

Triamino-ciklohexán alapú tripodális ligandumok előállítása és komplexeik vizsgálata



Szorcsik Attila, Matyuska Ferenc, Gajda Tamás, Nagy Nóra Veronika

Szegedi Tudományegyetem, MTA-SZTE Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport
Szegedi Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai kémiai Tanszék
MTA-TTK, Molekuláris Farmakológiai Intézet

47. Komplexkémiai Kollokvium
2013. Május 29-31., Mátraháza

Célkitűzés:

- a natív enzimekhez hasonló fémion affinitással, katalitikus aktivitással, szelektivitással és működési mechanizmussal rendelkező kis molekulatömegű fémkomplexek kifejlesztése.
- lehetővé teszi szerkezetileg viszonylag merev (preorganizált, a metalloenzimek aktív centrumára jellemző) fémkötőhelyek kialakítását

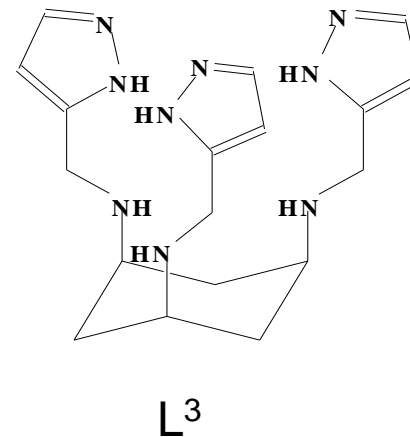
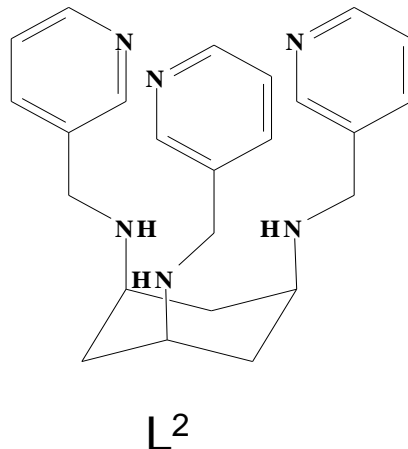
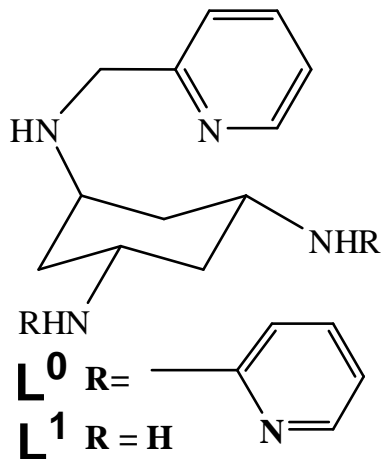
Megvalósítás:

- korábbi biomimetikus vizsgálatainkra alapozva tripodális ligandumok előállítása és Cu(II), Zn(II), Mn(II), Fe(II) és Co(II), komplexeinek vizsgálata.

Tripodális ligandumok

- nagy affinitású fémkötőhely alakulhat ki már egyszerű piridin, imidazol, pirazol és/vagy karboxilát csoportok révén is.

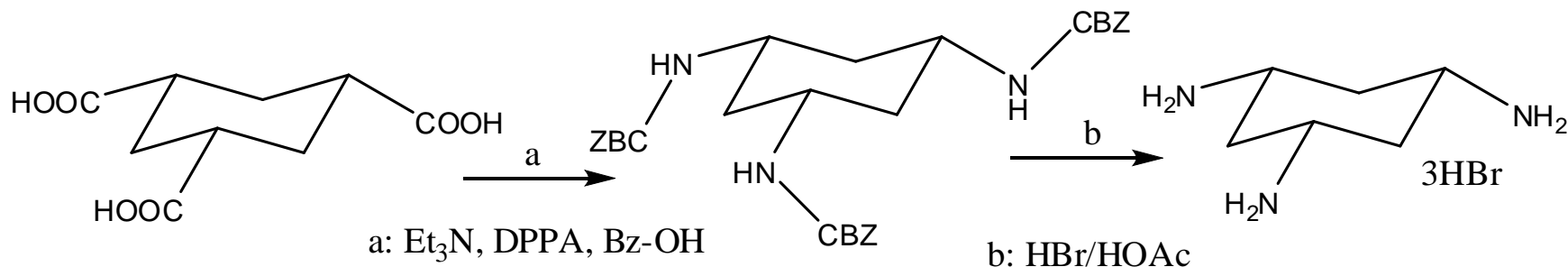
Az előállított új tach (cisz.cisz-1,3,5-triamino-ciklohexán) alapú ligandumok



- L^0 (2pirtach): 6 N koordinációja révén nagy stabilitású ML komplex
- L^1 (2pirtachMD): az egykarú származéka által szubsztrát megkötődése
- L^2 (3pirtach): a tach 3N koordinációja mellett a 3 piridil N szabad koordinációs helyet biztosíthat további fémmion megkötéséhez, ugyanakkor a 3piridilmetil karok megakadályozzák a lúgos tartományban a Cu-tach komplex hidroxohidas dimerizációját, a piridin gyűrűk alkotta zseb pedig hidrofób/H-hidas kölcsönhatások révén elősegítheti a szubsztrát megkötését
- L^3 (1paztach): 6N-es kötőhelye teljesen körbeöleli a fémmiont, viszont a pirazolát nitrogének részvételével egy allosztérikus fémkötőhely is kialakulhat

