



Várnagy Katalin – Buglyó Péter

■ DE Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék | varnagy.katalin@science.unideb.hu | buglyo@science.unideb.hu

Bioszervetlen kémiai kutatások a Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén

A Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén jelenleg is folyó, bioszervetlen kémiai indíttatású kutatások gyökerei az 1960-as évekre nyúlnak vissza. Ekkor kezdődtek el azok a vizsgálatok, amelyeknek fő célja a fémkompleksek stabilitási állandóinak meghatározása volt. Ennek során fejlesztették ki a komplexegyensúlyi vizsgálatok metodikáját, a stabilitási állandók számítását összetett rendszerekre, ami a koordinációs kémia, ezen belül az oldategyensúlyi kémia területének igen jelentős fejlődését eredményezte. A számítástechnika rohamos fejlődése további óriási lendületet adott a területen folyó kutatásoknak. A mérési módszert tekintve általánossá vált a pH-potenciometria, amely adatainak kiértékeléséhez a ma is igen széles körben használt PSEQUAD programot dolgozták ki a tanszék kutatói. [1] Így az 1960-as és korai 70-es évek kutatásainak fő iránya metodikai jellegű volt, amelyhez az átmenetifém-aminosav rendszerek szolgáltak modellként. Az átmenetifémek biológiai szerepének felismerése és a bioszervetlen kémiai kutatások nemzetközi elterjedése következtében a 70-es évek közepétől a tanszéki kutatások is mindinkább a bioszervetlen kémia irányába tolódtak el. A vizsgálatok középpontjában továbbra is a fémion-bioligandum kölcsönhatások oldategyensúlyi jellemzése maradt, azonban ezeket – az analitikai módszerek rohamos fejlődése révén – olyan új módszerek alkalmazásával egészítették ki, amelyek lehetővé tették az oldatban képződő részecskék szerkezetének, illetve kötésviszonyainak a meghatározását is (spektrofotometria, ESR- és NMR-spektroszkópia, cirkuláris dikroizmus, tömegspektrometria).

Ezen kutatásokra alapozva vált lehetővé, hogy az 1970-es évek egy nemzetközileg is elismert kutatócsoport alakuljon ki, ami megalapozta a jelenlegi „Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport” létét és fő kutatási profilját. A csoport tagjai szinte a kezdetek óta Dr. Sóvágó Imre és Dr. Farkas Etelka professzor emeritusok, az 1980-as években kapcsolódott be a munkába Dr. Várnagy Katalin és Dr. Buglyó Péter, akik szorosán együttműködve irányítják a kutatást fiatalabb munkatársak – Dr. Kállay Csilla, Dr. Grenács Ágnes, Dr. Bíró Linda – közreműködésével. A csoportban emellett jelenleg 8 predoktor, illetve PhD-hallgató végez kutatómunkát és évről évre nagyszámú hallgató folytat tudományos diákköri tevékenységet, illetve készíti diplomamunkáját, szakdolgozatát.

Kutatómunkánk eredményességéhez jelentősen hozzájárul az a peptidszintetizáló készülék, amely szilárd fázisú technikával teszi lehetővé a kívánt szekvenciájú oligopeptidek elkészítését, valamint annak a laboratóriumi infrastruktúrának a kiépítése, amely inert körülmények közötti szintetikus munkát tesz lehetővé.

* *

A bioszervetlen kémiai kutatások fő célja a szervezetben megtalálható nem szerves eredetű nyomelemek biológiai funkciójának megismerése, illetve ezen funkciók molekuláris szintű kémiai alapjainak a feltárása. Ma már általánosan elfogadott tény, hogy a nyomelemek egy része nélkülözhetetlen a normális életfolyamatok fenntartása céljából (pl. Fe, Zn, Cu, Ni, Mn, Mo, Co, Se stb.), míg más toxikus elemek (pl. Hg, Cd, Pb stb.) hatásának kivédése egyrészt a környezetvédelem, másrészt a gyógyászat szempontjából jelent komoly kihívást. Ugyancsak igen fontos alkalmazási területet jelentenek a szervetlen – elsősorban fémtartalmú – vegyületekre alapozott gyógyszerekkel (pl. rákellenes hatású platina- és ruténium-komplexek) vagy új gyógyászati területek (pl. metalloenzimek, inhibitorok) kifejlesztésével kapcsolatos kutatások. A legutóbbi években pedig a bioszervetlen kémiai kutatások nagy területét adják a rohamosan fejlődő korszerű diagnosztikai eljárásokkal kapcsolatos alap- és alkalmazott kutatások.

A Debreceni Egyetem Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoportjában jelenleg az alábbi területeken folynak kiterjedt kutatások:

A fémionok és a neurodegeneratív betegségek lehetséges kapcsolatai

Napjainkban a neurodegeneratív megbetegedések (pl. az Alzheimer-kór, Parkinson-kór, amiotrófiás laterálszklerózis, Huntington-kór, prion betegségek) a harmadik leggyakoribb betegcsoport a daganatos és az érrendszeri megbetegedések után. Bár a fenti betegségek egyikének kialakulása és lefolyása sem ismert teljes bizonyossággal, és sajnos ma még egyikük sem gyógyítható, de számos közös jellemző már egyértelműen azonosítható.

– A kórképek közös vonása az idegrendszer szerkezeti és funkcionális elváltozása, ami magában foglalja a szervezetben normális körülmények között is megtalálható fehérjék konformációváltozását és aggregációját is.



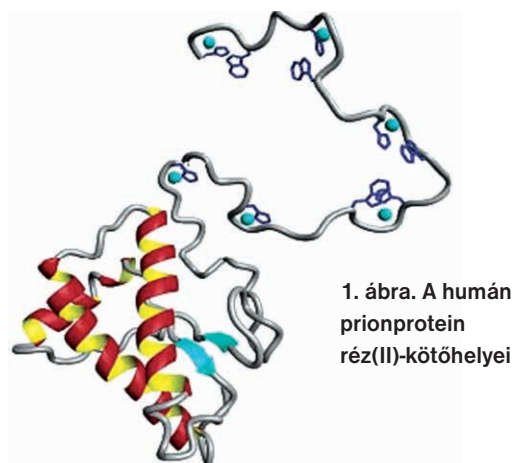
– A kialakult fehérje aggregátumok igen gyakran szokatlanul nagy koncentrációban tartalmaznak egyes – egyébként létfontosságú – nyomelemet (pl. Fe, Cu, Zn).

