatékony programozására és alkalmazására sor került.<sup>50</sup>

A magmozgás számítási módszerek fejlődésével a rezonanciaállapotok számítása 3-5 atomos molekulákra is gyarapodni fog. Jelenleg csoportunk a  $H_2O$  és  $H_3^+$  molekulák és izotopológjaik mérésekből rendelkezésre álló rezonancia állapotainak értelmezésével foglalkozik.

# 5. Aktív adatbázisok

A spektroszkópiában, a termokémiában és a kémiai kinetikában a nagyszámú rendelkezésre álló mérési (és számítási) adatot adatbázisokba szokás rendezni és így hozzáférhetővé tenni pl. a mérnöki alkalmazások számára. Az információtechnológia által szolgáltatott egyik legfontosabb eszköz az adatbázis kezeléshez az aktív adatbázis technológia.

# 5.1. Kísérleti rezgési-forgási energiaszintek

A számos tudományos és mérnöki alkalmazásban előforduló kis szabad molekulák (pl. H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub> és CH<sub>4</sub>) jelentős számú rezgési-forgási gerjesztését (például azok helyét és intenzitását) spektroszkópiai információs rendszerekben (pl. HITRAN,<sup>51</sup> GEISA,<sup>52</sup> GPL,<sup>53</sup> CDMS<sup>54</sup>) rögzítették. Ezek közül jelenleg a legelfogadottabb a széleskörűen alkalmazott HITRAN adatbázis.<sup>51</sup> Míg egy-egy molekulára az átmenetek száma milliárdos nagyságrendű, az azokat meghatározó energiaszintek száma csupán néhány százezer. Így már korábban is tettek erőfeszítéseket a molekuláris energiaszintek pontos meghatározására, pl. a H<sub>2</sub><sup>16</sup>O molekula esetében.<sup>55</sup>

A spektroszkópiai hálózatok<sup>56</sup> elvén nyugvó eljárást fejlesztettünk ki a kísérletileg mért és asszignált átmenetekből az ún. kísérleti rezgési-forgási energiaszintek egyszerű "inverzióval" történő meghatározására. Az eljárás neve MARVEL, jelentése *Measured Active Rotational*-*Vibrational Energy Levels.*<sup>57</sup> Aktívnak azért nevezzük

az inverzióval kapott energiaszinteket, mert amint újabb kísérleti eredmények állnak rendelkezésre, az inverziót újra el lehet végezni, s az eredmények természetesen javulni, az energiaszintek bizonytalansága pedig csökkenni fog. A MARVEL eljárás lényege röviden: (1) Gondos validálást követően az összes releváns, asszignált<sup>23</sup> és megfelelő hibával ellátott rezgési-forgási átmenet összegyűjtése és elhelyezése egy adatbázisban. (2) Azon energiaszintek megkeresése az adott speciesz esetén, melyek a kvantummechanika szabályai szerint olyan átmenetekben vehetnek részt, melvek egymással összefüggenek, spektroszkópiai hálózatot (SN, spectroscopic network) alkotnak. (A víz szimmetrikus izotóphelyettesített származékai esetén az SN-ek száma kettő, ún. orto illetve para, míg a HDO esetében egy SN lép fel). (3) A validált, adott SN-hez tartozó átmenetek összegyűjtése egy vektorba. Az átmenetek bizonytalanságától is függő inverziós ("dizájn") mátrix felépítése, mely az átmeneteket és az energiaszinteket köti össze. (4) Az inverzió végrehajtása (ez "mindössze" egy nagyméretű lineáris egyenletrendszer megoldását jelenti), a megfelelő rezgésiforgási energiaszintek (és bizonytalanságuk) meghatározása, esetlegesen a kísérleti adatok finomítása a kirívóan nagy kísérleti eltérések figyelembe vételével és korrekciójával.

Egy IUPAC Task Group keretében a MARVEL eljárás segítségével energiaszinteket határoztunk meg a  $H_2^{16}O$ ,  $H_2^{17}O$ ,  $H_2^{18}O$ ,  $HD^{16}O$ ,  $HD^{17}O$ , és  $HD^{18}O$  izotopológokra.<sup>14,15</sup> A MARVEL eljárást alkalmaztuk az ötatomos ketén molekula rezgési-forgási energiaszintjeinek meghatározására is.<sup>26</sup> Legújabban a  $H_3^+$ ,  $H_2D^+$ ,  $HD_2^+$  és  $D_3^+$ , valamint a <sup>14</sup>NH<sub>3</sub> és <sup>14</sup>ND<sub>3</sub> molekulák MARVEL vizsgálata folyik Laboratóriumunkban.

## 5.2. Számítógépes termokémia

Az aktív adatbázis technológia kiválóan alkalmazható a termokémiában is képződéshők finomítására mért vagy számított reakcióenergiákra alapozva.<sup>58</sup> Ekkor ún. termokémiai hálózatot lehet felépíteni a reakciókban résztvevő partnerek számbavétele alapján, és ismételten a hálózatban fellépő körök biztosítják az adatok finomításának lehetőségét.