A ligandumok előállítása (1)

- **N,N',N''-trisz(benzil)karbamát előállítása cisz,cisz-1,3,5-ciklohexán-trikarbonsavból kiindulva, Curtius-lebontást alkalmazva (a)**
- **A benzil-karbamát csoport lehasítása 33%-os HBr/HOAc oldatot alkalmazva (b)**



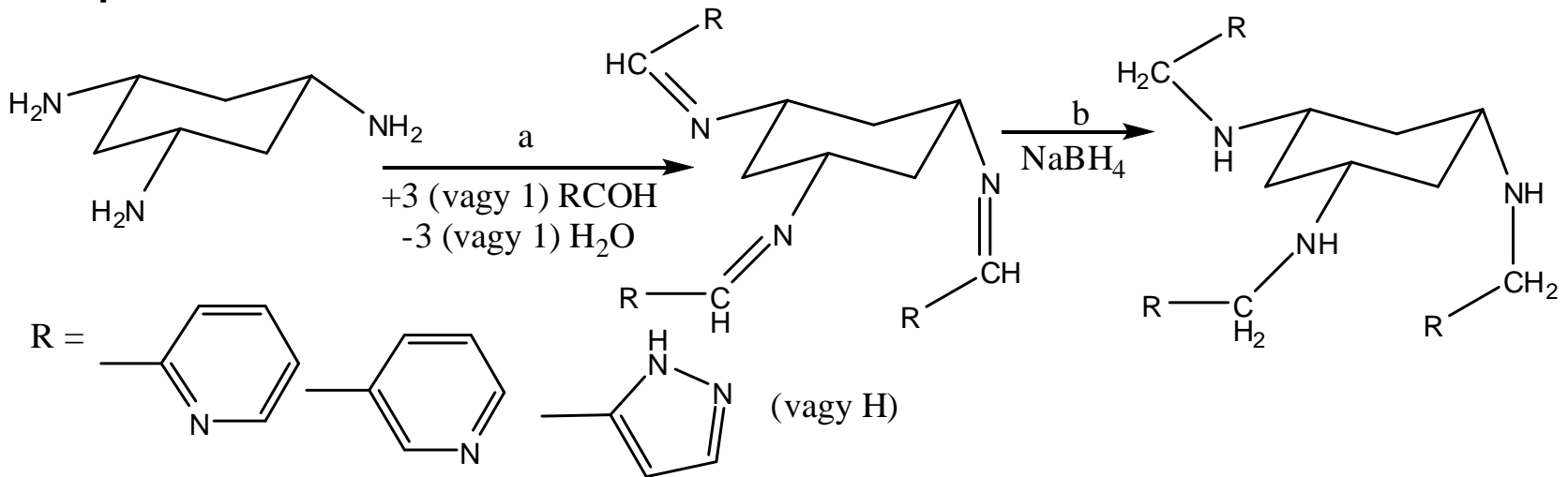
- a:
- **cisz,cisz-1,3,5-ciklohexán-trikarbonsav (m = 63 g; n = 291 mM)**
 - **N,N',N''-trisz(benzil)karbamát (m = 89,5 g; n = 169 mM)**
 - **Kitermelés: 58%**

- b:
- **N,N',N''-trisz(benzil)karbamát (m = 89,5 g; n = 169 mM)**
 - **cisz,cisz-1,3,5-triamino-ciklohexán (m = 59 g; n = 159 mM)**
 - **Kitermelés: 94%**

Az előállított vegyületek tisztaságát ¹H NMR spektroszkópiával ellenőriztük

A ligandumok előállítása (2)

