

DOKTORI (PH.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A FÉMION KÖRNYEZETÉNEK FINOMHANGOLÁSA
TÖBBFOGÚ TRIPODÁLIS LIGANDUMOK SEGÍTSÉGÉVEL**

MATYUSKA FERENC

Témavezető:

DR. GAJDA TAMÁS

egyetemi tanár



Kémia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem

**Természettudományi és
Informatikai Kar,**

**Szerveetlen és Analitikai Kémiai
Tanszék**

Szeged, 2019

I. BEVEZETÉS

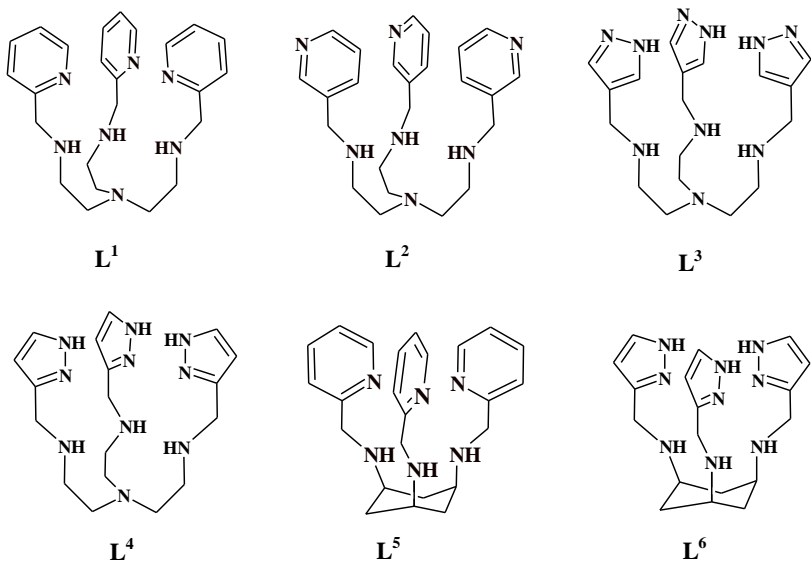
Az enzimek speciális tulajdonságú fehérjék, amelyek elsődleges szerepe az élő szervezetben végbemenő kémiai folyamatok elősegítése. Ezek kb. egyharmada egy vagy több fémiont is tartalmaz, azaz metalloenzim. A fémion(ok) a fehérje szerkezetének kialakításában és/vagy a katalitikus folyamat megvalósításában játszanak szerepet. A modern bioszervetlen kémia egyik fontos kihívása a metalloenzimek működésének megértése, amiben sokat segíthet azok aktív centrumának szerkezeti/funkcionális modellezése kis molekulatömegű ligandumok fémkomplexeinek segítségével. Az ilyen vizsgálatok egyúttal a gyakorlatban is használható katalizátorok kifejlesztését is eredményezhetik. A metalloenzimekben a fémion(ok) környezete, geometriája a fehérje harmadlagos szerkezete által erősen rögzített, amit lineáris polidentát ligandumok segítségével nehéz utánozni. Ebben segíthet a már eleve preorganizált szerkezetű ún. tripodális ligandumok alkalmazása. A tripodális ligandumok olyan szerves molekulák, amelyek egy központi részből és három, a centrumból induló, a fémionhoz koordinálódni képes donorcsoportokat is tartalmazó „lábbal” rendelkeznek. Egyszerű tripodális platformok megfelelő funkcionálizálása révén növelhetjük a ligandum fémion-affinitását, vagy akár több fémion megkötésére alkalmas ligandumokat hozhatunk létre.

