



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 fémkomplexek 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 szolgálták 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 évekre 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.



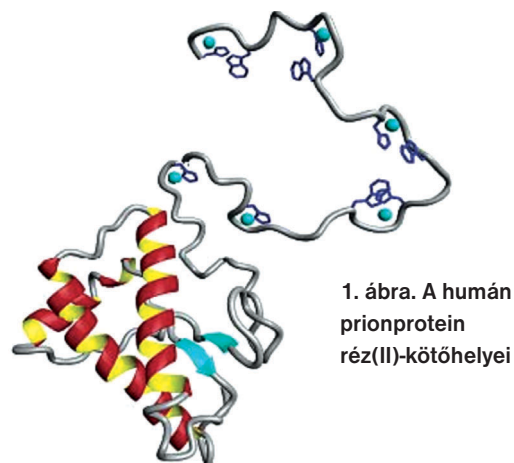
– A kialakult fehérje aggregátumok igen gyakran szokatlanul nagy koncentrációban tartalmaznak egyes – egyébként létfontosságú – nyomelemet (pl. Fe, Cu, Zn).

– 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- $\beta$ -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- $\beta$**  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- $\beta$ (1-16)PEG) végeztük.

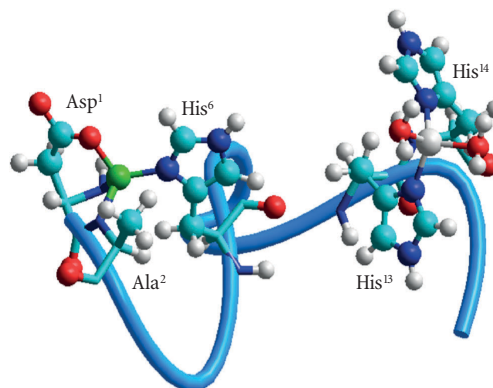
A legfontosabb eredményeinket az alábbiakban foglalhatjuk össze:

– A prionproteinellentétben az amiloid- $\beta$  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- $\beta$ -származékban (amiloid- $\beta$ (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/I)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 szerkezetet, 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)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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.

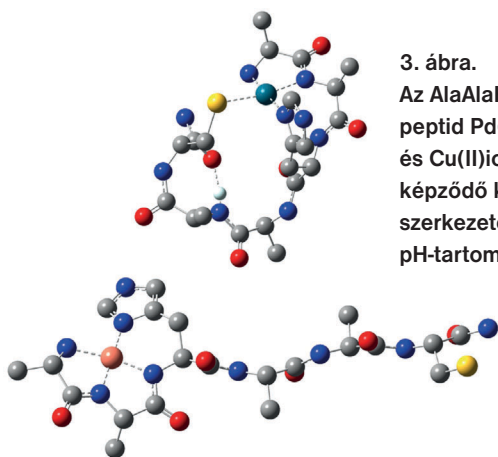
### **Toxikus fémionok szelektív megkötésére alkalmas peptidek szintézise és koordinációs sajátosságai vizsgálata**

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-NH<sub>2</sub> 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-



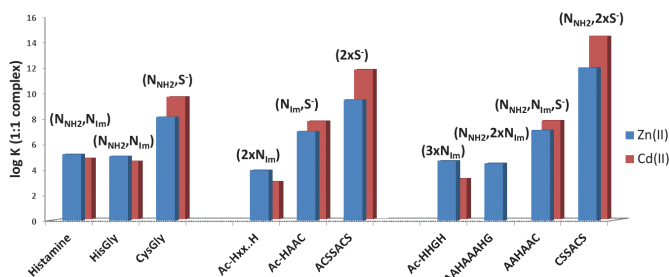
gének deprotonálódását és koordinálódását a savas tartományban (3. ábra). [10,11]



3. ábra. Az AlaAlaHisAlaAlaCys-NH<sub>2</sub> peptid Pd(II)ionnal (fent) és Cu(II)ionnal (lent) képződő komplexeinek szerkezete a semleges pH-tartományban