Az általunk kifejlesztett NEAT (*from a network of computed reaction enthalpies to atom-based thermochemistry*) eljárás<sup>58a</sup> segítségével pontos képződési entalpia értékek határozhatók meg ab initio számított reakcióentalpiák alapján. Az eljárás jelentősen képes javítani a direkt számított energiaértékek bizonytalanságán. A NEAT képződési entalpiák kiváló egyezést mutatnak nem csak a pontos, FPA (*focal-point analysis*) technikával számított képződéshőkkel, hanem az *Active Thermochemical Tables* (ATcT)<sup>58b</sup> technika szerint kísérleti eredmények feldolgozásával meghatározott, s az eddig legpontosabbnak tekintett képződési entalpiákkal is. A NEAT eljárás további érdekessége, hogy az elem alapú termokémia helyett az atom alapú termokémia alkalmazására tesz megfontolt javaslatot.

### 6. Alagúthatás a kémiában

Az alagúthatás vagy alagúteffektus (angolul *tunneling*) klasszikus mechanikai analógia nélküli, tisztán kvantummechanikai jelenség. Az alagúteffektus során a részecske "áthalad" egy olyan potenciálgáton, amit klasszikus értelemben nem tudna átlépni, mivel teljes (potenciális és kinetikus) energiája kisebb a potenciálgát csúcsa és az adott energiaszint közötti energiakülönbségnél (5. ábra). Az alagúthatás értelmezhető úgy, hogy a kvantummechanika törvényei szerint nem nulla (csak esetleg nagyon-nagyon kicsi) annak a valószínűsége, hogy az elemi részecskék a gát nem csak egyik, hanem másik oldalán is tartózkodhatnak, így nem nulla annak a valószínűsége sem, hogy a gát egyik oldaláról a másik oldalára átjussanak (ehhez hasonló "jelenség" a kvantummechanikai harmonikus oszcillátor tárgyalása során is fellép). Gyakorlati jelentősége miatt az alagúthatás sokat tanulmányozott jelenség a fizika (alfabomlás<sup>59a</sup>), a biológia (enzimreakciók<sup>59b</sup>), és a kémia egyes területein. Az alagúthatás jelenségét használják fel pásztázóalagútmikroszkópnál is, valamint az ammónia kísérleti színképének "finomabb" részleteit is az alagúthatással lehet megmagyarázni.60



5. Ábra. A *t*-HCOH  $\rightarrow$  H<sub>2</sub>CO izomerizációs reakció 1,2-H-eltolódás mechanizmusú alagúthatással az átrendeződést leíró reakciókoordináta függvényében.

2008-ban, mintegy 80 évnyi sikertelen próbálkozás után sikerült előállítani a transz-hidroximetilént,<sup>61</sup> mely a glioxálsavat pirolízisnek alávetve (6. ábra) CO<sub>2</sub> molekula távozása mellett keletkezik. A keletkező hidroxikarbént 11 K-en argon mátrixba fagyasztva sikerült izolálni. A transz-hidroximetilén a rendkívül alacsony hőmérséklet és az elmélet által előre jelzett óriási energiagátak ellenére nem bizonyult "stabilnak", mintegy két órás felezési idővel – értelmezésünk szerint alagúteffektus révén – formaldehiddé alakul át. Ez azért különösen érdekes, mert ezt a rendszert jellemzi az eddig tapasztalt legmagasabb gát, amin atomi részecske – jelen esetben egy H-atom – alagúthatással áthaladt: a HCOH  $\rightarrow$  H<sub>2</sub>CO átrendeződés gátmagassága<sup>61</sup> meghaladja a 120 kJ mol<sup>-1</sup>-t (5. ábra).



**6. Ábra.** Transz-hidroximetilén előállítása nagy-vákumban gyors pirolízissel (HVFP, *high vacuum flash pirolysis*).

A *t*-HCOH molekulát a szokásos tartományban felvett infravörös és UV spektruma alapján sikerült azonosítani, a kísérleti sávok asszignálását a kutatócsoportunk által elvégzett pontos kvantumkémiai számítások segítették. Ezeket a csoport tagjai által korábban kifejlesztett, a Schrödinger-egyenletet a magok mozgására megoldó DEWE program segítségével végeztük el. A mért adatok pontos egyezést mutatnak a számított eredményekkel.

A *t*-hidroximetilén molekula után tisztán elméleti módszerekkel vizsgáltuk annak az oxigént kén- illetve szelén-atommal helyettesített analógjait, hogy a kapott becslések alapján megjósolhassuk, érdemes-e ezen molekulák kísérleti előállításával próbálkozni az alagúthatás megfigyelése céljából. A merkapto- és a szelenokarbén analógok átalakulását vizsgálva megállapítottuk,<sup>62</sup> hogy nem várhatunk észlelhető alagúthatást a mátrixizolációs mérések alacsony (10 K körüli) hőmérsékletén.