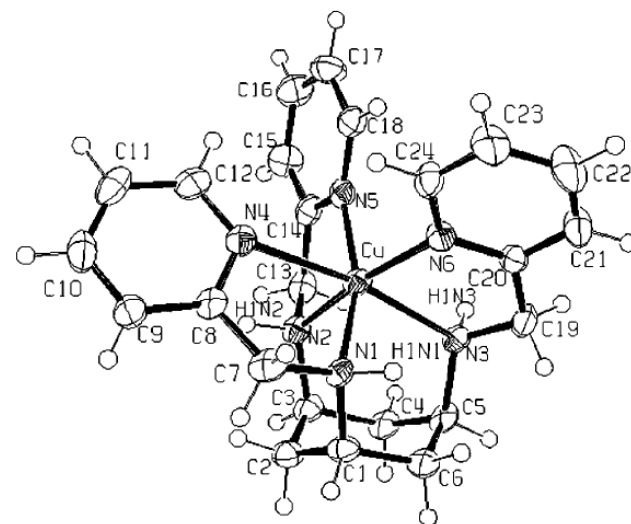
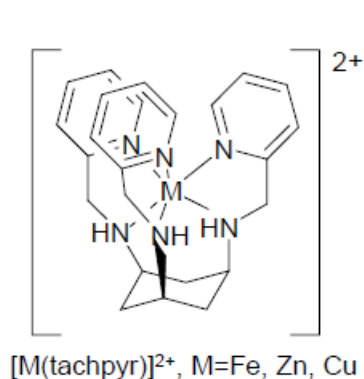
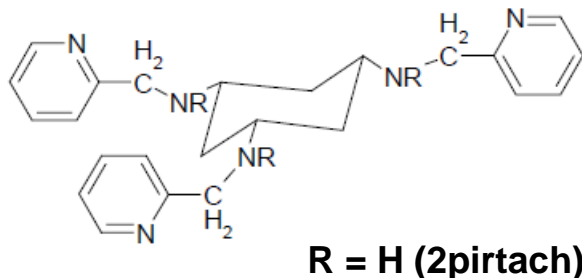
- A ligandumok iminjeinek előállítása Schiff-bázis szintézissel a cisz.cisz-1,3,5-triamino-ciklohexánból és a megfelelő piridin- vagy pirazol-karboxaldehidből kiindulva 1:3 (és 1:1) molarányt alkalmazva (a)
- Az imin csoport redukálása NaBH₄-et alkalmazva (b)
- Az 1:1 molarány szerinti egylábú ligandum előállítása még nem sikerült optimalizálni



- Végezetül a ligandumok hidrokloridjait kaptuk száraz HCl gázzal történő kezelés után
- A termékek tisztaságát ¹H NMR spektroszkópiával ellenőriztük
- oldategyensúlyi vizsgálatok (ligandum, ill. Cu²⁺ és Zn²⁺ komplexek)
- szerkezetvizsgálati mérések (UV-VIS, ESR és NMR spektroszkópia)

A N,N',N''-trisz(2-piridilmetil)-cisz,cisz-1,3,5-triaminociklohexán (2pirtach), mint tripodális ligandum

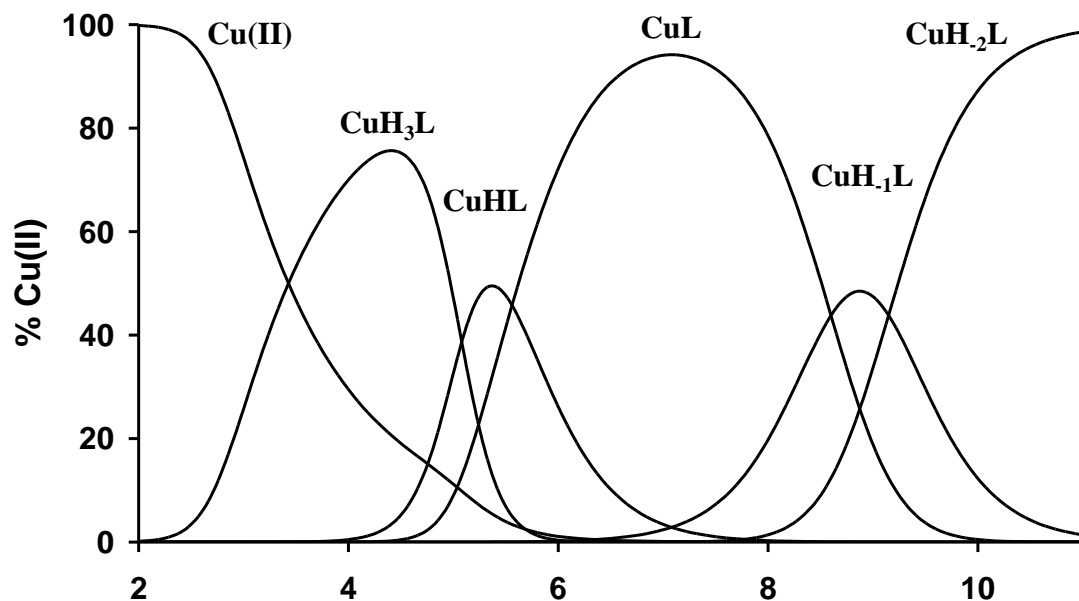
- Rendkívül nagy fémion affinitású hatfogú kelátképző
- Klinikai vizsgálatok alapján vaskomplexe jelentős rákellenes hatással rendelkezik, programozott sejthalált indukál többféle ráktípusnál
- Nagy stabilitású kelát komplexeket képez a két vegyértékű fémionokkal (M = Fe, Zn, Cu, Ni, Ca, Mg, Mn) vizes és nem-vizes körülmények között
- Számos komplexének ismert az egykristály röntgenszerkezete



- 6N-es fémkötőhelye teljesen körbeöleli a fémiont
- A kialakult kompakt szerkezetű ML komplexekben nincs mód a szubsztrát koordinációjára
- Ugyan előállítottuk a 2pirtacht is, de fentiek miatt nem alkalmas a célul kitűzött biomimetikus tulajdonságok tanulmányozására, így további vizsgálatokat nem végeztünk