– Az AlaCysSerSerAlaCysSer-NH<sub>2</sub> peptid kadmium(II)- és cink(II)komplexeiben a két tiolcsoport koordinálja a fémiont 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 fémion esetén a fémion 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

### Hidroxiámsavak fémegkötő sajátosságai

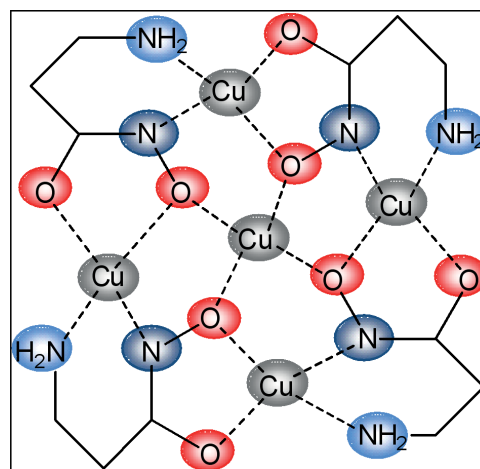
A hidroxiámsavak fémkomplexeire vonatkozó oldategyensúlyi kutatások közel három évtizede kezdődtek a kutatócsoportunkban. A hidroxiámsavak egyrészt a sziderofórok egyik típusaként alapvető szerepet játszanak a mikroorganizmusok vasfelvételében, [13,14] másrészt a magasabb rendű élőlényekben is számos 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 hidroxiámsavcsoport(ok) erős és szelektív fémionegkötő sajátosságaihoz. A kutatócsoportban a kutatások fő célja a különböző molekuláris környezetben **hidroxamát-csoportot tartalmazó modell-ligandumok**, valamint **természe-**

**tes hidroxiámsavak** koordinációs sajátosságainak jellemzése. Ezek ismeretében célunk új enziminhibitorok tervezése, illetve a gyógyászati alkalmazások potenciális lehetőségeinek feltérképezése.

A hidroxiámsavak által kifejtett metalloenzim inhibíció egyértelműen a kompetitív gátlás mechanizmusa szerint értelmezhető, ahol a szubsztrátanalóg inhibitor molekula hidroxamátcsoportja révén az aktív centrumban levő fémionhoz koordinálódik, megátalva ezzel a szubsztrát kapcsolódását. Így az enziminhibíciós hatásban, a szelektív megkötődésben nemcsak a fémionkötő hidroxamátcsoport a meghatározó, hanem azok a molekulárisrészek is, amelyek képesek az enzim alkötőhelyeivel kölcsönhatásba lépni. A vizsgált molekulák a hidroxiámsav csoporton kívül  $\alpha$ - vagy  $\beta$ -helyzetben egy amino- vagy imidazolcsoportot tartalmaztak, illetve a hidroxamát-N is tartalmazhat különböző szubsztituenteket.

Eredményeink alapján általánosan az alábbiak állapíthatók meg:

– Amennyiben az  $\alpha$ - vagy  $\beta$ -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)- $\beta$ -Ala-hidroxiámsav rendszerben a pH 4–9 tartományban kizárólagosan képződő [Cu<sub>5</sub>H<sub>4</sub>L<sub>4</sub>]<sup>2+</sup> összetételű fémkorona komplex (az ábrán az egyszerűsítés kedvéért töltések nem szerepelnek)

A legújabb eredményeink pedig azt is mutatják, hogy a  $\gamma$ -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  $\beta$ -aminosav hidroxiámsav-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 fémionegkötő sajátosságait a fémionok 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.

