

Universita Karlova v Praze  
Přírodovědecká fakulta  
Obor modelování chemických vlastností bio- a nanostruktur



Katalytické a elektronové vlastnosti “redox-aktivních“ metaloenzymů a komplexů  
přechodných kovů z pohledu výpočetní chemie

**Autoreferát k disertační práci**

**RNDr. Martin Srnec**

Školitel:  
Mgr. Lubomír Rulíšek, CSc.

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR  
Centrum biomolekul a komplexních molekulárních systémů

Praha 2010

## Úvod

Kovy a jejich ionty hrají v biochemických procesech významnou úlohu. Jejich přítomnost bývá nepostradatelná například při sbalování (folding) bílkovin a stabilizaci jejich struktur. Bývají běžně hnací silou enzymové aktivity, přeměny energie, či buněčných signálů. Ještě před několika desítkami let byly metaloenzymy považovány za nevýznamnou podskupinu bílkovin. Dnes se však odhaduje, že alespoň jedna třetina všech enzymů obsahuje jeden či více kovových iontů, které jsou pro funkčnost enzymu zásadní. Metaloenzymy obvykle katalyzují energeticky náročné chemické reakce jako například hydroxylaci metanu, rozklad molekulového vodíku na protony a elektrony, štěpení vazby molekulového dusíku a kyslíku atp. Dále se účastní redoxních reakcí, přenosu elektronů či spinově zakázaných reakcí, u nichž jsou nezbytné relativistické efekty, zesílené právě přítomností kovu.

Biochemická úloha mnoha enzymů je v současnosti známá. Obecně lze říci, že pracují jako vysoce účinné biokatalyzátory reakcí, které by byly jinak kineticky zakázané. Je tudíž lákavé studovat tyto katalyzované procesy a jejich mechanismy. Pochopení principů, na kterých jsou životní pochody postavené, je samo o sobě dostatečnou motivací. Znalost těchto principů je však důležitá i z velmi praktického důvodu; dává totiž možnost zefektivnit chemický průmysl. Studování enzymové katalýzy může bezpochyby pomoci při navrhování umělých katalyzátorů. Příprava a studium malých komplexů přechodných kovů se na druhou stranu často (a úspěšně) používá k pochopení vlastností aktivních míst metaloenzymů. Je přesto nesporné, že tyto zjednodušené modely poskytují pouze omezenou informaci o vlastnostech enzymových katalytických center.

Navzdory velkému množství experimentálních metod používaných ke studiu struktury a funkce metaloenzymů a komplexů přechodných kovů, mnoho otázek zůstává řešitelných pouze v kombinaci s teoretickými simulacemi, modely a jejich interpretacemi. V této práci jsou proto prezentované výsledky z kvantově chemických metod a metod kombinujících kvantovou a molekulovou mechaniku. Tyto výsledky doplňují, nebo jsou doplněné experimentálními údaji našich spolupracovníků (tj. skupiny profesora Edwarda I. Solomona; skupiny dr. Sergeje Shleeva nebo skupiny doc. Michala Hocka).

Předkládaná dizertační práce je tématicky rozdělena do dvou částí. První část je zaměřena na řešení reakčních mechanismů a katalytických vlastností tří “redox-aktivních“ metaloenzymů: manganové superoxiddismutázy, rozpustné  $\Delta^9$  desaturázy a multi-copper oxidázy. V druhé části se diskutují vlastnosti oktaedrálních komplexů ruthenia a osmia (např. redoxní potenciály a solvatomagnetické vlastnosti).

## Metody

Z důvodů velikosti a složitosti bioanorganických systémů byly převážně použity metody funkcionálu hustoty (DFT), které splňují požadovaný kompromis mezi přesností a ne příliš velkou výpočetní náročností. Metody DFT jsou přesto v některých případech dosti nepřesné (např. nepopisují dobře statickou korelační energii). Z tohoto důvodu jsou v dizertaci použity i výpočetně náročnější metody – multireferenční poruchová teorie druhého řádu a multireferenční konfigurační interakce.