A 3pirtach ligandum és Cu 1:1 komplexének vizsgálata

- oldhatósági problémák miatt a ligandum és a kialakuló komplexek protonálódási folyamatainak követése 60% DMF/víz elegyben történt - kényszermegoldás



Cu:L = 1:1 (60% DMF) pH

6 deprotonálódási lépés:

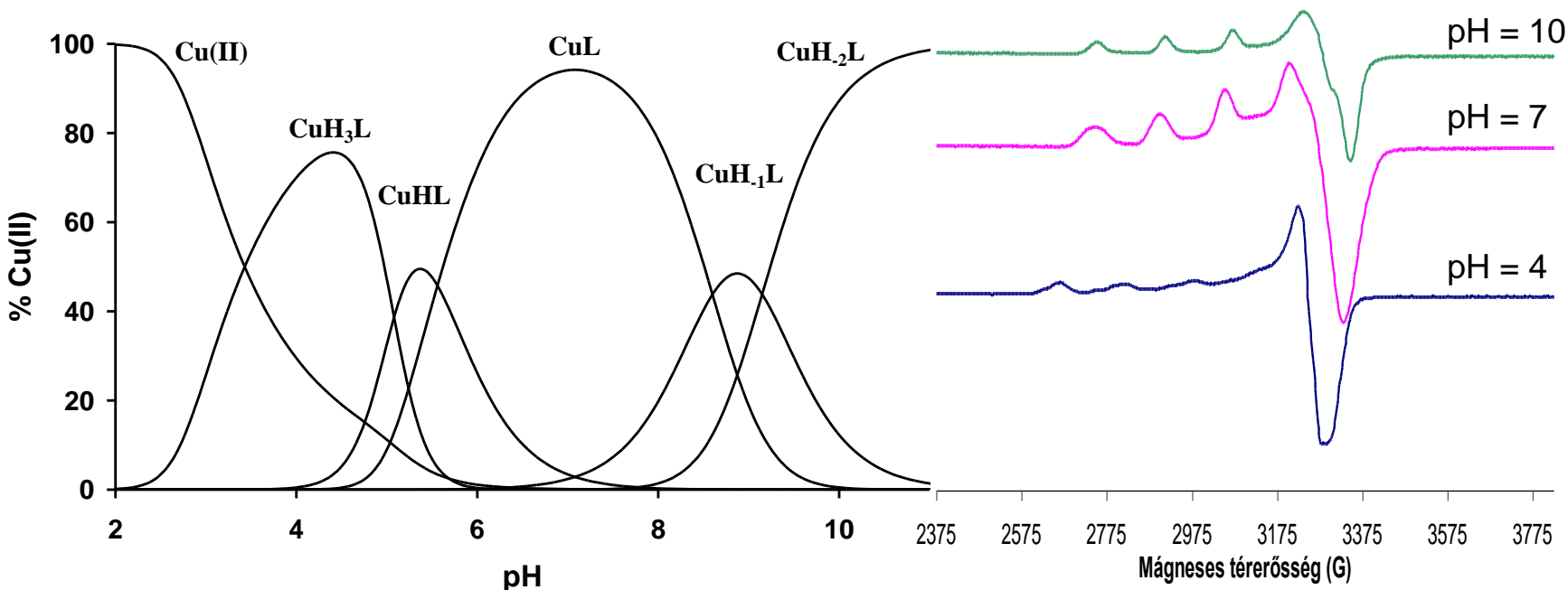
- 3 piridil N ($pK = 2,63, 3,15, 4,86$)
- 3 szekunder NH ($pK = 5,98, 6,93, 8,72$)

pqr	3pirtach (60 % DMF)	tach	1paztach
061	32.27(10)		
051	29.12(10)		
041	26.49(10)		
031	21.63(10)	25.93	21.50(1)
021	15.65(10)	18.88	16.00(1)
011	8.72(10)	10.21	8.84(1)
131	26.47(10)		
111	16.31(10)	15.95	18.80(5)
101	10.75(10)	10.86	16.10(3)
1-11	2.15(15)	2.36	
1-21	-7.00(15)		
3-22			27.97(10)
3-32			23.11(7)
3-42			17.25(8)

- pH 7 körül kialakul a domináns ML komplex
- közel azonos komplex képződési állandók, mint a tach-nál
- a piridin nitrogének nem vesznek részt a koordinációban (sztérikus gátlás)
- pH 8 felett a koordinált vízmolekulák deprotonálódásával az $MH_{-1}L$, majd $MH_{-2}L$