Az alagúthatás jelenségének időskáláját két kvantumkémiai módszerrel tanulmányoztuk. Az egyszerű, egy-dimenziós Eckart-gát közelítés során a potenciális energiafelület stacionárius pontjaira egy előre megadott alakú pontenciált illesztünk, míg a sokkal kifinomultabb, de még mindig egydimenziós Wentzel-Kramers-Brillouin (WKB) közelítés során egy fél-klasszikus közelítést alkalmazunk, a potenciált egy speciális belső koordináta, az IRC (intrinsic reaction coordinate) mentén történő számítással határozzuk meg. Az illesztés így egy pontosan meghatározott egydimenziós pontsorozatra történik, ezáltal a reakciósebességi állandóra az Eckart-modellnél pontosabb eredményt kapunk. A pontsorozat felhasználása miatt a WKB-módszernek jelentősebb a számítási időigénye, mivel itt kb. 80-100 pont kiszámítása történik, szemben az Eckart-módszerrel, ahol mindössze három pontra illesztjük a közelítő potenciált.

Az utóbbi időben az α-ketokarbonsavak családját vizsgáljuk az alagúthatás szempontjából. Célunk, hogy megértsük, hogy az oxocsoport jelenléte mennyiben változtat a karbonsavaknál tapasztaltakon, s ezáltal közelebb kerüljünk ahhoz, hogy ezt a jelenséget nagyobb rendszerek (pl. enzimreakciók) esetén kvantumkémiai úton tanulmányozhassuk.

## 7. Kváziklasszikus trajektória (QCT) számítások

Napjaink egyik központi problémája az energia hatékony felhasználásának kérdése. "Atom + diatom" típusú reakciók esetén már évtizedek óta ismert, hogy az ütközési energia aktiválja az ún. *early-barrier* reakciókat, míg a reaktáns molekula rezgési gerjesztése az ún. *late-barrier* reakcók sebességére van nagyobb hatással. Az elmúlt évek egyik érdekes tudományos kérdése, hogy az előbb említett "szabályok" hogyan általánosíthatóak nagyobb (pl. 5-6 atomot tartalmazó) rendszerekre. Czakó, Bowman és munkatársaik<sup>63-69</sup> ezt a kérdést vizsgálták korszerű elméleti módszerekkel. A dinamikai számítások két kulcslépése a globális potenciális energia felület meghatározása és a magok mozgásának leírása a PES-en. Az elmúlt 4 évben az F,<sup>63</sup> Cl<sup>67,68</sup> és O<sup>69</sup> atomok metánnal végbemenő reakciójára fejlesztettünk ki nagy pontosságú *ab initio* PES-eket, amelyek minden eddiginél pontosabb dinamikai számításokat tettek lehetővé. A magok mozgásat a kvázi-klasszikus trajektória (*quasiclassical trajectory*, QCT) módszerrel írtuk le. Eredményeink rámutattak, hogy a kémiában másodlagosnak tekintett van der Waals kölcsönhatások komoly hatással lehetnek a reakciók dinamikájára, különösen kis ütközési energiák esetén.<sup>64,65,67</sup>

Az elméleti munka sikeréhez jelentősen hozzájárultak a módszerfejlesztés területén elért eredmények. 2009-ben Czakó és Bowman<sup>65</sup> tett javaslatot az ún. *Gaussian binning* módszer általánosítására, ezáltal teremtve lehetőséget kvantummechanikai effektusok figyelembe vételére többatomos rendszerek kváziklasszikus vizsgálata esetén. A módszert az elmúlt 1-2 évben több kutatócsoport is alkalmazta az X + CH<sub>4</sub>  $\rightarrow$  HX + CH<sub>3</sub> (X = F, Cl, O), (H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>  $\rightarrow$  2H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub> + OH  $\rightarrow$  H + H<sub>2</sub>O és OH + CO  $\rightarrow$  H + CO<sub>2</sub> reakciókra.<sup>64-70</sup>

A QCT módszer egyik jól ismert problémája az ún. zeropoint leak (ZPL, zérusponti szivárgás), mely megnehezíti a módszer alkalmazását molekuláris klaszterek és folyadékok dinamikai vizsgálatára. A ZPL következtében a monomerek intramolekuláris energiája az intermolekuláris módusokba "folyik" át, ami a klaszterek monomerekre történő disszociációjához vezet. 2010-ben Czakó és munkatársai<sup>71</sup> bemutattak egy olyan módszert, mely konzerválja a monomerek zérusponti energiáját. Az új, megszorításos QCT módszert sikeresen alkalmaztuk a víz dimer<sup>71</sup> és trimer<sup>72</sup> dinamikájának vizsgálatára.