Podstatná část dizertační práce se týká modelování metaloenzymové katalýzy. V těchto případech teoretické modely zahrnují až několik desítek tisíc atomů. Je tedy nevyhnutelné použít metody kombinující kvantovou a molekulovou mechaniku (ve zkratce QM/MM). V QM/MM modelech je aktivní místo enzymu, ve kterém vznikají a zanikají chemické vazby během katalýzy, popsáno některou z výše uvedených kvantových metod. Popis zbytku bílkoviny a jeho vlivu na reakční centrum je zjednodušen na molekulově mechanický popis meziatomových interakcí.

## Shrnutí výsledků

V první části práce jsou popsány studie různých aspektů metaloenzymové katalýzy. V prvních dvou kapitolách této části, zaměřených na manganovou superoxiddismutázu a rozpustnou  $\Delta^9$  desaturázu, jsme se zabývali energetikou různých reakčních cest. U obou enzymů jsme pak navrhli nejpravděpodobnější průběh katalyzovaných reakcí. V následujících dvou kapitolách jsou pak prezentovány výsledky studií zaměřených na některé katalytické kroky v multi-copper oxidázách, jejichž katalytické aktivní místo má jedinečné strukturní uspořádání: z centra s jedním iontem mědi (centrum T1), u kterého dochází k oxidaci substrátu, se přenáší elektrony přes aminokyselinový řetězec Cys-2His na klastr tří mědí (centrum T23), kde se redukuje molekulový kyslík na vodu. Předně jsme se zabývali energetikou spjatou s elektronovým přenosem z centra T1 do centra T23. Jmenovitě jsme se pokusili odhadnout reorganizační energii enzymu na základě našich QM/MM modelů. Získané výsledky spolu s elektrochemickou studií našich spoluautorů pak vedou k závěru, že elektronový přenos je v enzymu endergonický. Dále jsme studovali klíčový reakční krok při přeměně  $O_2$  na  $H_2O$  – štěpení vazby O-O v  $O_2$ . Ukázali jsme mimo jiné významný vliv bílkovinného prostředí na vypočtené hodnoty reakčních bariér a reakčních energií.

V druhé části dizertační práce je pozornost soustředěná na studium fyzikálně chemických vlastností oktaedrálních komplexů ruthenia a osmia, které mohou být považovány za modely medicínsky zajímavých sloučenin. V první kapitole této části práce prezentujeme objasnění vlivu zahrnutí spinorbitální vazby na přesnost elektronových výpočtů a předpovědi redoxních potenciálů. Ukázali jsme, že tento relativistický efekt je velmi významný v hexakoordinovaných komplexech ruthenia a osmia, neboť oxidované formy mají nepárové  $d$  elektrony a degenerovaný základní

elektronový stav (tzn. uplatňuje se významný vliv spinorbitální vazby), zatímco elektronové struktury redukovaných forem mají uzavřené elektronové slupky (tzn. uplatňuje se pouze malý vliv spinorbitální vazby). Tato skutečnost se následně projeví snížením redoxních potenciálů o několik stovek mV u komplexu osmia. V druhé kapitole, věnované komplexům přechodných kovů, se diskutuje vliv solvatačních efektů (reprezentovaných polarizovaným spojitým modelem) na elektronové struktury oktaedrálních komplexů osmia a ruthenia. Na základě kvantově chemických výpočtů jsou předpovězeny solvatomagnetické vlastnosti komplexu  $[\text{RuCl}_6]^{4-}$ .

V neposlední řadě je cílem této disertační práce ukázat velmi zajímavý svět (teoretické) bioanorganické chemie. Díky pozoruhodným katalytickým a elektronovým vlastnostem bioanorganických komplexů, autor předkládané disertační práce věří v pokračování rostoucího zájmu o studium jejich fyzikálně chemických vlastností, který jistě povede nejen k dalšímu rozvoji experimentálních a teoretických metod, ale i k vývoji nových technologií inspirovaných znalostmi přírodních procesů a jejich mechanismů.