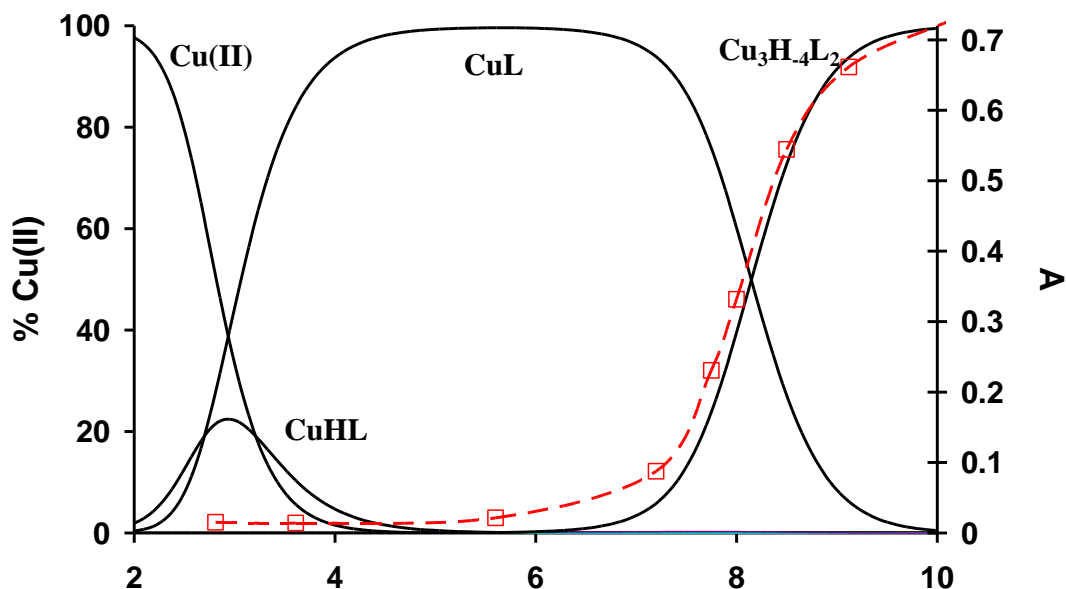
A 3pirtach ligandum és Cu 1:1 komplexének vizsgálata

Szerkezetvizsgálathoz ESR spektrumok pH = 4 – 10 tartományban, 60% DMF/víz elegyben



- csatolási állandók csökkennek
- pH 7 – 10 között a koordinált vízmolekulák deprotonálódása a jellemző folyamat
- a komplex szerkezete nem változik
- M₂L és ML₂ komplexek kialakulását nem tapasztaltuk
- a komplex alkalmas lehet hidrolitikus enzimutánzó vizsgálatokhoz
- a további vizsgálatokat más oldószerben kell megoldanunk

Az 1paztach ligandum és Cu komplexeinek vizsgálata

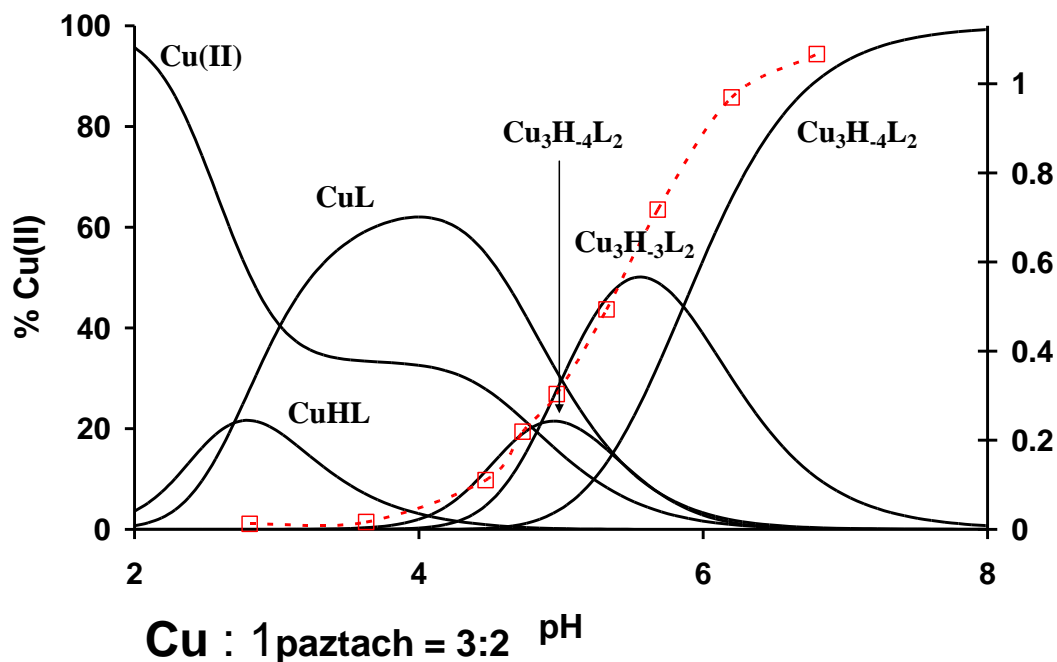


Cu : 1paztach = 1:1 pH

- pH potenciometriával csak a 3 szekunder amin pK_a-ja határozható meg – pirazol N-ek nagyon savasak
- pH 4 – 8 között domináns a nagy stabilitású ML komplex
- ML komplexekre jóval nagyobb stabilitási állandók, mint a tach-nál
- a nagy stabilitás 5 vagy 6 N koordinációjára utal
- pH 8 fölött egy jellegzetes vörös szín jelenik meg, ami nem értelmezhető az 1:1 molarányú komplexel – dimer részecske kialakulására utal
- a lúgos tartományban extra deprotonálódásokkal az M₃H₄L₂ komplex képződik
- M:L = 2:1 – már semleges pH-n csapadékos lett a rendszer

pqr	3pirtach (60 % DMF)	tach	1paztach
061	32.27(10)		
051	29.12(10)		
041	26.49(10)		
031	21.63(10)	25.93	21.50(1)
021	15.65(10)	18.88	16.00(1)
011	8.72(10)	10.21	8.84(1)
131	26.47(10)		
111	16.31(10)	15.95	18.80(5)
101	10.75(10)	10.86	16.10(3)
1-11	2.15(15)	2.36	
1-21	-7.00(15)		
3-22			27.97(10)
3-32			23.11(7)
3-42			17.25(8)