II. CÉLKITŰZÉSEK

A PhD-értékezésemben két tripodális platform (tris(aminoetil)amin (tren) és 1,3,5-triaminociklohexán (tach)) szubsztituált származékainak vizsgálatát végeztem el. Célom az volt, hogy feltérképezzem egyrészt a két különböző platform, másrészt a szubsztituensek variálásának (pl. a piridin nitrogén helyzete, vagy a piridin-gyűrűnek pirazol-gyűrűre való cseréje) hatását a ligandumok koordinációs kémiai sajátosságaira, a többmagvú komplexek kialakulásának lehetőségére. Ennek megfelelően előállítottam és vizsgáltam négy tren-alapú (N,N',N''-tris(2-piridilmetil-aminoetil)amin (trenpyr, L1); N,N',N''-tris(3-piridilmetil-aminoetil)amin (tren3pyr, L2) N,N',N''-tris(4-pirazolilmetil-aminoetil)amin (tren4pyz, L3); N,N',N''-tris(5-pirazolilmetil-aminoetil)amin (trenpyz, L4), 1. ábra), valamint két tach-alapú (N,N',N''-tris(2-piridilmetil)-1,3,5-cisz,cisz-triaminociklohexán (tachpyr, L5) és N,N',N''-tris(5-pirazolilmetil)-1,3,5-cisz,cisz-triamino-ciklohexán (tachpyz, L6), 1. ábra) polidentát tripodális ligandumok koordinációs kémiai, valamint fémkomplexeik enzimutánzó sajátosságát.

Vizsgálataim során meghatároztam a ligandumok Mn(II), Fe(II), Co(II), Cu(II) és Zn(II)-ionokkal képzett komplexeinek oldategyensúlyi viszonyait valamint szerkezetét. A ligandumok protonálódási állandóit és a komplexek képződési állandóit pH-ponteciometria és színes komplexek esetén UV-Vis spektrofotometria segítségével határoztuk meg. A képződő komplexek összetételét tömegspektroszkópiás módszerrel igazoltuk. Szerkezetvizsgáló módszerként UV-Vis

spektrofotometria, ESR és NMR-spektroszkópia, valamint ahol sikerült egykristályt kinyerni, röntgen-diffrakció szolgáltat. A komplexek pirokatechin oxidáz utánzó sajátosságát a 3,5-ditercbutil-pirokatechin dioxigén általi oxidációjára gyakorolt hatása alapján vizsgáltam.



1. ábra: A doktori értekezésben szereplő ligandumok szerkezete

III. ALKALMAZOTT VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

A ligandumok szintézise

A vizsgált ligandumokat általánosan a tripodális platform és a megfelelő karboxaldehid reakciójában képződő Schiff-bázis redukciójával állítottuk elő. A további tisztítási lépések extrakciót, hidroklorid-só képzést és ahol szükséges volt, szemipreparatív HPLC alkalmazását tartalmazták.

pH-potenciometria

A pH-potenciometriás vizsgálatokat vizes közegben általában 25 °C-on 0,10 M (NaCl) ionerősség mellett argonatmoszférában végeztük. A ligandum protonálódási állandóinak (pK_a) és a komplex stabilitási szorzatainak ($\lg\beta$) meghatározásához a PSEQUAD programot használtunk.

UV-Vis spektrofotometria

Potenciometriás méréseinket a fémion d-d átmeneteinek, esetleg a fém-ligandum töltésátviteli sávok pH-függő vizsgálatával egészítettük ki. A potenciometriás és spektrofotometriás mérések együttes kiértékeléséből a komplexek stabilitási állandóit számítottuk ki a PSEQUAD programmal, a sávok alakja és helyzete ugyanakkor értékes információkat szolgáltatott a képződő komplexek szerkezetére nézve is.

ESR-spektroszkópia

A réz(II)-tartalmú komplexek szerkezetéről értékes információkat nyerhetünk az ESR-spektroszkópia alkalmazásával. Ezért a dolgozatban szereplő ligandumok réz(II) komplexeinek spektrumát mind szobahőmérsékleten, mind 77 K-en felvettük. Ezek kiértékelését Dr. May Nóra, az MTA TTK kutatója végezte.

