

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/32207> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Ording-Wenker, Erica

Title: Biomimetic redox reactions of the Cu(II) μ -thiolate complex

Issue Date: 2015-03-11

Samenvatting voor Niet-Chemici

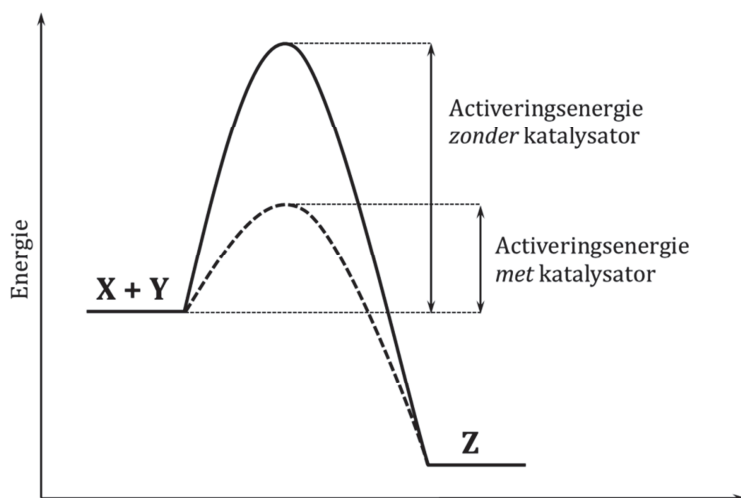
Inleiding

Het werk aan *biomimetica* dat is beschreven in dit proefschrift betreft fundamenteel onderzoek. Dit betekent dat het onderzoek gericht is op het verwerven van kennis, zonder stil te staan bij mogelijke toepassingen van deze kennis. Uiteraard zou er een toepassing kunnen zijn, die we nog niet kennen. Het doel is echter om dingen beter te begrijpen en op zoek te gaan naar nieuwe verschijnselen. De speurtocht naar nieuwe planeten en sterrenstelsels bijvoorbeeld is ook fundamenteel onderzoek. Het is interessant en kan ons beter laten begrijpen hoe ons sterrenstelsel is ontstaan, maar of wij deze kennis toe kunnen passen zal de toekomst moeten uitwijzen. In deze samenvatting wordt een beknopte uitleg gegeven over wat biomimetica precies is en waar het onderzoek over gaat dat ik in de afgelopen vier jaar heb gedaan.

Enzymen

In elk levend wezen, dus zowel in het menselijk lichaam als in een bacterie, zijn enzymen aanwezig. Een enzym, ook wel een eiwit genoemd, is een katalysator. Dit wil zeggen dat het enzym allerlei biologische reacties versnelt zonder zelf verbruikt te worden. Een voorbeeld van zo'n reactie is de omzetting van suiker (wat je eet) en zuurstof (wat je inademt) naar energie (om te bewegen) en koolstofdioxide (wat je uitademt). Deze reactie wordt in stappen door een hele reeks enzymen gekatalyseerd. Wat houdt dit nu precies in? Een enzym verlaagt de hoeveelheid energie die nodig is om een reactie te laten plaatsvinden. Voordat de reactie $X + Y \rightarrow Z$ kan gebeuren, moet deze eerst op gang gebracht worden: er moet energie (warmte) in gestoken worden, de activeringsenergie, voordat product Z wordt gevormd en er weer energie vrijkomt. Dit is schematisch weergegeven in Figuur A. Wanneer er een lagere activeringsenergie is, kan de reactie sneller plaatsvinden en/of bij een lagere temperatuur. Zo verbrandt het lichaam suiker bij 36 °C in plaats van de veel hogere temperatuur van ongeveer 200 °C die nodig is om suiker buiten je lichaam te verbranden.

Hoe ziet zo'n enzym er nou uit? Een enzym is een heel groot molecuul opgebouwd uit koolstof (C), waterstof (H), stikstof (N), zuurstof (O) en zwavel (S). In dit enzymmolecuul zitten metalen gebonden, meestal aan de stikstof en zuurstofatomen. Deze metalen zitten in het 'actieve centrum' van het enzym, wat wil zeggen dat deze metalen het echte werk doen en dus de reacties uitvoeren. Metalen die veel voorkomen in enzymen zijn bijvoorbeeld koper (Cu), ijzer (Fe) en zink (Zn).



Figuur A: Schematische weergave van de activeringsenergie in de reactie $X + Y \rightarrow Z$ met en zonder de aanwezigheid van een katalysator.

Elk 'actief centrum' is precies zo ontworpen dat het één soort reactie kan katalyseren. Welke reactie dit is wordt bepaald door het enzymmolecuul dat aan het metaal gebonden is. De soort bindingen van het metaal met het enzymmolecuul bepalen welke reactie het metaal kan uitvoeren. Verder bepaalt het enzymmolecuul ook welke stoffen geactiveerd kunnen worden in het actieve centrum (in ons voorbeeld X en Y); de juiste stoffen passen in het enzymmolecuul als een sleutel in een slot.