Az 1paztach ligandum és Cu komplexeinek vizsgálata

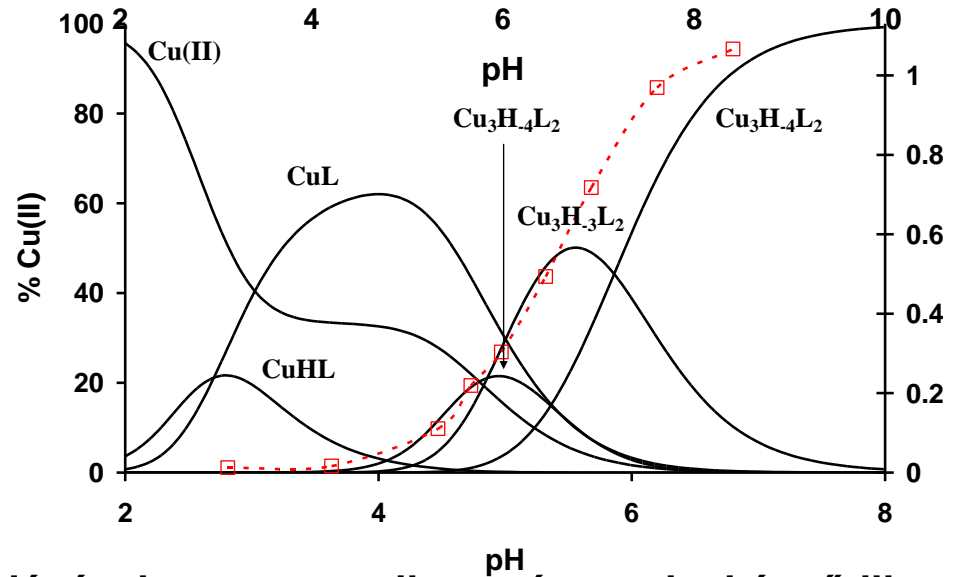
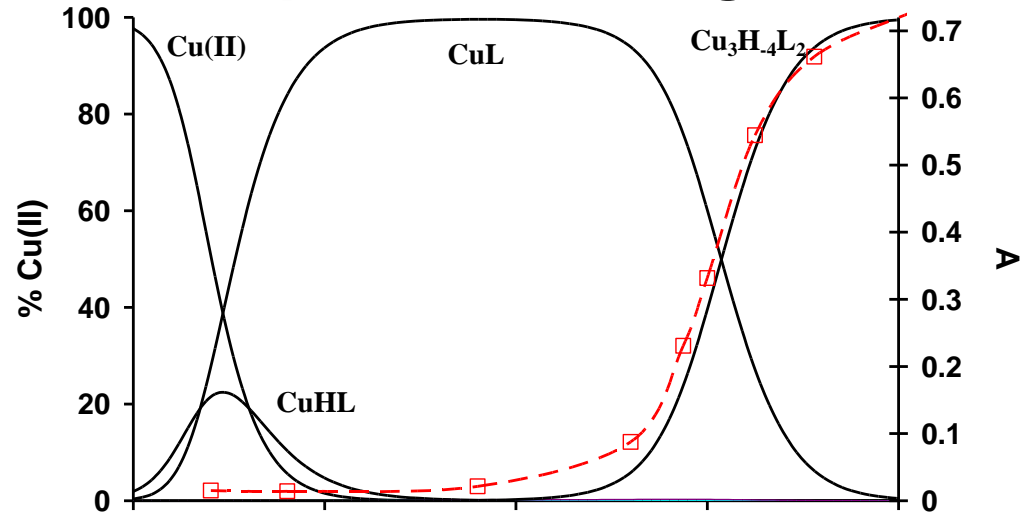
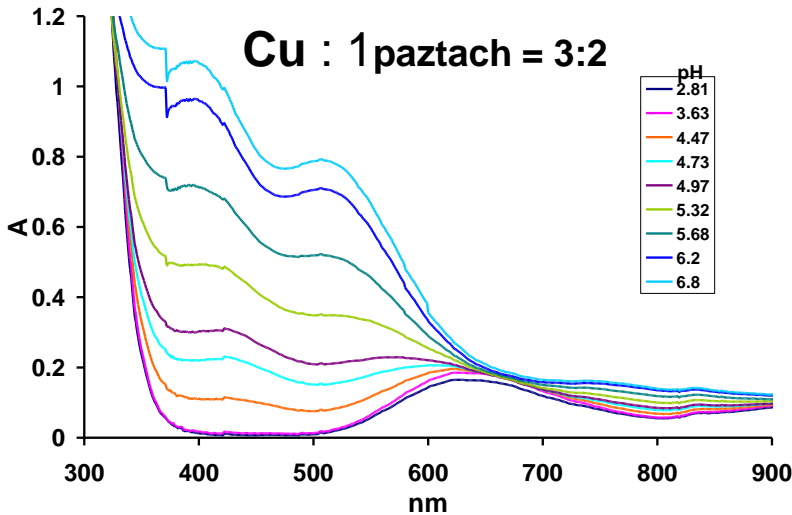
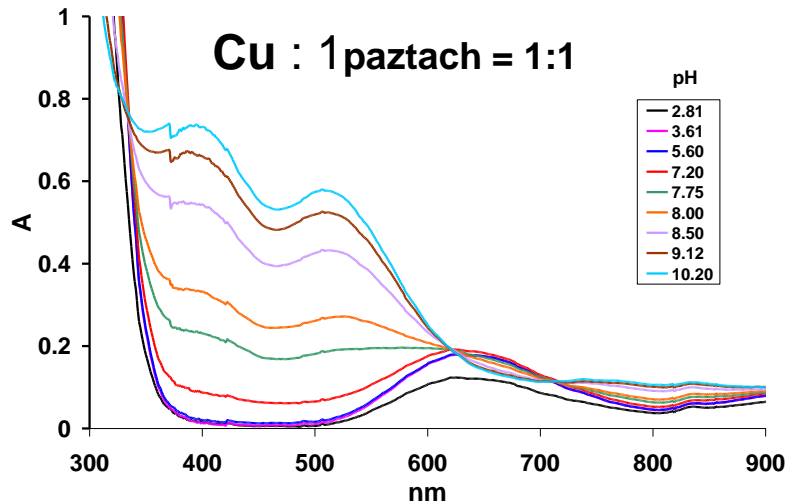