– Az érintett fehérjék szekvenciája a molekula jól hozzáférhető helyein tartalmaz kiugróan nagy fémionmegkötő képességű aminosavakat, elsősorban hisztidint.

Ezek a megállapítások egyértelműen mutatják, hogy a fenti fehérjék peptidfragmenseinek koordinációs kémiai jellemzése hozzájárulhat annak megértéséhez, hogy milyen szerepet játszhatnak a fémionok a neurodegeneratív betegségek kialakulásában és lefolyásában. Így két fehérje, a prion betegségekben szerepet játszó prionfehérje és az Alzheimer-kórhoz köthető amiloid- β -fehérje számos fragmensét és mutánsát állítottuk elő és tanulmányoztuk komplexképződési folyamataikat réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)ionok jelenlétében. A széleskörű vizsgálatok eredményeit az alábbiakban foglalhatjuk össze:

Az **emberi prionfehérje** (HuPrP) összesen 10 hisztidin aminosavat tartalmaz, 6 a fehérje rendezetlen N-terminális tartományában található, ezen belül 4 az ún. „oktarepeat” tartományban, míg 2 azon kívül, a 96-os és 111-es pozícióban helyezkedik el.

– A vizsgálatok kimutatták, hogy a fehérje annyi réz(II)ion megkötésére képes, ahány hisztidin található a molekulában (**1. ábra**). A független kötőhelyek ekvimoláris oldatban koordinációs



izomerek képződéséhez vezetnek, míg fémion felesleg jelenlétében többmagvú komplexek kialakulása is kimutatható.

– A korábbi vizsgálatok azt valószínűsítették, hogy az oktarepeat tartomány az elsődleges fémionkötőhely, ugyanakkor a vizsgálataink azt bizonyították, hogy a 96-os és 111-es pozícióban levő hisztidinek (His96, His111) és a megelőző peptidnitrogének stabilabb kötőhelyet jelentenek a réz(II)ion számára. A nikkel(II)-ion csak az „oktarepeat” tartományon kívüli hisztidinekhez (és a megelőző amidnitrogénekhez) kötődik. Ugyanakkor eltérő fémion affinitású a 96-os és 111-es helyzetben levő hisztidin: míg a réz(II) számára a His111, addig a nikkel(II) számára a His96 a kedvezményezettebb kötőhely.

– A fehérje nagyon kis stabilitással köti a cink(II)iont.

– A fehérje számos egyéb átmenetifémionnal is képez komplexet, és a kétértékű fémionok komplexeinek stabilitása a Pd(II) > Cu(II) > Ni(II) > Zn(II) > Cd(II) ~ Co(II) sorrendben csökken. A Pd(II), Cu(II) és Ni(II) koordinálásában az imidazol és a deprotonálódott peptidnitrogének vesznek részt, míg a többi vizsgált fémion számára kizárólag a hisztidin imidazolgyűrűje jelent kötődési helyet. [2]

Az **amiloid- β** fehérje egy 40–43 aminosavból álló peptid, amelynek aggregációja (amiloid plak) a közvetlen kiváltó oka az Alz-

heimer-kórnak. A peptid egy jóval nagyobb tagszámú fehérje, az amiloidprekursor protein rendellenes hasadásával jön létre. Koordinációs kémiai szempontból a peptid N-terminális része jelenti a potenciális fémionkötőhelyet, amely egy terminális aminocsoportot, három hisztidint (His6, His13 és His4) tartalmaz és két aszparaginsav, két glutaminsav, valamint egy szerin és egy tirozin oldalláncai is hozzájárulhatnak a fémion koordinációjához. Ugyanakkor a C-terminális rész nem tartalmaz kötőhelyet. Így a vizsgálatainkat az 1–16 szekvenciával és kisebb fragmenseivel, valamint dimer származékával folytattuk (az oldhatóság növelése érdekében a vizsgálatok nagy részét a polietilén-glikol konjugátummal (amiloid- β (1-16)PEG) végeztük.

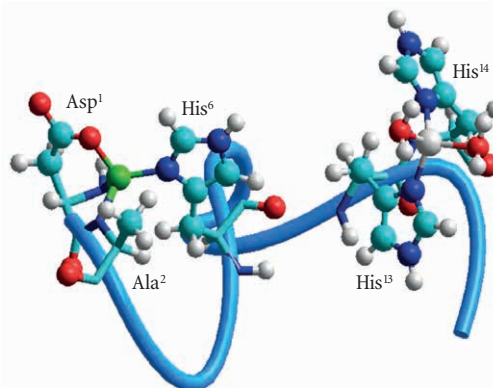
A legfontosabb eredményeinket az alábbiakban foglalhatjuk össze:

– A prionproteinellentétben az amiloid- β peptid a réz(II)-, a nikkel(II)- és a cink(II)ionnal egyaránt képes stabilis komplexeket képezni.

– Fémion felesleg jelenlétében többmagvú komplexek képződnek, de a koordinálódó fémionok száma a fémiontól függ, a peptid négy réz(II)iont, három cink(II)iont, illetve két nikkel(II)iont képes megkötni.

– A terminális aminocsoport az elsődleges fémionkötőhely a réz(II) és nikkel(II) számára, míg a cink(II) az oldalláncbeli imidazolgyűrűkhöz koordinálódik.