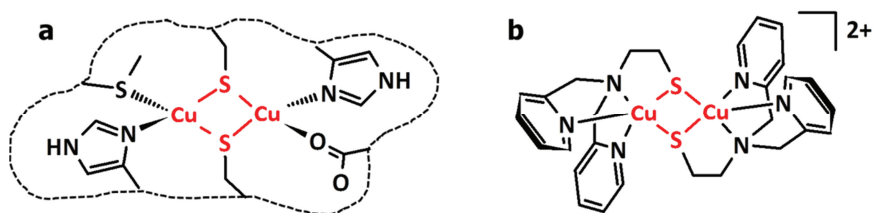
Biomimetica

Enzymen kunnen reacties heel snel en efficiënt uitvoeren. Deze reacties zouden we graag even snel kunnen uitvoeren buiten een biologisch systeem, bijvoorbeeld in industriële toepassingen. Zo zou het energieprobleem opgelost kunnen worden wanneer we fotosynthese kunnen nabootsen, een proces waarin planten met behulp van energie uit zonlicht, koolstofdioxide en water omzetten naar zuurstof en brandstof (koolhydraten). Dit proces wordt gekatalyseerd door samenwerking van een groot aantal enzymen in de plant, en blijkt zeer ingewikkeld te zijn om na te doen in het laboratorium. Doordat enzymen zo groot en complex zijn, is het moeilijk om ze na te maken en te analyseren. Daarom wordt er onderzoek gedaan waarin niet het hele enzym wordt nagebouwd, maar slechts het actieve centrum: dit wordt biomimetica genoemd. Biomimetica betekent letterlijk 'nabootsen van biosystemen'. Het actieve centrum wordt nagebouwd met dezelfde metalen als in het enzym, maar

deze metalen worden gebonden aan veel kleinere moleculen. Deze moleculen worden liganden genoemd. Het geheel van het metaal met de ligand(en) wordt een metaalcomplex genoemd. Verschillende liganden zullen leiden tot verschillende eigenschappen van het metaalcomplex en op deze manier kunnen verschillende reacties gekatalyseerd worden. Over het algemeen is de snelheid van de nagebootste reacties nog altijd honderden malen langzamer dan in het enzym, maar een bijkomstig voordeel van het nabouwen van het actieve centrum is ook dat we het beter kunnen bestuderen. Doordat het metaalcomplex veel kleiner is dan het enzym kunnen we de effecten van kleine veranderingen beter waarnemen en onderzoek doen naar hoe de reactie werkt. Zo leren we meer over hoe de reacties gekatalyseerd worden en hoe we dit met een kleiner metaalcomplex beter na kunnen doen.

Het Cu_A-Centrum

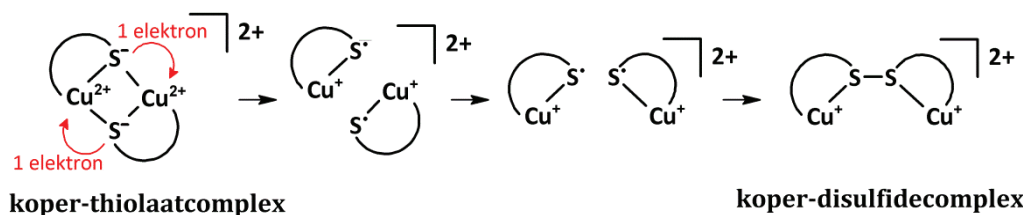
In de afgelopen vier jaar heb ik biomimetische modellen gemaakt voor het Cu_A-centrum. Het Cu_A-centrum is een koperbevattend actief centrum en zit bijvoorbeeld in het enzym cytochroom *c* oxidase dat betrokken is bij de omzetting van zuurstof naar water, maar is ook te vinden in het enzym N₂O reductase dat N₂O omzet naar stikstof en water. Dit zijn beiden grote enzymen waarin verschillende actieve centra samenwerken. Het Cu_A-centrum functioneert als een elektronen-doorgeefluik, wat betekent dat het razendsnel (als een stroomdraad) elektronen van het ene actieve centrum naar het andere actieve centrum verplaatst. In het Cu_A-centrum zijn twee koperionen (Cu⁺) aanwezig gebonden aan twee thiolaatgroepen (S⁻) van het enzymmolecuul. De elektronen kunnen zich in dit actieve centrum zowel op de thiolaatgroepen als op de koperionen bevinden. Om het Cu_A-centrum na te bouwen is een ligand ontwikkeld dat samen met koper een koper-thiolaatcomplex vormt. Een schematische tekening van het Cu_A-centrum en het koper-thiolaatcomplex is te zien in Figuur B. Het biomimetische koper-thiolaatcomplex heeft net als het Cu_A-centrum twee koperionen, die gebrugd worden door twee thiolaatgroepen.



Figuur B: Schematische weergave van a) het Cu_A-centrum in cytochroom *c* oxidase en b) een biomimetisch koper-thiolaatcomplex.