## 8. Összefoglalás

kvantumkémia negyedik korszakát jellemző A módszerfejlesztések eredményeként az elméleti kémikusoknak számos lehetősége van a kísérleti eredmények feldolgozásának segítésére, azok értelmezésére, sőt számos esetben azok számításokkal történő kiváltására. A Laboratóriumunkban kifejlesztett számos magmozgás számító eljárás és program (DOPI, DEWE és GENIUSH), valamint kiegészítő algoritmus (FPA, MARVEL, NEAT, NMD és RRD) hasznosnak bizonyult már eddig is kisebb molekulák és izotopológjaik (H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub><sup>+</sup>, CH<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, CH, CH,CO) nagyfelbontású kísérleti spektroszkópiai vizsgálatának támogatására, az adatok ismeretté történő konvertálásának elősegítésére. Az általunk is fejlesztett eljárások segítségével minden eddiginél több és alkalmasabb lehetőségünk van molekulák szerkezetének pontos, elméleti meghatározására, színképek asszignációjára, spektroszkópiai és termokémiai adatok validálására, reakciók dinamikájának részletekbe menő vizsgálatára. Meggyőződésünk, hogy az elmélet (kvantumkémia és információtechnológia) és a kísérlet együttes alkalmazása, szimbiózisa még az eddigieknél is hangsúlyosabb szerepet fog kapni a kémia XXI. századi fejlődésében és alkalmazásaiban.

### Köszönetnyilvánítás

A leírt kutatási munkát az évek során alapvetően az OTKA, az IUPAC, valamint az Európai Unió (FP6, ERA-Chemistry, INTAS, TÁMOP) programjai támogatták.

### Hivatkozások és megjegyzések

- (a) Richards, G. *Nature* **1979**, *278*, 507. (b) Schaefer III, H. F. Science **1986**, *231*, 1100. (b) Schaefer III, H. F. Chimia **1989**, *43*, 1.
- Császár, A.G.; Fábri, C.; Szidarovszky, T.; Mátyus, E.; Furtenbacher, T.; Czakó, G. Phys. Chem. Chem. Phys. 2012, 14, 1085–1106.
- Demaison, J.; Boggs, J. E.; Császár, A. G. (szerk.) *Equilibrium Molecular Structures*, CRC Press: Boca Raton, FL, 2011.
- (a) Sutcliffe, B. T.; Woolley, R.G. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2005, 7, 3664-3676. (b) Mátyus, E.; Hutter, J.; Müller-Herold, U.; Reiher, M. *Phys. Rev. A* 2011, *83*, 052512. (c) Mátyus, E.; Hutter, J.; Müller-Herold, U.; Reiher, M. *J. Chem. Phys.* 2011, *135*, 204302.
- (a) Császár, A. G.; Czakó, G.; Furtenbacher, T.; Tennyson, J.; Szalay, V.; Shirin, S. V.; Zobov, N. F.; Polyansky, O. L. J. Chem. Phys. 2005, 122, 214305. (b) Czakó, G.; Mátyus E.; Császár, A. G. J. Phys. Chem. A 2009, 113, 11665-11678
- Szabó, I.; Fábri, C.; Czakó, G.; Mátyus, E.; Császár, A. G. J. Phys. Chem. A 2012, 116, 4356-4362.
- (a) Császár, A. G. in *Encycl. Comp. Chem.* (eds. P. v. R. Schleyer et al.) **1998**, *1*, 13-30. (b) Császár, A. G. *WIREs Comp. Mol. Sci.* **2012**, *2*, 273-289.
- Kasalová, V.; Allen, W.D.; Schaefer III, H. F.; Czinki, E.; Császár, A. G. J. Comp. Chem. 2007, 28, 1373-1383.
- Jaeger, H. M.; Schaefer III, H. F.; Demaison, J.; Császár, A. G.; Allen, W. D. J. Chem. Theory Comput. 2010, 6, 3066-3078.
- Allen, W.D.; Czinki, E.; Császár, A. G. Chem. Eur. J. 2004, 10, 4512-4517.
- Polyansky, O. L.; Császár, A. G.; Shirin, S. V.; Zobov, N. F.; Barletta, P.; Tennyson, J.; Schwenke, D. W.; Knowles, P. J. *Science* 2003, 299, 539-542.
- Barletta, P.; Shirin, S. V.; Zobov, N, F.; Polyansky, O. L.; Tennyson, J.; Császár, A. G. J. Chem. Phys. 2006, 125, 204307.
- Császár, A. G.; Mátyus, E.; Szidarovszky, T.; Lodi, L.; Zobov, N. F.; Shirin, S. V.; Polyansky, O. L.; Tennyson, J. J. Quant. Spectr. Rad. Transfer 2010, 111, 1043-1064.
- Tennyson, J.; Bernath, P. F.; Brown, L. R.; Campargue, A.; Carleer, M. R.; Császár, A. G.; Gamache, R. R.; Hodges, J. T.; Jenouvrier, A.; Naumenko, O. V.; Polyansky, O. L.; Rothman, L. S.; Toth, R. A.; Vandaele, A. C.; Zobov, N. F.; Daumont, L.; Fazliev, A. Z.; Furtenbacher, T.; Gordon, I. F.; Mikhailenko, S. N.; Shirin, S. V. J. Quant. Spectr. Rad. Transfer 2009, 110, 573-596.
- Tennyson, J.; Bernath, P. F.; Brown, L. R.; Campargue, A.; Császár, A. G.; Daumont, L.; Gamache, R. R.; Hodges, J. T.; Naumenko, O. V.; Polyansky, O. L.; Rothman, L. S.; Toth, R. A.; Vandaele, A. C.; Zobov, N. F.; Fally, S.; Fazliev, A. Z.; Furtenbacher, T.; Gordon, I. F.; Hu, S.-M.; Mikhailenko, S. N.; Voronin, B. J. Quant. Spectr. Rad. Transfer 2010, 111, 2160-2184.
- Grechko, M.; Boyarkin, O. V.; Rizzo, T. R.; Maksyutenko, P.; Zobov, N. F.; Shirin, S. V.; Lodi, L.; Tennyson, J.; Császár, A. G.; Polyansky, O. L. J. Chem. Phys. 2009, 131, 221105.
- Császár, A. G.; Allen, W. D.; Schaefer III, H. F. J. Chem. Phys. 1998, 108, 9751-9764.
- Császár, A. G.; Kain, J. S.; Polyansky, O. L.; Zobov, N. F.; Tennyson, J. Chem. Phys. Lett. **1998**, 293, 317-323; *ibid*. **1999**, 312, 613-616 (E).