– Az eltérő koordinációs preferencia vegyes fém-komplexek (elsősorban Cu(II)-Zn(II)) képződését is elősegítette (**2. ábra**). [3,4]



– A dimer szerkezetű amiloid- β -származékban (amiloid- β (1-16) dimer) a semleges pH-tartományban a réz(II) a hisztidinekhez kötődik makrokelát-szerkezetet kialakítva és a monomer peptidhez képes kisebb arányban kötődik a fémion. [5]

Hisztidintartalmú modellpeptidek réz(II)komplexeinek redoxisajátságai

Az egy vagy több hisztidint tartalmazó védett peptidek modellként szolgálhatnak más biokémiai folyamatok koordinációs kémiai hátterének megértéséhez is. Jól ismert, hogy a szuperoxidgyök elbontásáért felelős Cu,Zn-szuperoxid-diszmutáz enzim aktív centrumában a réz(II)ion három hisztidin oldalláncbeli imidazolgyűrűjéhez koordinálódik és a negyedik imidazolgyűrű híd-ként köti össze a réz(II)iont az enzim szerkezetének meghatározásában szerepet játszó cink(II)ionnal. Így a **2, 3 vagy 4 hisztidint tartalmazó terminálisan védett peptidek** szisztematikusan tervezett sorozatát állítottuk elő, és elsősorban réz(II)-komplexeiket tanulmányoztuk. A koordinációs kémiai sajátságok megismerésén túl azonban a komplexek redoxisajátságainak



vizsgálata is előtérbe került, hiszen az enzimben a réz(II)ion redoxifolyamatok katalízisében vesz részt. A vizsgált peptidek oldategyensúlyi vizsgálatai alapján megállapítottuk, hogy a molekulában levő hisztidinek az elsődleges kötőhelyek a réz(II)ion számára, és az imidazol koordinációjú komplexek mennyisége jelentős a gyengén savas tartományban. Ezeknek a komplexeknek a stabilitását jelentősen befolyásolja a molekulában levő hisztidinek száma és helyzete, ugyanakkor a peptidláncban levő egyéb aminosavak – oldalláncaik révén – szintén hatással vannak a komplexképződési folyamatokra. Általánosan az alábbi következtetéseket vontuk le:

- Az imidazol koordinációjú komplexek stabilitása nő a hisztidinek számával, és a legnagyobb stabilitású komplexek az $Ac-(HisXaa)_nHis-NH_2$ vagy $Ac-HisXaaXaaHisYaaHis-NH_2$ szekvenciák esetén keletkeznek.

- Az imidazol koordinációjú komplexek redukálhatósága nagyobb, mint a peptidszerű koordinációjú komplexeké (ahol a peptidváz deprotonálódott amidnitrogénjei is részt vesznek a fémion megkötésében), mivel ez utóbbi esetben a jóval merevebb szerkezet stabilizálja a +2 oxidációs állapotot és kedvezőtlenebb koordinációs környezetet jelent a Cu(I) számára.

- A redukációs potenciál csökken a koordinálódott imidazol-nitrogének számának emelkedésével, vagyis a komplexek stabilitásának növekedésével.

- Bár a vizsgált komplexek redoxipotenciál értékei alapján a réz(II)komplexek többsége alkalmas modellje lehetne a Cu,Zn-szuperoxid-diszmutáz enzimnek, a SOD-aktivitás adatok ezt nem támasztották alá. Így ezek a peptidek kiindulópontot jelenthetnek további olyan peptidek szintéziséhez, amelyek réz(II)komplexei funkcionálisan is modellezik az enzimet. [6]

Emellett ismert az is, hogy a fehérjék oxidációjáért mind a fémionok mind a szabad gyökök együttesen felelősek, úgynevezett fémionkatalizált oxidációban (MCO) vesznek részt, ezzel károsítva a fehérjét. Emiatt azok elveszíthetik funkciójukat, nem tudják betölteni az élő szervezetben ellátott szerepüket. Emellett proteázrezisztenssé is válhatnak, lerakódhatnak különböző szövetekben és tönk्रे tehetik azokat a szöveteket, amelyekben felhalmozódtak, és ez szerepet játszhat a neurodegeneratív betegségek kialakulásában is. [7,8]

Az oxidációs folyamatokat jelentősen befolyásolja a fehérje szekvenciája és szerkezete. A fémion katalizálta oxidáció során főként azokat az aminosavakat érinti a redoxiátalakulás, amelyek közvetlenül szerepet játszanak a fémion megkötésében vagy annak szomszédságában helyezkednek el. A biomolekulák oxidációs folyamatait elsősorban a Fe(III) és Cu(II) katalizálhatja, megfelelő elektron donor jelenlétében Fe(II), illetve Cu(I) keletkezik, ami a hidrogén-peroxidot megkötve hidroxilgyököt generál, és ez azonnal oxidálja a fémion kötési helyéhez közeli aminosavakat. Az oxidációra legérzékenyebb aminosavak a metionin és a hisztidin. Ezek a szabad gyököt termelő rendszerek helyettesíthetők a Cu(II)/H₂O₂ rendszerrel és így vizsgálhatók.

A humán prionfehérje (Hu-PrPC) esetén sem csak komplexképződési folyamatok révén játszik szerepet a réz(II)ion. Korábban azt feltételezték, hogy a Hu-PrPC részt vesz a réz szállításában, a rézanyagcserében és védi a sejtet a káros oxidatív hatásokkal szemben az intracelluláris SOD aktivitás szabályozásán keresztül. Mára inkább az a kép alakult ki, hogy a fehérje redoxiszenzor és a feleslegben lévő Cu(II)ionokat köti meg és védi a neuronokat az oxidatív károsodás ellen.

Ezen a területen most kezdődtek kutatócsoportunkban a vizsgálatok. Ennek keretében a **HuPrP (103–112) fragmens és mu-**

tánsai réz(II) katalizálta oxidációját tanulmányoztuk. A vizsgált fragmens tartalmazza az –MetLysHisMet– szekvenciát, amely réz(II)kötőhely és egyúttal hisztidint és metionint is tartalmaz. Az eredmények azt mutatták, hogy ha a mutáns peptid nem tartalmazott metionint, akkor oxidáció nem játszódott le, csak a peptid fragmentációját mutattuk ki, és a lánchasadás a hisztidintől távol következett be. Ugyanakkor, ha a szekvencia metionint tartalmazott, a Cu(II) katalizálta a metionin oxidációját metionin szulfoxiddá, és ez a folyamat egyúttal megvédte a peptidet a fragmentációtól függetlenül attól, hogy a metionin a hisztidinhez közel vagy távol helyezkedett el a peptidláncban. [9] Ebből arra következtettünk, hogy az élő szervezetben a prion betegség során fontos szerepe van a fémion katalizálta oxidációnak és a felhalmozódó szabad gyökök elsődlegesen a fehérjében lévő metionint oxidálják. Ahhoz azonban, hogy pontosabb képet kapjunk arról, hogy ez hogyan befolyásolja a prionfehérje szerkezetének megváltozását, vizsgálatainkat nagyobb tagszámú, hisztidint és metionint különböző számban és helyzetben tartalmazó peptidek tanulmányozására van szükség, kiegészítve azokat kinetikai vizsgálatokkal is.