¹H NMR spektroszkópia

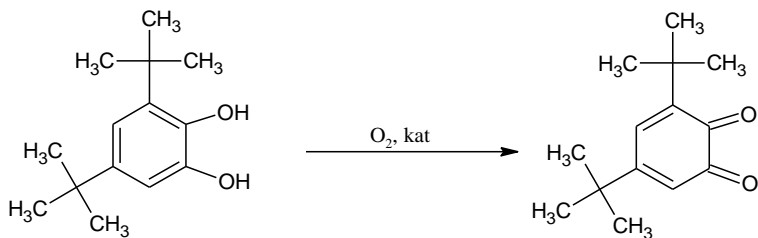
A ligandumok valamint a cink(II) komplexeik speciációjának alátámasztására valamint utóbbiak szerkezetének meghatározására pH-függő ¹H-NMR spektrumokat rögzítettünk. A minták 10% (V/V) D₂O-t tartalmaztak, és WATERGATE vízelnyomási pulzusszekvenciát használtunk.

Röntgendiffrakció

Az egyik leginformatívabb szerkezetvizsgáló módszer az egykristály-röntgendiffrakció, így ahol sikerült a ligandumból vagy valamely fémkomplexből ilyen vizsgálatra alkalmas kristályt növeszteni, ott a szerkezet meghatározására diffraktogramokat vettünk fel. A méréseket és a kapott diffraktogramok kiértékelését Dr. Bényei Attila, Dr. Kovács Éva és Dr. May Nóra végezték.

Pirokatechin-oxidáz aktivitás mérése

A széles körben vizsgált és modellezett pirokatechin-oxidáz enzim az orto-difenolok molekuláris oxigén általi oxidációját katalizálja kinonná. Az enzim oxidált formája két, hidroxido-híddal kapcsolt réz(II)-centrumot tartalmaz. A vizsgált modellreakció a 3,5-ditercbutil-pirokatechin (H_2dtbc) oxidációján alapul, melynek során di-tercbutil-o-kinon keletkezik (2. ábra). A szubsztrát további oxidációja nem játszódik le a nagy térkitöltésű, elektronküldő tercbutil csoportok miatt.



2. ábra 3,5-ditercbutil-pirokatechin dioxidigén általi oxidációja

IV. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Egyértelmű kapcsolatot állapítottunk meg a vizsgált ligandumok protonálódási állandói valamint a tripodális platformok szubsztituenseinek minősége és helyzete között

A vizsgált ligandumok 3-6 deprotonálódási folyamatban vesznek részt a vizsgált pH-tartományban, amelyek közül 3 a tripodális platform szekunder amino nitrogénjeihez, a többi az aromás gyűrűk nitrogénjeihez rendelhető. A tren alegység tercier nitrogénjének protonálódását egyik ligandumnál sem tapasztaltuk a vizsgált pH-tartományban. Általános trendként elmondható, hogy a szubsztituált származékok amino és aromás nitrogénjeinek pK-i is lecsökkennek az építőelemek megfelelő értékeihez képest, valamint, hogy a nitrogén(ek) helyzete az aromás gyűrűben alapvetően meghatározza a csökkenés mértékét. Mindez több, egymást erősítő hatással van kapcsolatban. Egyrészt a tripodális platform, és az aromás gyűrűk nitrogénjeinek elektronszívó hatásával (a piridin gyűrű elektronszívó hatása különböző mértékű, attól függően, hogy az a heteroatomhoz képest 2-es vagy 3-as helyzetben kötődik a tripodális platformhoz). Másrészt a gyűrűk heteroatomjainak helyzete az intramolekulás hidrogénhidak kialakulását illetően is meghatározó jelentőségű.

2. A platform nitrogénjeihez képest nem kelátképző helyzetben levő aromás nitrogént tartalmazó ligandumok oldatfázisban csak egymagvú komplexeket képeznek, szilárd fázisban ugyanakkor 3D polimer szerkezetek képződését is kimutattuk