- Tarczay, G.; Császár, A. G.; Klopper, W.; Quiney, H. M. Mol. Phys. 2001, 99, 1769-1794.
- Pyykkö, P.; Dyall, K.; Császár, A. G.; Tarczay, G.; Polyansky, O. L.; Tennyson, J. *Phys. Rev. A* 2001, *63*, 4502-4505.
- Pavanello, M.; Adamowicz, L.; Alijah, A.; Zobov, N. F.; Mizus, I. I.; Polyansky, O. L.; Tennyson, J.; Szidarovszky, T.; Császár, A. G.; Berg, M.; Petrignani, A.; Wolf, A. *Phys. Rev. Lett.* 2012, 108, 023002.
- (a) Czakó, G.; Furtenbacher, T.; Császár, A. G.; Szalay,
   V. *Mol. Phys.* 2004, *102*, 2411-2423. (b) Furtenbacher, T.;
   Czakó, G.; Sutcliffe, B. T.; Császár, A. G.; Szalay, V. J. Mol.
   Struct. 2006, 780-781, 283-294.
- 23. Szidarovszky, T.; Császár, A. G.; Czakó, G. Phys. Chem. Chem. Phys. 2010, 12, 8373-8386.
- 24. Mátyus, E.; Czakó, G.; Sutcliffe, B. T.; Császár, A. G. J. *Chem. Phys.* **2007**, *127*, 084102.
- Mátyus, E.; Šimunek, J.; Császár, A. G. J. Chem. Phys. 2009, 131, 074106.
- Fábri, C.; Mátyus, E.; Furtenbacher, T.; Mihály, B.; Zoltáni, T.; Nemes, L.; Császár, A. G. J. Chem. Phys. 2011, 135, 094307.
- (a) Mátyus, E.; Czakó, G.; Császár, A. G. J. Chem. Phys.
   2009, 130, 134314. (b) Fábri, C.; Mátyus, E.; Császár, A. G. J. Chem. Phys. 2011, 134, 074105.
- (a) Mátyus, E.; Fábri, C.; Szidarovszky, T.; Czakó, G.; Allen, W. D.; Császár, A. G. J. Chem. Phys. 2010, 133, 034113. (b) Szidarovszky, T.; Fábri, C.; Császár, A. G. J. Chem. Phys. 2012, 136, 174112.
- Lodi, L.; Tolchenov, R. N.; Tennyson, J.; Lynas-Gray, A. E.; Shirin, S. V.; Zobov, N. F.; Polyansky, O. L.; Császár, A. G., van Stralen, J. N. P.; Visscher, L. J. Chem. Phys. 2008, 128, 044304.
- Schreiner, P. R.; Reisenauer, H. P.; Mátyus, E.; Császár, A. G.; Siddiqi, A.; Simmonett, A. C.; Allen, W. D.*Phys. Chem. Chem. Phys.* 2009, *11*, 10385-10390.
- 31. Ngo, N. H.; Tran, H.; Gamache, R. R. J. Chem. Phys. 2012, 136, 154310.
- 32. (a) Schinke, R. Photodissociation Dynamics, Cambridge University Press, Cambridge, 1993. (b) Taylor, J. R. Scattering Theory, Wiley, New York, 1972. (c) Wyatt, R. E.; Zhang, J. Z. H. Dynamics of Molecules and Chemical Reactions, Marcel Dekker, New York, 1996.
- Kukulin, V. I.; Kasnopolsky, V. M.; Horacek, J. Theory of Resonances, Kluwer, Dordrecht, 1988.
- Carrington, A.; McNab, I. R.; West, Y. D. Chem. Phys. 1993, 98, 1073.
- Miyawaki, J.; Yamanouchi, K.; Tsuchiya, S. Chem. Phys. 1993, 99, 254.
- Grechko, M.; Maksyutenko, P.; Rizzo, T. R.; Boyarkin, O. V. J. Chem. Phys. 2010, 133, 081103.
- Zobov, N. F.; Shirin, S. V.; Lodi, L.; Silva, B. C.; Tennyson, J.; Császár, A. G.; Polyansky, O. L. *Chem. Phys. Lett.* 2011, 507, 48-51.
- 38. Mussa, H. Y.; Tennyson, J. Chem. Phys. Lett. 2002, 366, 449.
- 39. Bohm, A.; Uncu, H.; Komy, S. Rep. Math. Phys. 2009, 64, 5.
- 40. Bohm, A. Rep. Math. Phys. 2011, 67, 279.
- 41. Landau, L. D.; Lifsic, E. M. *Elméleti Fizika III. Kvantummechanika*, Tankönyvkiadó, Budapest, 1978.
- 42. Moiseyev, N. Phys. Rep. 1998, 302, 211.
- 43. Reinhardt, W. P. Annu. Rev. Phys. Chem., 1982, 33, 223.
- 44. Jolicard, G.; Leforestier, C.; Austin, E. J. Chem. Phys. 1988, 88, 1026.
- Riss, U. V.; Meyer, H.-D. J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys. 1993, 26, 4503.
- Muga, J. G.; Palao, J. P.; Navarro, B.; Egusquiza, I. L. Phys. Rep. 2004, 395, 357.
- 47. Skokov, S.; Bowman, J. M.; Mandelshtam, V. A. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1*, 1279-1282.
- (a) Poirier, B.; Carrington Jr., T. J. Chem. Phys. 2002, 116, 1215-1227. (b) Tremblay, J. C.; Carrington Jr., T. J. Chem.
Phys. 2005, 122, 244107.