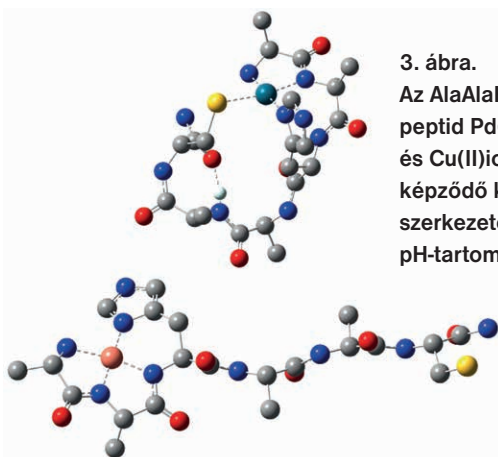
Toxikus fémionok szelektív megkötésére alkalmas peptidek szintézise és koordinációs sajátosságai vizsgálata

Egy európai uniós pályázathoz kapcsolódó projekt keretében kezdődtek el azok a kutatások, amelyekben olyan toxikus fémionok, mint a kadmium(II) és ólom(II) szelektív megkötésére alkalmas ligandumok szintézise és koordinációs kémiai jellemzése állt a középpontban. A fent említett fémionok lágy jellegéből adódóan a kén-donoratomot tartalmazó molekulák, ezen belül elsősorban a cisztein tartalmú peptidek tanulmányozása került előtérbe. Munkánkat azonban nemcsak az ólom(II)- és kadmium(II)-, hanem a nikkell(II)- és cink(II)komplexek jellemzésére is kiterjesztettük. Egyrészt a toxikus fémionok elsősorban ezeket a fémionokat szorítják ki a metalloproteinekből, meggátolva ezzel azok működését. Másrészt jól ismert az is, hogy az élő szervezetben a fehérjék fontos fémionkötőhelye a hisztidin mellett a cisztein oldallánca, gondoljunk csak a cink-ujj fehérjékre, a vas-kén proteinekre vagy az emésztőrendszerben megjelenő kórokozó, a *Helicobacter pylori* nikkell(II) homeosztázisában szerepet játszó fehérjékre. Ezekre a metalloproteinekre jellemző, hogy a fémion a cisztein mellett más aminosav, mint az aszparaginsav, glutaminsav vagy hisztidin oldalláncbeli donorcsoportjai is meghatározó szerepet játszanak a fémion koordinálásában. Így kutatócsoportunkban a fémion-peptid kutatások területén jelenleg is intenzíven kutatott új irányt jelentenek a **két ciszteint, illetve ciszteint és hisztidint vagy aszparaginsavat tartalmazó peptidek** koordinációs sajátosságainak feltérképezése, amelyekben a két potenciális donorcsoport egymástól távol helyezkedik el. Az eddigi vizsgálatok számos új és érdekes eredményt hoztak, amelyből néhány példát említünk:

- Az AlaAlaHisAlaAlaCys-NH₂ peptid az N-terminális részen albuminszerű kötőhelyet tartalmaz, ami a nikkell(II) számára elsődleges és ekvimoláris oldatban kizárólagos kötőhelyet jelent. Ugyanakkor az elkülönülő cisztein egy második fémion megkötésére is lehetőséget ad. Ez az albuminszerű kötődés a réz(II)komplexei oldategyensúlyi jellemzését is lehetővé teszi a savas és semleges pH-tartományban, mert a ligandum albuminszerű koordinációja visszaszorítja az amúgy jellemző réz(II)-tiolát redoxireakciót. Ugyanakkor a palládium számára a tiolcsoport elsődleges kötőhelynek bizonyul, megakadályozva ezzel az amidnitro-



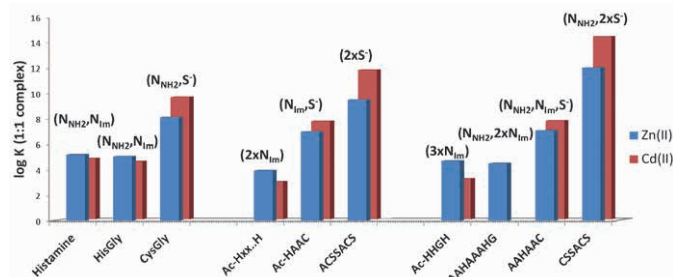
gének deprotonálódását és koordinálódását a savas tartományban (3. ábra). [10,11]



3. ábra. Az AlaAlaHisAlaAlaCys-NH₂ peptid Pd(II)ionnal (fent) és Cu(II)ionnal (lent) képződő komplexeinek szerkezete a semleges pH-tartományban

– Az AlaCysSerSerAlaCysSer-NH₂ peptid kadmium(II)- és cink(II)komplexeiben a két tiolcsoport koordinálja a fémiot a savas tartományban, ugyanakkor lúgos tartományban az ammóniumcsoport deprotonálódását követően egy extra deprotonálódási folyamat detektálható. Az NMR-spektroszkópiás vizsgálatok pedig azt támasztották alá, hogy ez mindkét fémoon esetén a fémoon indukálta amidnitrogén deprotonálódásnak felel meg, amire korábban nem volt példa az irodalomban. [12]

– A két ciszteintartalmú védett és nem védett peptidok esetén általánosan elmondható, hogy a komplexek stabilitása a Cd(II) > Pb(II) > Zn(II) sorrendben csökken. Ugyanakkor mind a kadmium(II), mind a cink(II) esetén a kötőhelyek preferenciájára ugyanaz a sorrend adható meg: (S,S) > (S,N) > (N,N), ezt részletezve jól szemlélteti a 4. ábra:



4. ábra. Az 1:1 arányú cink(II)- és kadmium(II)-peptid komplexek stabilitási állandói

Hidrozámsavak fémmegkötő sajátságai

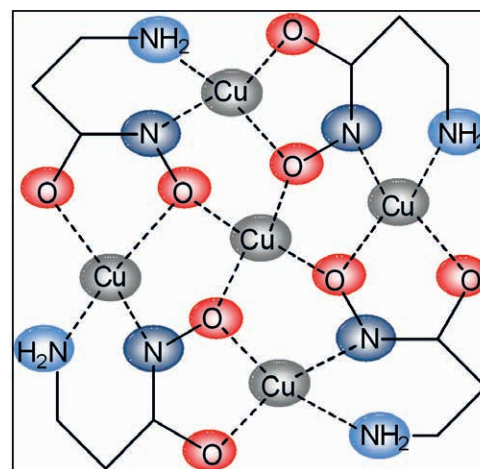
A hidrozámsavak fémmegkötőre vonatkozó oldategyensúlyi kutatások közel három évtizede kezdődtek a kutatócsoportunkban. A hidrozámsavak egyrészt a sziderofórok egyik típusaként alapvető szerepet játszanak a mikroorganizmusok vasfelvételében, [13,14] másrészt a magasabb rendű élőlényekben is számos biológiai hatásuk van. Ilyenek a metalloenzimekre (pl. ureázokra, mátrix metallopreinázokra, peroxidázokra) gyakorolt inhibíciós hatás vagy a toxikus fémek, illetve a thalassemiás betegek szervezetében felhalmozódó vasfelesleg kivonása a szervezetből. Mindezek az említett hatások és gyógyászati alkalmazások szorosan kapcsolódnak a hidrozámsavcsoport(ok) erős és szelektív fémmegkötő sajátságaihoz. A kutatócsoportban a kutatások fő célja a különböző molekuláris környezetben **hidroxamát-csoportot tartalmazó modell-ligandumok**, valamint **természe-**

tes hidrozámsavak koordinációs sajátságainak jellemzése. Ezek ismeretében célunk új enziminhibitorok tervezése, illetve a gyógyászati alkalmazások potenciális lehetőségeinek feltérképezése.

A hidrozámsavak által kifejtett metalloenzim inhibíció egyértelműen a kompetitív gátlás mechanizmusa szerint értelmezhető, ahol a szubsztrátanalóg inhibitor molekula hidroxamátcsoportja révén az aktív centrumban levő fémoonhoz koordinálódik, megátolva ezzel a szubsztrát kapcsolódását. Így az enziminhibíciós hatásban, a szelektív megkötődésben nemcsak a fémoonkötő hidroxamátcsoport a meghatározó, hanem azok a molekulárisrészek is, amelyek képesek az enzim alkötőhelyeivel kölcsönhatásba lépni. A vizsgált molekulák a hidrozámsav csoporton kívül α - vagy β -helyzetben egy amino- vagy imidazolcsoportot tartalmaztak, illetve a hidroxamát-N is tartalmazhat különböző szubsztituenteket.

Eredményeink alapján általánosan az alábbiak állapíthatók meg:

– Amennyiben az α - vagy β -helyzetű aminocsoport kelátképző helyzetben van a hidroxamát-N-nel, és az képes koordinálni (a hidroxamát-N-en nincs szubsztituens), akkor alárendeltté válik a hidroxamát típusú (O,O)-koordinációs mód a Ni(II)-, Cu(II)- és Zn(II)ionokkal egyaránt. A Cu(II) lúgos tartományban fémkorona típusú komplexet képez (5. ábra), amely szerkezetet elsőként közöltük. [15]



5. ábra. A Cu(II)- β -Ala-hidrozámsav rendszerben a pH 4–9 tartományban kizárólagosan képződő [Cu₅H₄L₄]²⁺ összetételű fémkorona komplex (az ábrán az egyszerűsítés kedvéért töltések nem szerepelnek)

A legújabb eredményeink pedig azt is mutatják, hogy a γ -helyzetű amino- vagy imidazolcsoport jelenléte szintén a nitrogéndonorok kötődésének kedvez, és meglepő, hogy ebben az esetben is keletkeznek fémkorona típusú komplexek, csatolt 5 és 7 tagú kelátok kialakulásával.

– Amennyiben a hidroxamát-N-atomon hidrogéntől eltérő szubsztituens van, a β -aminosav hidrozámsav-származékjaival, illetve azok imidazolanalógjaival már dominánssá válik a hidroxamát (O,O)-koordinációs mód. [16]

A ligandumok másik csoportját négy trihidroxámsav típusú természetes sziderofór (deszferrioxamin B és deszferrikoprogén, valamint ciklikus analógjaik, deszferrirocinn és triacetilfuzarinin), továbbá modellvegyületeik jelentették. Ezen molekulák fémmegkötő sajátságait a fémoonok igen széles skáláján (Fe(III), Mn(III), Co(III), Mo(IV), a 3d fémek +2 oxidációs állapotú ionjai, valamint a toxikus Pb(II) és Al(III), illetve a létfontosságú



Ca(II) és Mg(II)) tanulmányoztuk. Fontos célja volt ezen vizsgálatoknak annak felderítése, hogy az egyes sziderofórokban a három-három kelátképző csoportot összekötő egyes molekulaelemeknek van-e és ha igen, akkor milyen szerepe van a fémion megkötésben, illetve a fémion szelektivitásban. Ehhez például célszerűen megtervezett modell dihidroxámsavak szintézise és fémkomplexeik tanulmányozása is megtörtént. [17, 18] Az eredmények alapján megállapítható volt, hogy a természetes sziderofórok igen nagy szelektivitással képesek a Fe(III)iont megkötni. Mikroorganizmusok vasfelvételének megértéséhez fontos adalékkal szolgálhat az az eredmény is, mely azt mutatja, hogy ezek a természetes molekulák a Fe(II)iont is Fe(III)-sziderofór komplexbe képesek vinni. Nevezetesen a sziderofór általi oxidációt követően további sziderofór molekula komplexálja a Fe(III)-iont. [19] Felderítettük azon molekulaszerkezeti sajátosságokat is, melyek például azt eredményezik, hogy a desferrikoprogén jóval nagyobb stabilitással köti a Pb(II)iont, mint a desferrioxamin B. [20] Megállapítottuk, hogy a Mn(III)-sziderofór komplexek stabilitása majdnem megközelíti a Fe(III)-sziderofór komplexek stabilitását, [21] míg a kinetikailag inert Co(III)-komplexeké meg is haladja azt. [22] Ezen utóbbi eredmény felveti annak lehetőségét, hogy Co(III)-sziderofór komplex bevitelével esetleg megzavarható a mikroorganizmusok vasfelvétele.