A tren3pyr és tren4pyz ligandumok vizes oldatban semleges közegben 4N-es, ML összetételű komplexeket alkotnak, ahol a koordinációs mód tren-szerű, trigonális bipiramis geometriájú. Ezek a komplexek magasabb pH-n egy extra deprotonálódás után ML(OH) összetételű vegyes hidroxido-komplexé alakulnak át. A komplexek stabilitása jól követi az Irving-Williams sort. Ezen ligandumok réz(II)-ionok jelenlétében képesek polimer komplexeket alkotni, a tren3pyr ligandum esetén sikerült is egykristályt kinyerni egy ilyen MOF (Metal-Organic Framework) szerkezetű polimert. A polimer szerkezetben a réz(II) ionok három különböző környezetben találhatóak meg: (i) minden ligandum tren-szerű kötőhelyén trigonális bipiramis geometriával kötődött meg egy-egy réz(II)-ion, (ii) négy ligandum egy-egy piridin nitrogénje négyzetes piramis geometriát alakít ki egy további réz(II) körül, aminek révén nagy belső üreggel rendelkező Cu_6L_4 összetételű alegységek jönnek létre, (iii) melyekből hárm-at-hárm-at tertraéderes geometriájú réz(II) ionok kötnek össze, kialakítva ezzel a 3D szerkezetet.

3. A lábanként egy, kelátképző helyzetben levő aromás nitrogént tartalmazó ligandumoknál összefüggést állapítottunk meg a képződő fémkomplexek szerkezete és relatív stabilitása között

A trenpyr és tachpyr ligandumok igen nagy stabilitású monokomplexeket képeznek réz(II), cink(II) és mangán(II)-ionokkal. Bár a két ligandum MHL és ML komplexeinek stabilitási állandói is megfelelnek az Irwing-Williams sornak, az MHL komplexek pK értékei érdekes viselkedést mutatnak. Amíg az MH(tachpyr) komplexek pK-i a várt módon az $M = \text{Cu(II)} < \text{Zn(II)} < \text{Mn(II)}$ sorrendben nőnek, addig a trenpyr MH(trenpyr) komplexek esetén a sorrend pont fordított. Erre a két ligandum eltérő denticitása illetve komplexeik eltérő geometriája ad magyarázatot. A tachpyr protonált MH(tachpyr) komplexeiben a fémion 5N-es koordinációjú, ezek deprotonálódása során a koordinálódó nitrogének száma egyel nő, így a folyamat mindhárom fémion esetén kedvezményezett. Ezzel szemben a trenpyr réz(II) és cink(II) komplexeiben a koordinációs szám a deprotonálódás során változatlan marad ($N = 5$ (Cu) és $N = 6$ (Zn)). Így a deprotonálódó amino nitrogén egy már koordinálódó donorcsoportot szorít ki a koordinációs szférából. Emiatt a deprotonálódási folyamat jóval kevésbé kedvezményezett, a CuH(trenpyr) és ZnH(trenpyr) komplexek pK értékei jóval nagyobbak, mint a megfelelő tachpyr részecskék esetén. A három komplex közül MnH(trenpyr) esetén a legkisebb a mért pK (itt a legkedvezőbb a folyamat). Ez azzal magyarázható, hogy a folyamat során a fémion koordinációs száma hatról hétre változik, ami ezen részecske extra stabilitását eredményezi.

4. Megállapítottuk, hogy a lábanként két, közöttük egy kelátképző pozícióban levő aromás nitrogént tartalmazó ligandumok igen nagy stabilitású egy- és hárommagvú komplexeket képeznek. Meghatároztuk ezek szerkezetét és a termodinamikai stabilitásukat meghatározó tényezőket.

Réz(II)-ionnal mind a tachpyz, mind a trenpyz igen nagy stabilitású monokomplexeket képez 1:1 fém:ligandum arányú oldatokban. Ugyanakkor a réz(II)-tachpyz rendszerben pH 8 felett már ennél az összetételnél is egy hárommagvú, $\text{Cu}_3\text{H}_4\text{L}_2$ összetételű komplex kialakulását tapasztaltuk, ami e komplex kiemelkedően nagy termodinamikai stabilitására utal. M:L = 3:2 aránynál már mindkét ligandum jelenlétében 3-3 hárommagvú komplexet sikerült kimutatni, $\text{Cu}_3\text{H}_x\text{L}_2$ ($x = 2-4$) összetétellel. Ezen hárommagvú komplex szerkezete egymáshoz igen hasonló. A tachpyz $\text{Cu}_3\text{H}_4(\text{tachpyz})_2 \times 2\text{ClO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ összetételű komplexét egykristály formában is kinyertük, XRD vizsgálataink szerint a komplex lineáris elrendezésű hárommagvú centrumokat pirazolát-hidak kötik össze, a Cu-Cu távolságok 3.8 Å körüliek. A két szélső réz(II) a Jahn-Teller torzulás következtében megnyúlt négyzetes piramisos szerkezetű. A középső rézhez négy pirazolát-gyűrű kötődik összenyomott tetraéderes geometriát kialakítva. Ugyanakkor a két ligandum esetén számottevő eltérés ezen komplexek relatív stabilitása, ami ismét a két