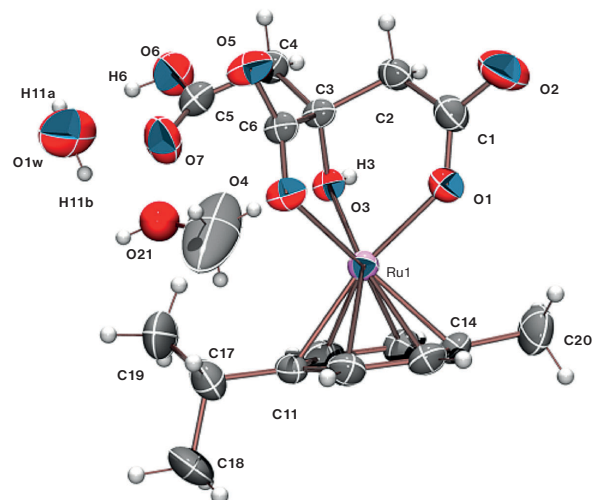
Mintegy három évtizede vált ismertté, hogy oktaéderes Ru(III)-komplexek (NAMI-A, KPI019) ugyancsak ígéretes hatást mutatnak különböző ráksejt vonalakon. Kimutatták, hogy a szervezetben a Ru(II) az aktív forma, továbbá, hogy ez az oxidációs állapot félszendvics szerkezetű, fémorganikus komplexekben is 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  $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{M}(\text{XY})\text{Z}]$  ( $\text{Cp}^*$  = 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 ( $\text{p-cym}$  = 1-metil-4-izopropil-benzol) hidrolízise során képződő részecskék összetételét és meghatároztuk stabilitási szorzat értékeiket nitrát- és kloridionok jelenlétében, mely alját 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 azáltal, 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-



6. ábra. A  $[(\eta^6\text{-p-cym})\text{Ru}(\text{CitrH})] \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{CH}_3\text{OH}$  szerkezete

rátéval megegyező kötésmódú részecskék detektálhatók míg tartaráttal a két alkoholos -OH következtében kötési izomerek jöhetnek létre, nagy stabilitású vízoldható komplexeket eredményezve. [27,28]

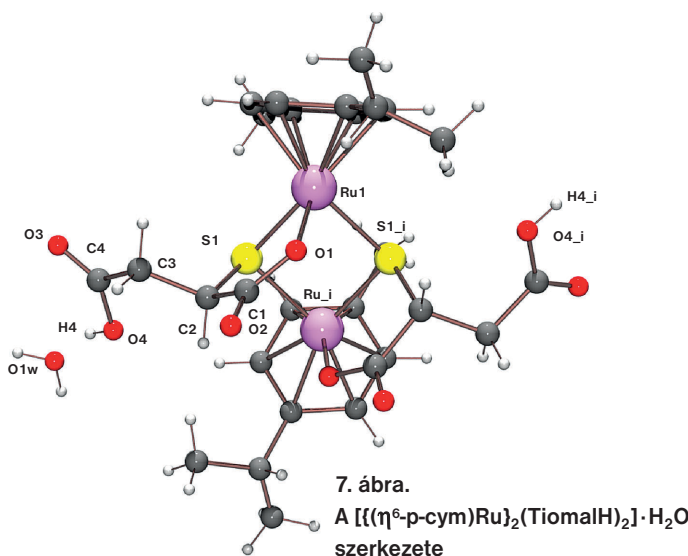
– Az O-donoratom(ok) mellett N-t is tartalmazó  $\alpha$ - $\gamma$ -amino-hidroxamátok közül még a legkisebb stabilitású héttagú [N,N] ke-



lát kialakítására alkalmas  $\gamma$ -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  $\text{pH} = 11$ -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 izoserinnel, melyek  $[\text{COO}^-, \text{NH}_2, \text{O}^-]$  kötés móddal nagy stabilitású komplexeket képeznek a fémionnal, ami az alkohollátsoport 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  $[(\text{h}^6\text{-p-cym})\text{M}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$  ( $\text{M} = \text{Ru}, \text{Os}$ ) és  $[(\text{h}^5\text{-Cp}^*)\text{M}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$  ( $\text{M} = \text{Rh}, \text{Ir}$ ) 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-11/1/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. Fábrián, *Inorg. Chem. Commun.* (2003) 6, 131.
- [20] E. Farkas, D. Bátka, G. Kremper 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.