Félszendvics szerkezetű, fémorganikus platinafézionok és bioligandumok kölcsönhatásának vizsgálata

Egyes ráktípusok terápiájában áttörést jelentett a síknégyzetes geometriájú Pt(II)komplexek alkalmazása. A ciszplatin, $[(\text{NH}_3)_2\text{PtCl}_2]$, mellett napjainkban használt karbo- és oxaliplatin, valamint az újabb generációs oktaéderes Pt(IV)komplexek azonban szűk hatásspektrumúak és számos súlyos mellékhatásuk is ismert.

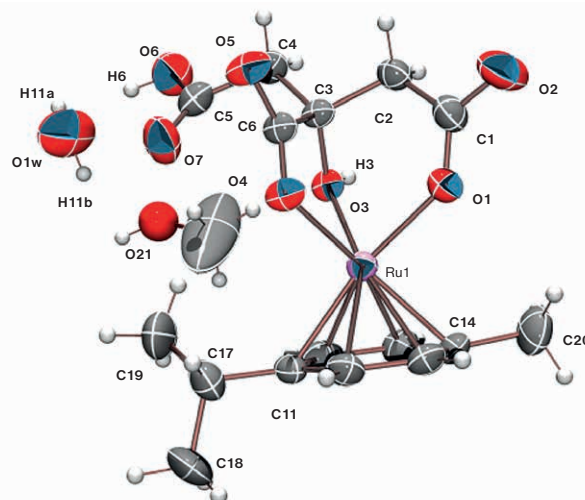
Mintegy három évtizede vált ismertté, hogy oktaéderes Ru(III)-komplexek (NAMI-A, KPI019) ugyancsak ígéretes hatást mutatnak különböző ráksejt vonalakon. Kimutatták, hogy a szervezetben a Ru(II) az aktív forma, továbbá, hogy ez az oxidációs állapot félszendvics szerkezetű, fémorganikus komplexekben is stabilizálható. Az elmúlt években nagyszámú $[(\eta^6\text{-arén})\text{M}(\text{XY})\text{Z}]$ (arén = aromás ligandum; M = Ru(II), Os(II); XY = döntően (N,N)-donor kelátképző, Z = egyfogó ligandum) illetve $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{M}(\text{XY})\text{Z}]$ (Cp* = ciklopentadienil, pentametil-ciklopentadienil anion; M = Rh(III), Ir(III)) összetételű komplexet állítottak elő és vizsgálták biológiai hatásukat. (O,O)-donor típusú kelátképzők komplexeire vonatkozóan azonban csak igen kevés adat volt található az irodalomban; az $[\text{M}(\eta^6\text{-arén})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ típusú kationokra még az oldategyensúlyi vizsgálatokhoz szükséges hidrolízis adatok sem voltak ismertek. Ennek következményeként, a fenti félszendvics szerkezetű komplexek biotranszformációs reakcióira vonatkozó részletes oldategyensúlyi eredmények sem voltak gyakorlatilag megtalálhatók az irodalomban a munkánk megkezdésekor.

A várhatóan antitumor tulajdonságú félszendvics szerkezetű fémionok és a bizonyítottan rákellenes hatású O-donor ligandumok (pl. hidroxámsavak, flavonoidok) egy molekulába építése figyelemre méltó biológiai hatást, szinergizmust is eredményezhet. Emellett, a szervezetben is megtalálható számos hatékony O-donor fémionmegkötő ligandum. Így munkánk során nagyszámú (O,O) illetve (O,O,O) koordinációra képes biomolekula és elsősorban a $[(\eta^6\text{-p-cym})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ ion kölcsönhatását tanulmányoztuk oldat- és szilárd fázisban, valamint vizsgáltuk az O-donor(ok) más típusú donatoratom(ok)ra való cseréjének hatását. Az elmúlt években a területen végzett kutatómunkánk legfontosabb eredményei az alábbiakban foglalhatók össze:

– Felderítettük a modellül választott $[(\eta^6\text{-p-cym})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ ion (*p-cym* = 1-metil-4-izopropil-benzol) hidrolízise során képződő részecskék összetételét és meghatároztuk stabilitási szorzat értékeiket nitrát- és kloridionok jelenlétében, mely alapot képezte minden további oldategyensúlyi vizsgálatnak. A hexahapto-ligandum elektronellátottságának változtatásával az általánosan kialakuló, kétmagvú, hidroxidohidas $\{[(\eta^6\text{-arén})\text{Ru}]_2(\text{m}^2\text{-OH})_3\}^+$ ionok képződési pH-tartománya finomhangolható. A Ru-Os-, illetve Rh-Ir-analóg, félszendvics szerkezetű kationpárok közül az 5d félmiontartalmúak hidrolízisre való hajlama sokkal kifejezettebb. [23,24]

– Az (O,O) koordinációra képes antitumor hatású hidroxamátok, egyes szérumkomponensek (oxalát, laktát) és egyéb, különböző bázicitású donatoratomokat tartalmazó bioligandumok (ciklobután-dikarboxilát, acetilacetónát, szalicilát, maltolát, koját, 3-hidroxi-piridinonát), valamint a $[(\eta^6\text{-p-cym})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ közötti kölcsönhatást vizsgálva megállapítottuk, hogy a fémion koordinációs szférájából két vízmolekulát kizorítva kötődő ligandumok változtatásával finomszabályozható a fémion harmadik koordinációs helyén maradó vízmolekula savassága azért, hogy i) a képződő öttagú (O,O) kelátok stabilabbak, mint a hattagúak és egyidejűleg a vízmolekula deprotonálódása az előbbieken kedvezményezettebb, ii) a kelát mentén kialakuló delokalizáció növeli a komplex stabilitását, iii) a kis bázicitású ligandumok csak savas, míg a nagy bázicitású donatoratomokat tartalmazók lúgos körülmények között is képesek a fémion hidrolízisének megakadályozására (ami inaktív rákellenes tulajdonságú részecskék képződését eredményezheti). [25,26]