ligandum eltérő denticitásával magyarázható. Mivel a tbp geometriájú Cu(trenpyz) komplexben két szabad (nem koordinálódó) pirazol-gyűrűt is jelen van (és képes a harmadik fémionhoz kötődni), az ebből kialakuló kétszer deprotonált hárommagvú komplex kitüntetett stabilitással bír, hiszen már két pirazolát-híd kialakulása esetén is elegendő donorcsoport áll rendelkezésre a középső réz erős (6N) megkötéséhez. Ugyanakkor a trenpyz esetén a további pirazoláthidak létrejöttéhez egy-egy amino nitrogénnek ki kell szorulni a szélső rezek koordinációs szférájából, így a folyamat jóval kevésbé kedvezményezett, mint a tachpyz esetén, ahol ilyenre nincs szükség. Ennek következtében a két ligandum egyébként hasonló összetételű három és négy pirazolát-hidat tartalmazó hárommagvú komplexeinek képződése két-három pH egység különbséget mutat.

5. Összefüggést találtunk a tripodális platform minősége és a képződő hárommagvú komplexek pirokatechin-oxidáz aktivitása között

Kinetikai vizsgálataink azt mutatták, hogy a tachpyz és trenpyz egymagvú CuL komplexei egyáltalán nem, viszont a háromszorosan deprotonált hárommagvú komplexek ($\text{Cu}_3\text{H}_{-3}\text{L}_2$), igen hatékonyan képesek a H_2dtbc oxidációját elősegíteni. A pirokatechin oxidáz aktivitás mindkét rendszerben maximumgörbe szerint változik, viszont az optimális pH jelentősen eltér (a tachpyz-nél $\text{pH} = 5,7$, ami az eddigi legalacsonyabb közölt érték az irodalomban, a trenpyz esetén $\text{pH} = 7,3$). Ezt a különbséget a két ligandum komplexeinek eltérő speciációja okozza, azaz néhány enzimmimetikus paraméter, mint például az aktivitás pH-profilja, a tripodális platform megfelelő megválasztásával finomhangolható. Ugyanakkor az optimális pH-n mindkét rendszer kiemelkedő és, a hasonló szerkezetből következően, közel azonos aktivitással bír.

V. KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA

A dolgozat alapját képező közlemények

ΣIF: 11,127

1. Attila Szorcsik, Ferenc Matyuska, Attila Bényei, Nóra V May, Róbert K Szilágyi, Tamás Gajda: A novel 1,3,5-triaminocyclohexane-based tripodal ligand forms a unique tetra(pyrazolate)-bridged tricopper(II) core: solution equilibrium, structure and catecholase activity

Dalton Transactions, 45, 2016, 14998-15012, IF: 4,029, Hivatkozások: 9

2. Ferenc Matyuska, Attila Szorcsik, Nóra V. May, Ágnes Dancs, Éva Kováts, Attila Bényei and Tamás Gajda: Tailoring the local environment around metal ions: a solution chemical and structural study of some multidentate tripodal ligands

Dalton Transactions, 46, 2017, 8626-8642, IF: 4,029, Hivatkozások: 7

3. Ferenc Matyuska, Nóra V May, Attila Bényei and Tamás Gajda: Control of structure, stability and catecholase-like activity by the denticity of tripodal platforms

New Journal of Chemistry, 41, 2017, 11647-11660, IF: 3,069

Az értekezés anvagához kapcsolódó előadások, poszterek

1. F. Matyuska, Á. Dancs, A. Szorcsik, Nóra V May, T. Gajda: Metal ion binding of some multidentate tripodal ligands, ICCBIC24, 2013