pqr	pir3tach (60 % DMF)	tach	paz1tach
061	32.27(10)		
051	29.12(10)		
041	26.49(10)		
031	21.63(10)	25.93	21.50(1)
021	15.65(10)	18.88	16.00(1)
011	8.72(10)	10.21	8.84(1)
131	26.47(10)		
111	16.31(10)	15.95	18.80(5)
101	10.75(10)	10.86	16.10(3)
1-11	2.15(15)	2.36	
1-21	-7.00(15)		
3-22			27.97(10)
3-32			23.11(7)
3-42			17.25(8)

• **M : L = 3 : 2-nél már alacsonyabb pH tartományban megjelennek a kisebb deprotonáltságú dimer részecskék, amelyek M : L = 1 : 1 kiindulási aránynál CuL komplex nagy stabilitása miatt nem jelentkeznek**

- **Már enyhén savas tartományban megjelenik a jellegzetes vörös szín, azaz 2-3 pH egységgel előbb elkezd kialakulni az M : L = 3 : 2 összetételű dimer részecske**
- **A piros szaggatott görbe a 400 nm-nél mért intenzitás, ami a 3 magvú dimer részecske kialakulására utal**

Az 1paztach ligandum és Cu komplexeinek vizsgálata



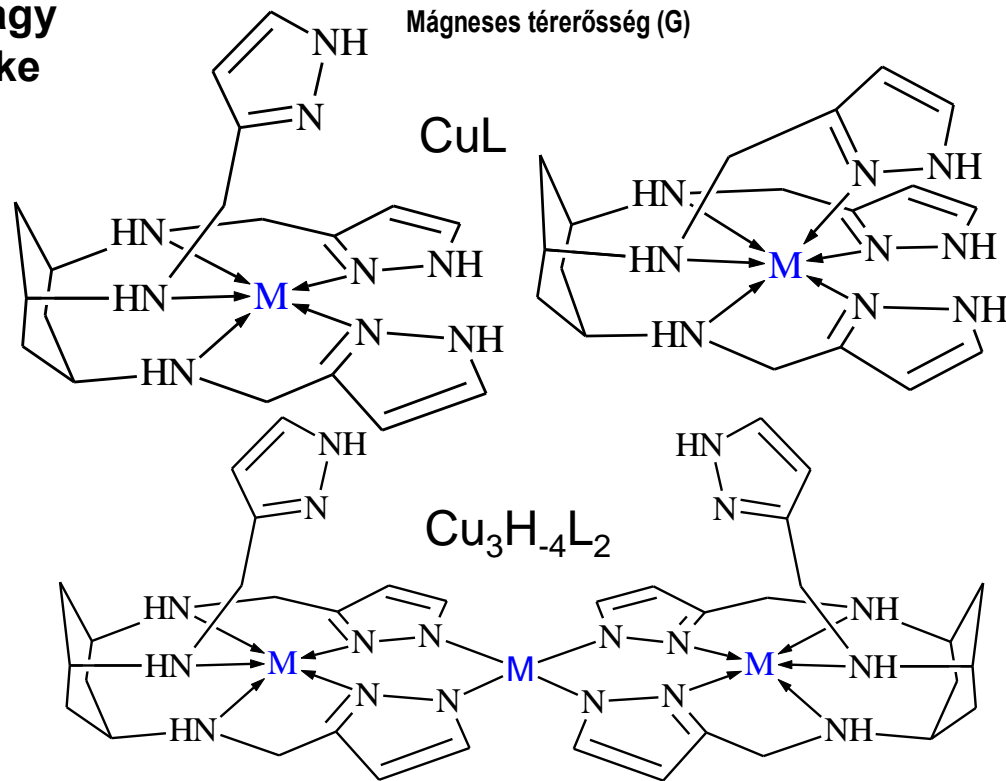
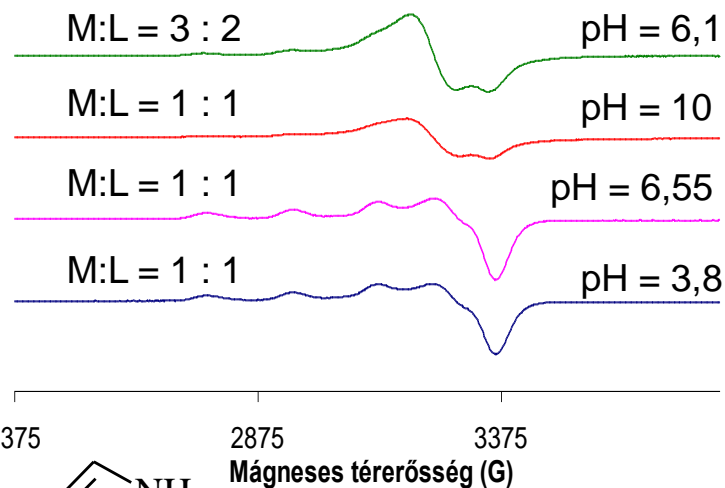
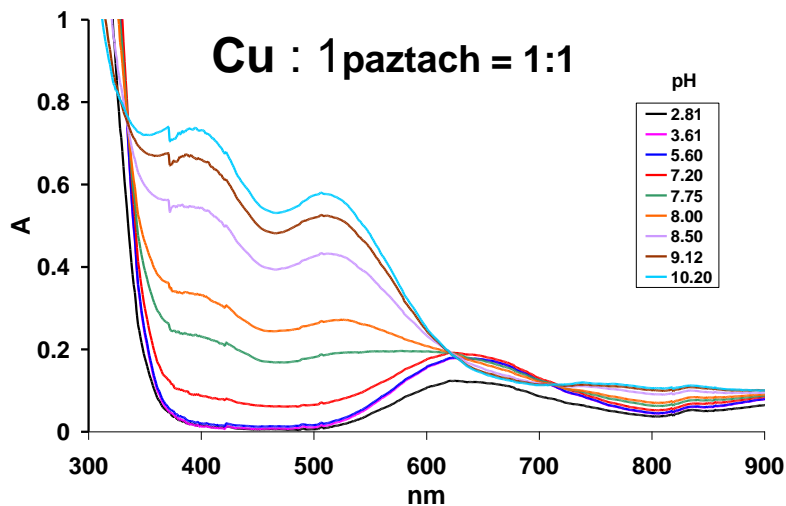
- az 1:1 és 3:2 mólaránynál a pH emelkedésével ugyanaz a dimer részecske képződik
- A dimerizálódás **pirazolát** hidakon keresztül valósul meg – rendkívül erős töltésátviteli sáv látható mindkét kiindulási mólaránynál