– Az (O,O,O) koordinációra képes szérum komponens, a citrát, nagy stabilitású komplexeket képez a fémionnal és képes a hidrolízis teljes visszaszorítására. A hidroxilcsoportot nem tartalmazó trikarballáttal kapott eredmények a citrátion alkoholát-csoportjának a fémionmegkötésben való kulcsszerepét támasztják alá. Az előállított és szilárd fázisban jellemzett semleges komplex röntgendiffrakcióval nyert molekulaszerkezete is a $[\text{COO}^-, \text{COO}^-, \text{OH}]$ kötésmódot igazolta (6. ábra). Maláttal a cit-

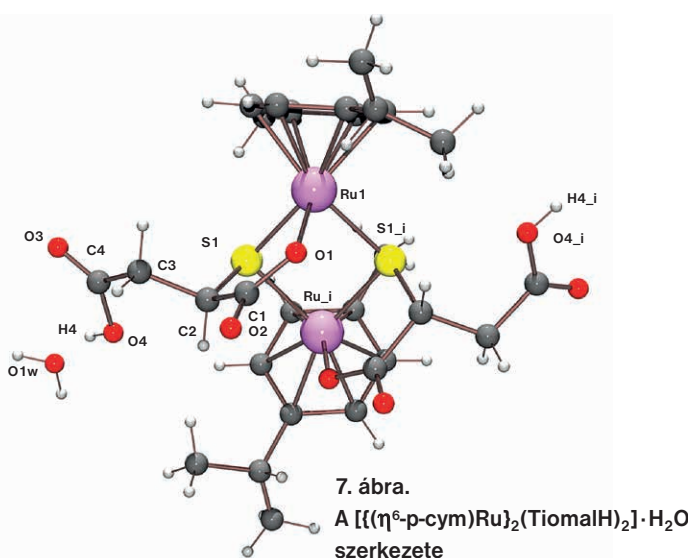




lát kialakítására alkalmas γ -származék is képes az [O,O] kelát mellett kialakuló $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{hidr.}}]$ kötés móddal két fémion megkötésére és ezáltal teljesen megakadályozni a félszendvics szerkezetű ruténiumion hidrolízisét pH = 11-ig. [29]

– Az erősen koordinálódni képes oldalláncot nem tartalmazó aminosavak (alanin) nem képesek megakadályozni a $[(\text{h}^6\text{-p-cym})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ hidrolízisét fiziológias körülmények között, szemben a szerinnel és izoszerinnel, melyek $[\text{COO}^-, \text{NH}_2, \text{O}^-]$ kötés móddal nagy stabilitású komplexeket képeznek a fémionnal, ami az alkoholát csoport részvételével kialakuló csatolt kelátgyűrűknek a fémionmegkötésben való kulcsszerepét igazolja. [30]

– A laktát, malát és tartarát hidroxilcsoportjait SH-ra cserélve megállapítottuk, hogy már a tiolaktát is igen erős kölcsönhatásra képes a fémionnal és széles pH-tartományban (0,8–12,5) kétmagvú $[\text{S}, \text{COO}^-]$ kötés módú részecske van jelen, a nagyméretű tiolát-hídligandumként való koordinációjával. A tiomalát rendszerben az analóg, kétmagvú komplex szerkezetét egykristályröntgendiffrakcióval is igazoltuk (7. ábra). [29]



– A tridentát kötés módra képes tioéter-származékok (metionin, S-metil-cisztein) kiválóan oldódó, széles pH-tartományban stabilis $[\text{S}, \text{NH}_2, \text{COO}^-]$ koordinációjú 1:1 komplexeket képeznek az $[(\text{h}^6\text{-p-cym})\text{M}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ (M = Ru, Os) és $[(\text{h}^5\text{-Cp}^*)\text{M}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ (M = Rh, Ir) fémionokkal. Részletes NMR-vizsgálatok igazolták, hogy a három kiralitáscentrumot (fémion, ligandum a-C, S) tartalmazó komplexek oldataiban epimerizáció történik az S-centrumon és meghatároztuk a képződő epimerok százalékos arányát. [31]

– A fehérjék felületi hisztidil oldalláncát modellező N-metilimidazol, valamint védett His-tartalmú oligopeptidok és az $[(\text{h}^6\text{-p-cym})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kölcsönhatását vizsgálva megállapítottuk, hogy lassú folyamatokban három imidazolil egység részvételével stabilis komplexek képződnek a rendszerekben. [32,33]

Hipoxia-aktivált, várhatóan rákellenes hatású kobalt(III)- és kétfémes komplexek kifejlesztése, szintézise és vizsgálata

Az említett rákellenes hatású, terápiásan alkalmazott platina(II)komplexek szelektivitásának hiányából eredő mellékhatások elvben úgy is csökkenthetők, ha az egészséges és a rákos sejtek/szövetek jellegzetes eltéréseit próbáljuk kihasználni. Ilyen jelenség a hipoxia, vagyis oxigénhiányos állapot, amely a rákos szöveteket jellemezheti. Ez az állapot redukтивabb környezetet jelent, melyben „prodrug” molekulák szelektív redukciójával bio-

lógiai aktivitású hatóanyag keletkezhet. Mivel bizonyos inert kobalt(III)komplexek redukciós potenciálja közel esik a biológiai redoxipotenciál értékéhez hordozóként alkalmasak lehetnek az említett célra azáltal, hogy szelektív redukciójuk során a képződő kis stabilitású, labilis Co(II)komplex disszociációjával elsősorban a hipoxiás rákos szövetekben szabadul fel az antitumor hatású molekula.