- Silva, B. C.; Barletta, P.; Munro J. J.; Tennyson, J. J. Chem. Phys. 2008, 128, 244312.
- 50. Szidarovszky, T. PhD dolgozat, ELTE Kémiai Intézet, Budapest, 2012.
- Rothman, L. S.; Jacquemart, D.; Barbe, A.; Benner, D. C.; Birk, M.; Brown, L. R.; Carleer, M. R.; Chackerian, C.; Chance, K.; Coudert, L. H.; Dana, V.; Devi, V. M.; Flaud, J.-M.; Gamache, R. R.; Goldman, A.; Hartmann, J. M.; Jucks, K. W.; Maki, A. G.; Mandin, J. Y.; Massie, S. T.; Orphal, J.; Perrin, A.; Rinsland, C. P.; Smith, M. A. H.; Tennyson, J.; Tolchenov, R. N.; Toth, R. A.; Vander Auwera, J.; Varanasi, P.; Wagner, G. J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer 2005, 96, 139-204.
- Jacquinet-Husson, N.; Arie, E.; Ballard, J.; Barbe, A.; Bjoraker, G.; Bonnet, B.; Brown, L. R.; Camy-Peyret, C.; Champion, J. P.; Chedin, A.; Chursin, A.; Clerbaux, C.; Duxbury, G.; Flaud J.-M.; Fourrie, N.; Fayt, A.; Graner, G.; Gamache, R.; Goldman, A.; Golovko, V.; Guelachvili, G.; Hartmann, J. M.; Hilico, J. C.; Hillman, J.; Lefevre, G.; Lellouch, E.; Mikhailenko, S. N.; Naumenko, O. V.; Nemtchinov, V.; Newnham, D. A.; Nikitin, A.; Orphal, J.; Perrin, A.; Reuter, D. C.; Rinsland, C. P.; Rosenmann, L.; Rothman, L. S.; Scott, N. A.; Selby, J.; Sinitsa, L. N.; Sirota, J. M.; Smith, A. M.; Smith, K. M.; Tyuterev, V. G.; Tipping, R. H.; Urban, S.; Varanasi, P.; Weber, M. J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer 1999, 62, 205-254.
- Pickett, H. M.; Poynter, R. L.; Cohen, E. A.; Delitsky, M. L.; Pearson, J. C.; Müller, H. S. P. J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer 1998, 60, 883-890.
- Rothman, L. S.; Jacquinet-Husson, N.; Boulet, C.; Perrin, A. M. Compt. Rend. Phys. 2005, 6, 897-907.
- Tennyson, J.; Zobov, N. F.; Williamson, R.; Polyansky, O. L.; Bernath, P. F. J. Phys. Chem. Ref. Data 2001, 30, 735-831.