- a 800 nm-nél növekvő elnyelés négyzetes piramisos szerkezetre utal a 2 szélső réznél

Az 1paztach ligandum és Cu komplexeinek vizsgálata

ESR vizsgálatok

az 1:1 molaránynál 10-es, míg a 3 : 2-nél már 6-os pH körül megjelenik a réz centrumok kölcsönhatása révén kialakuló 3 magvú dimer részecske

A VIS spektrumokban a CuL részecskének kb. 630 nm-nél van a maximuma, ami alapján négyzetes piramisos (5N) vagy oktaéderez (6N) szerkezetű részecske kialakulását feltételeztük axiális koordinációval



Konklúziók

- célkitűzéseinkre vonatkozóan mindkét tanulmányozott rendszer ígéretesnek tűnik
- az 1paztach hárommagvú dimer rézkomplexe redoxifolyamatok katalizálására tűnhet alkalmasnak
- a 3pirtach-nál a lúgos tartományban kialakuló $ML(OH)$ és $ML(OH)_2$ komplexek a hidrolitikus folyamatoknál tűnhetnek ígéretesnek
- sikerültek a terveink, az 1paztach képes egy további fém megkötésére, még ha nem is 2:1, hanem 3:2 M : L molarány szerint

Köszönetnyilvánítás

Munkatársaimnak: Gajda Tamás, Matyuska Ferenc
Nagy Nóra Veronika (ESR)

A munkát az OTKA támogatta (K101541)

Köszönöm a figyelmet!