Kutatócsoportunkban a közelmúltban kezdődtek el ilyen irányú kutatások, melyek célja egyrészt bizonyítottan rákellenes hatású ligandumok vagy származékaik Co(III)komplexeinek az előállítására és vizsgálata, másrészt olyan ambidentát molekulák kifejlesztése, amelyek a Co(III)ion megkötése mellett egy várhatóan rákellenes hatású platinafém komplexálására is alkalmasak. További célunk a modellmolekulák Co(III)komplexeinek szintézise és redoxisajátságaiak feltérképezése, Co(II)ionnal való kölcsönhatásuk oldategyensúlyi vizsgálata. Ezek a kutatások jelenleg is folynak kutatócsoportunkban.

A Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport elmúlt 10 éves tudományos aktivitását számszerűen a megjelent 96 közlemény és azok 318,8-as össz-impaktfaktora jellemzi. Ezenkívül ez idő alatt egy MTA doktora és 9 PhD-értekezés készült csoportunkban. ●●●

Köszönetnyilvánítás: Kutatásaink anyagi támogatásáért az OTKA/NKFI K76142, K112317, NK105156, K115480, COST CM 1105, TAMOP-4.2.2.A-11/11/KONV-2012-0043, GINOP-2.3.2-15-2016-00008 pályázatoknak tartozunk köszönettel.

IRODALOM

- [1] L. Zékány, I. Nagypál, in „Computational Methods for the Determination of Formation Constants”, ed. D. Leggett, Plenum Press, New York, 1985, 291.
- [2] G. Arena, D. La Mendola, G. Pappalardo, I. Sóvágó, E. Rizzarelli, *Coord. Chem. Rev.* (2012) 256, 2202.
- [3] Á. Grenács, A. Kaluha, C. Kállay, V. Józsa, D. Sanna, I. Sóvágó, *J. Inorg. Biochem.* (2013) 128, 17.
- [4] Á. Grenács, I. Sóvágó, *J. Inorg. Biochem.* (2014) 139, 49.
- [5] G. Di Natale, A. Sinopoli, Á. Grenács, D. Sanna, I. Sóvágó, G. Pappalardo, *New J. Chem.* (2016) 40, 10274.
- [6] S. Timári, R. Cerea, K. Várnagy, *J. Inorg. Biochem.* (2011) 105, 1009.
- [7] E.R. Stadtman, B.S. Berlett, *Drug Metab. Rev.* (1998) 30, 225.
- [8] S.Y. Choi, H.Y. Kwon, O.B. Kwon, W.S. Eum, J.H. Kang, *Biochimie* (2000) 82, 175.
- [9] G. Csire, L. Nagy, K. Várnagy, C. Kállay, *J. Inorg. Biochem.* (2017) 170, 195.
- [10] M. Raics, N. Lihi, A. Laskai, C. Kállay, K. Várnagy, I. Sóvágó, *New J. Chem.* (2016) 40, 5420.
- [11] N. Lihi, D. Sanna, I. Bányai, K. Várnagy, I. Sóvágó, *New J. Chem.* (2017) 41, 1372.
- [12] N. Lihi, Á. Grenács, S. Timári, I. Turi, I. Bányai, I. Sóvágó, K. Várnagy, *New J. Chem.* (2015) 39, 8364.
- [13] A.L. Crumbliss, in „Handbook of Microbial Iron Chelates”, ed. G. Winkelmann, CRC, New York, 1991.
- [14] A.-M. Albrecht-Gary, A.L. Crumbliss, in „Metal Ion in Biological Systems”, vol. 35, ed. A. Sigel, H. Sigel, Marcel Dekker, New York, 1998.
- [15] B. Kurzak, E. Farkas, T. Glowiak, H. Kozłowski, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1991) 163.
- [16] B. Kurzak, H. Kozłowski, E. Farkas, *Coord. Chem. Rev.* (1992) 114, 169.
- [17] E. Farkas, É.A. Enyedy, H. Csóka, *Polyhedron* (1999) 18, 2391.
- [18] E. Farkas, D. Bátka, Z. Pataki, P. Buglyó, M.A. Santos, *Dalton Trans.* (2004) 1248.
- [19] E. Farkas, É.A. Enyedy, I. Fábián, *Inorg. Chem. Commun.* (2003) 6, 131.
- [20] E. Farkas, D. Bátka, G. Krempfer and I. Pócsi, *Inorg. Biochem.* (2008) 102, 1654.
- [21] E. Farkas, O. Szabó, P. L. Parajdi-Losonczi, Gy. Balla, I. Pócsi, *J. Inorg. Biochem.* (2014) 139, 30.
- [22] E. Farkas and O. Szabó, *Inorg. Chim. Acta* (2012) 392, 354.
- [23] L. Bíró, E. Farkas, P. Buglyó, *Dalton Trans.* (2012) 41, 285.
- [24] L. Bíró, A. J. Godó, Zs. Bihari, E. Garrriba, P. Buglyó, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2013) 3090.
- [25] P. Buglyó, E. Farkas, *Dalton Trans.* (2009) 8063.
- [26] L. Bíró, E. Farkas, P. Buglyó, *Dalton Trans.* (2010) 39, 10272.
- [27] L. Bíró, D. Hüse, A. C. Bényei, P. Buglyó, *J. Inorg. Biochem.* (2012) 116, 116.
- [28] D. Hüse, L. Bíró, J. Patalenszki, A. C. Bényei, P. Buglyó, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2014) 5204.
- [29] P. L. Parajdi-Losonczi, A. C. Bényei, É. Kovács, I. Timári, T. R. Muchova, J. Kasparkova, P. Buglyó, *J. Inorg. Biochem.* (2016) 160, 236.
- [30] L. Bíró, E. Balogh, P. Buglyó, *J. Organomet. Chem.* (2013) 734, 61.
- [31] J. Patalenszki, L. Bíró, A. C. Bényei, T. R. Muchova, J. Kasparkova, P. Buglyó, *RSC Advances* (2015) 5, 8094.
- [32] Zs. Bihari, Z. Nagy, P. Buglyó, *J. Organomet. Chem.* (2015) 782, 82.
- [33] Zs. Bihari, V. Ugone, E. Garrriba, N. Lihi, P. Buglyó, *J. Organomet. Chem.* (2016) 823, 116.