## Molecular structure and dynamics

Quantum chemistry is the only basic and comprehensive theory of chemistry. The first three ages of quantum chemistry have been defined by developments of electronic structure theory.<sup>1</sup> In the fourth age of quantum chemistry, which we are living in,<sup>2</sup> we are able to incorporate into our quantum chemical treatments not only the motion of the electrons but also the motion of the nuclei in a nearly exact fashion. As a result, we can go not only considerably beyond the computation of equilibrium molecular properties but we are also able to determine accurate, temperature-dependent, effective molecular properties. Thus, fourth-age quantum chemical computations narrow the distinction between the results of measurements and computations. Due partly to efforts from our Laboratory, there are a considerable number of tools developed which help to support, interpret and improve upon selected chemical experiments. Determination of equilibrium structures  $(r_{a})$ of polyatomic molecules cannot be achieved experimentally. Stateof-the-art electronic structure computations, however, do provide consistently accurate  $r_{\rm e}$  structures. The best estimates of equilibrium structures come in form of the so-called semiexperimental equilibrium structures  $(r_{a}^{SE})$  from a combined use of experimental and quantum chemical information.<sup>3</sup> Accurate  $r_{,SE}$  structures have been determined by us for not only small but also medium-sized molecules, e.g., for the lowest-energy conformers of the amino acids glycine,8 alanine,9 and proline.10 Another important area besides structural studies for the application of the best quantum chemical techniques is high-resolution molecular spectroscopy. While line positions still cannot be computed with the usual precision and accuracy of high-resolution measurements, the accuracy of one-photon absorption and emission intensities usually surpasses the accuracy of all but the best experiments available

- (a) Császár, A.G.; Furtenbacher, T. J. Mol. Spectrosc. 2011, 266, 99-103. (b) Furtenbacher, T.; Császár, A.G. J. Mol. Struct. 2012, 1009, 123-129.
- (a) Furtenbacher, T.; Császár, A. G.; Tennyson, J. J. Mol. Spectrosc. 2007, 245, 115-125. (b) Furtenbacher, T.; Császár, A. G. J. Quant. Spectr. Rad. Transfer 2012, 113, 929-935.
- (a) Császár, A. G.; Furtenbacher, T. *Chem. Eur. J.* 2010, *16*, 4826-4835.
  (b) Ruscic, B.; Pinzon, R. E.; Morton, M. L.; Von Laszewski, G.; Bittner, S.; Nijsure, S. G.; Amin, K. A.; Minkoff, M.; Wagner, A. F. *J. Phys. Chem. A* 2004, *108*, 9979.
- (a) Gamow, G. Nature 1929, 123, 606. (b) Liang, Z.-X.; Klinman, J. P. Curr. Opin. Struct. Biol. 2004, 14, 648.
- 60. Bunker, P. R.; Jensen, P. *Molecular Symmetry and Spectroscopy*, NRC Research Press, Ottawa, 1998.
- Schreiner, P. R.; Reisenauer, H. P.; Pickard, F. C.; Simmonett, A. C.; Allen, W. D.; Mátyus, E.; Császár, A. G. *Nature* 2008, 453, 906-908.
- 62. Sarka, J.; Császár, A. G.; Schreiner, P. R. Collect. Czech. Chem. Commun. 2011, 76, 645.
- 63. Czakó, G.; G. Shepler, B. C.; Braams, B. J.; Bowman, J. M. J. *Chem. Phys.* **2009**, *130*, 084301.
- 64. Czakó, G.; Bowman, J. M. J. Am. Chem. Soc. 2009, 131, 17534.
- 65. Czakó, G.; Bowman, J. M. J. Chem. Phys. 2009, 131, 244302.
- Czakó, G.; Shuai, Q.; Liu, K.; Bowman, J. M. J. Chem. Phys. 2010, 133, 131101.
- 67. Czakó, G.; Bowman, J. M. Science 2011, 334, 343.
- 68. Czakó, G.; Bowman, J. M. J. Chem. Phys. 2012, 136, 044307.
- Czakó, G.; Bowman, J. M. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2012, 109, 7997.
- Czakó, G.; Wang, Y.; Bowman, J. M. J. Chem. Phys. 2011, 135, 151102.
- Czakó, G.; Kaledin, A. L.; Bowman, J. M. J. Chem. Phys. 2010, 132, 164103.
- Czakó, G.; Kaledin, A. L.; Bowman, J. M. Chem. Phys. Lett. 2010, 500, 217.