Redoxreacties

Een reactie waarin alleen een elektron verplaatst van het ene atoom naar het andere, wordt een redoxreactie genoemd: het ene atoom raakt een elektron kwijt (wordt geoxideerd) en het andere atoom krijgt er een elektron bij (wordt gereduceerd). Het Cu_2A -centrum ondergaat een redoxreactie wanneer het elektronen doorgeeft van het ene actieve centrum naar het volgende actieve centrum. In Hoofdstuk 2 van dit proefschrift wordt het onderzoek beschreven naar een soortgelijke redoxreactie binnen het biomimetische koper-thiolaatcomplex. Deze redoxreactie is schematisch weergegeven in Figuur C.

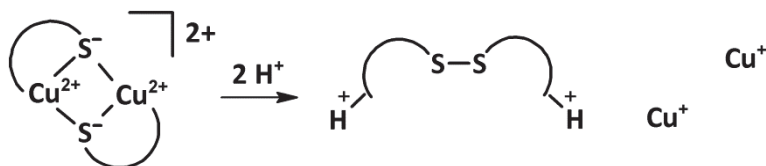


Figuur C: Voorgesteld mechanisme voor de omzetting van een koper-thiolaatcomplex naar een koper-disulfidecomplex.

Een elektron van het zwavelion (thiolaatgroep) verplaatst naar het koperion, waardoor een reactief zwavelradicaal ontstaat. Twee zwavelradicalen willen graag samen een binding vormen, waardoor een koper-disulfidecomplex ontstaat. Twee van de elektronen in dit kopercomplex kunnen zich dus of op het zwavelion bevinden (in het koper-thiolaatcomplex) of op het koperion (in het koper-disulfidecomplex). Ik heb onderzocht waarom het elektron juist op het koperion of op het zwavelion zit en wat veroorzaakt of het koper-thiolaatcomplex of het koper-disulfidecomplex vormt. Ik heb gevonden dat deze omzetting van het ene in het andere kopercomplex wordt beïnvloed door de temperatuur en door het oplosmiddel waarin het kopercomplex is opgelost. Ik heb ook berekeningen gedaan aan de kopercomplexen: hieruit blijkt dat ook het type ligand bepaalt welk complex gevormd wordt.

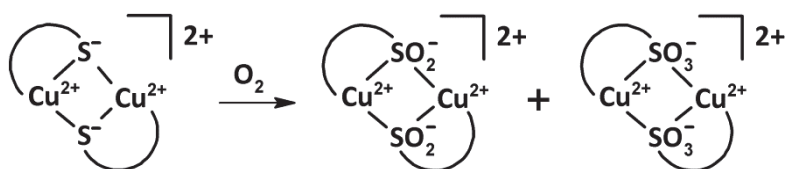
Ik heb gevonden dat er ook een redoxreactie plaatsvindt wanneer er zuur, ofwel protonen (H^+), worden toegevoegd aan het koper-thiolaatcomplex. Het onderzoek naar deze reactie staat beschreven in Hoofdstuk 3. Uit dit onderzoek bleek dat in aanwezigheid van protonen het koper-thiolaatcomplex niet alleen omzet naar het koper-disulfidecomplex, maar dat daarna ook het ligand loslaat (Figuur D). Dit is een zeer interessante vinding, omdat zuur en pH in biologische systemen een hele grote

rol spelen. De wetenschap dat een metaalion in een enzym kan loslaten in aanwezigheid van zuur is zeer belangrijk aangezien het iets kan vertellen over de invloed van zuur op het Cu_A-centrum.



Figuur D: Schematische voorstelling van het loslaten van het ligand na toevoeging van twee protonen aan het koper-thiolaatcomplex.

Niet alleen protonen, maar ook zuurstof speelt een rol in de omgeving van het Cu_A-centrum. Zoals eerder vermeld wordt zuurstof (O₂) in cytochroom *c* oxidase met protonen en elektronen omgezet naar water. Daarom heb ik ook het effect van zuurstof op het koper-thiolaatcomplex bestudeerd; dit onderzoek is beschreven in Hoofdstuk 4. Wanneer het koper-thiolaatcomplex in contact komt met lucht, reageren de thiolaatzwavelatomen met zuurstof. Deze reactie kun je vergelijken met de reactie van ijzer met lucht, waarbij roest ontstaat. De thiolaatgroepen oxideren naar zogenoemde sulfinaat- en sulfonaatgroepen zoals weergegeven in Figuur E. Hierdoor kunnen de zwavelatomen niet meer een disulfide vormen (zoals in Figuur C). Dit zou kunnen betekenen dat wanneer zuurstof met de zwavelatomen in het Cu_A-centrum reageert, het enzym niet meer kan functioneren en dus vervangen moet worden.



Figuur E: Schematische weergave van de oxidatie van het koper-thiolaatcomplex door zuurstof.

Tot slot heb ik onderzocht of de kopercomplexen gebruikt kunnen worden als biomimetische katalysator voor oxidatiereacties. In Hoofdstuk 6 en 7 is beschreven hoe de gemaakte kopercomplexen reageren met andere bioactieve stoffen zoals fenol en catechol.