2. Ferenc Matyuska, Tamás Gajda, Nóra V May: Metal ion complexes of a TREN-based tripodal ligand , ICBIC16, 2013, poster

Attila Szorcsik, Ferenc Matyuska, Ágnes Dancs, Tamás Gajda: Metal ion binding of TACH-based multidentate tripodal ligands, EuroBIC12, 2014, poster

3. Tamás Gajda, Ágnes Dancs, Ferenc Matyuska, Attila Szorcsik, Péter Boros, Vanessza Dokonpil, Adrián Traj: Metal ion complexes of some tren- and tach-based tripodal ligands, Internationan Symposium on Metal Complexes, 2015

4. Tamás Gajda, Ágnes Dancs, Attila Szorcsik, Ferenc Matyuska, Nóra V May, Attila Bényei: Tuning the metal binding properties by derivatization of tripodal platforms, EuroBIC13, 2016

5. Ferenc Matyuska, Nóra V May, Attila Szorcsik, Róbert K Szilágyi, Tamás Gajda: Transition metal complexes of pyridine-substituted TREN-based tripodal ligands, EuroBIC13, 2016, poster

6. Attila Szorcsik, Ferenc Matyuska, Nóra V May, Tamás Gajda, Transition metal complexes of TACH-based polydentate tripodal ligands, EuroBIC13, 2016, poster
7. Ferenc Matyuska, Attila Szorcsik, Nóra V May, Ágnes Dancs, Éva Kováts, Attila Bényei, Tamás Gajda: Transition metal complexes of mono- and trisubstituted tren-derivatives, ICCBIC26, 2017
8. Ferenc Matyuska, Attila Szorcsik, Nóra V May, Éva Kováts, Attila Bényei, Tamás Gajda: Tailoring the local environment around metal ions by multidentate tripodal ligands, ISMEC 2017
9. Matyuska Ferenc, May Nóra Veronika, Gajda Tamás: Egy tren-alapú tripodális ligandum átmenetifémkomplexeinek vizsgálata, KKK, 2013
10. Szorcsik Attila, Matyuska Ferenc, Nagy Nóra Veronika, Gajda Tamás: Triamino-ciklohexán alapú tripodális ligandumok előállítása és komplexeinek vizsgálata, KKK, 2013
11. Matyuska Ferenc, Dokonpil Vanessza, Gajda Tamás: TREN-alapú tripodális ligandumok komplexképző sajátságainak összehasonlítása, KKK, 2014
12. Szorcsik Attila, Matyuska Ferenc, Dancs Ágnes, Gajda Tamás: TACH alapú tripodális polidentát ligandumok réz(II) és cin(II) komplexei, KKK, 2014
13. Matyuska Ferenc, Traj Adrián, May Nóra Veronika, Gajda Tamás (SzTE): Pirazol-szubsztituált TREN-származékok átmenetifém komplexei, KKK, 2015
14. Matyuska Ferenc, May Nóra V., Szorcsik Attila, Szilágyi Róbert K., Gajda Tamás: Piridin-szubsztituensek számának és a nitrogén helyzetének hatása tripodális ligandumok komplexképzésére, KKK, 2016
15. Matyuska Ferenc, May Nóra Veronika, Selmeczi Katalin, Gajda Tamás (SzTE): Új eredmények a trenpyz-réz(II) kölcsönhatásban, KKK, 2017

Az értekezés anyagához kapcsolódó, de annak tartalmát nem képző közlemények:

1. Ágnes Dancs ; Nóra V May ; Katalin Selmeczi ; Zsuzsanna Darula ; Attila Szorcsik ; Ferenc Matyuska ; Tibor Páli ; Tamás Gajda: Tuning the coordination properties of multi-histidine peptides by using a tripodal scaffold: solution chemical study and catechol oxidase mimicking
New Journal of Chemistry, 41, 2017, 808-823.
2. Gajda Tamás ; Szorcsik Attila ; Dancs Ágnes ; Matyuska Ferenc
Polidentát tripodális ligandumok biomimetikus fémkomplexei
Magyar Kémiai Folyóirat – Kémiai Közlemények, 123, 2017, 94-100