today. Toward the goal of computing accurate molecular spectra, we developed several algorithms and codes, including DOPI,<sup>22,23</sup> DEWE,<sup>24-26</sup> and GENIUSH.<sup>27</sup> These techniques help to solve the time-independent nuclear-motion Schrödinger equation based on different complete kinetic energy operators and (approximate) potential energy surfaces (PES). Several algorithms have been developed to help determination and/or characterization of computed rovibrational eigenstates, including the VS (vibrational subspace),26 NMD (normal-mode decomposition),28 and RRD (rigid-rotor decomposition)<sup>28</sup> protocols. Rovibrational spectra of outstanding quality have been obtained, for example, for H<sub>2</sub>O isotopologues,<sup>11</sup>  $H_3^+$  isotopologues,<sup>21</sup>  $NH_3^{,27}$  and ketene<sup>26</sup> from the use of the listed algorithms and codes. To determine the ultimate set of molecular energy levels leading to transitions of experimental accuracy, we developed the concept of spectroscopic networks<sup>56</sup> and a Hamiltonian-free inversion algorithm called MARVEL (measured active rotational-vibrational energy levels). MARVEL has been used successfully to determine accurate energy levels for water isotopologues<sup>14,15</sup> and ketene.<sup>26</sup> An approach similar to the one employed in MARVEL for spectroscopy can be used in thermochemistry. There we introduced the algorithm NEAT<sup>57a</sup> in order to improve upon the accuracy of enthalpies of formation determined from sophisticated ab initio computations, perhaps by the FPA (focal-point analysis) scheme.<sup>17</sup> We also proposed to move away from element-based thermochemistry to atom-based thermochemistry. Resonance (quasi-bound) states, i.e., states above the dissociation threshold, are still considered to be exotic in physical chemistry though their importance is recognized more and more widely. Based on the algorithms allowing determination of bound states of molecules, we developed two codes to facilitate computation and characterization of Feshbach and shape resonances. The codes utilize the complex absorbing potential and the complex coordinate techniques. Accurate results have been obtained for selected  $H_3^+$  and  $H_2O$  isotopologues for which experimental results are available. Another exotic and often neglected phenomenon in chemistry concerns atom tunneling. On the examples of hydroxycarbenes<sup>61,62</sup> we demonstrated that tunneling can control reactions and can happen even when the transition-state barrier is as large as 100 kJ mol<sup>-1</sup>. With further method developments probably more and more cases will be found where tunneling becomes important for ordinary (organic) chemistry. Quasiclassical trajectory (QCT) simulations of reactions involving polyatomic molecules led to the discovery<sup>67</sup> that chemical interactions considered to be of secondary importance may have a substantial control over the fate of certain bimolecular reactions at low collision energies making necessary the reconsideration of "rules" established for reactions of systems having a smaller number of degrees of freedom.

## A 118. évfolyam szerzői

A Auf at NIf	
Andrasi Nora	55
Bakó Péter	
Bánóczi Zoltán	89
Bazsó Gábor	65, 72
Billes Ferenc	
Bodor Andrea	159
Borsós Tibor	107
Bősze Szilvia	92, 95
Czakó Gábor	181
Csámpai Antal	137
Császár Attila	181
Csörgeiné Kurin Krisztina	
Daniel Borgis	
Demeter Attila	65
Dóbé Sándor	65
Eke Zsuzsanna	151
Fábri Csaba	181
Faludi Tamás	55
Farkas Viktor	159
Fogarasi Géza	379
Furtenbacher Tibor	181
Góbi Sándor	101
Harmat Veronika	150
Holonkár András	139
Helenkai Aligias	145
	143
Horvall Kala	9/
II. J	02 05
Hudecz Ferenc	, 92, 95
Hudecz Ferenc	, 92, 95 159
Hudecz Ferenc	, 92, 95 159 3
Hudecz Ferenc	, 92, 95 159 79
Hudecz Ferenc	92, 95 
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 159 79 17 159 145 145
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 159 
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 159 
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 159 
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 159 159 17 17 17 145 168 168 168 72 120 151 99 95
Hudecz Ferenc	92, 95 92, 95 159 79 17 17 159 145 168 168 72 120 151 99 
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 159 159 17 17 145 168 168 168 168 120 151 99 95 65 145
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 159 79 17 17 159 145 168 72 120 151 99 95 65 145 72
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 159 79 17 159 145 168 168 72 120 151 99 95 65 145 72 120 151 145 120 151 145 120 151 145 145 120 151 145 145 120 151 145 145 120 151 145 145 145 120 145 145 145 120 145 145 145 145 145 145 145 120 151 145 120 120 145 145 120 120 145 145 120 120 120 145 120 120 120 145 120 120 145 120 120 120 145 120 120 120 145 120 120 120 145 120
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 79 79 79 159 145 168 168 72 120 151 99 95 65 145 72 120 151 92
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 
Hudecz Ferenc	92, 92, 95 79 79 79 159 145 145 168 72 120 151 99 95 65 145 72 120 151 99 95 65 145 72 89, 92 115 55 168 129

Németh Zoltán	107
Orbán Erika	89
Orbán Miklós	46
Óvári Mihály	115
Pacsai Bálint	
Pálvölgyi Róbert	129
Pap József Sándor	
Pasinszki Tibor	
Pavláth Attila	32
Perczel András	159
Perlné Molnár Ibolya	55
Peter J. Rossky	
Pongor Gábor	168
Rapi Zsolt	
Rikker Tamás	151
Rohonczy János	168
Salma Imre	107
Sarka János	181
Schlosser Gitta	
Sebők Ágnes	55
Sohár Pál	137
Speier Gábor	
Stráner Pál	159
Surján Péter	
Szabados Ágnes	
Szabó Ildikó	
Szabó István	
Szabó Rita	
Szalai István	
Szalav Péter	
Szalav Roland	168
Szemrád Emil	22
Szidarovszky Tamás	
Szidel Vaszil	22
Szigeti Tamás	115
Szilvágyi Gábor	145
Szolomon András	22
Tarczay György	65 72
Torkos Kornél	151
Turányi Tamás	55 129
Túri László	99
Uivári Mária	120
Urav Katalin	95
Varga Tamás	129
Vass Elemér	145
Vesztergom Soma	120
Zárav Gyula	55 115
Zügner Gábor	65
Zsély István Gyula	129
Zsiorainé Vasanits Anikó	12) 55