



Szalán típusú vegyületek átmenetifémionokkal való kölcsönhatása

TDK dolgozat

Szerző: Török Dóra Viktória

Kémia BSc, 3. évfolyam

Témavezető: Dr. Kállay Csilla

Egyetemi docens, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

Lezárva: 2025. január 3.

Az értekezésben használt rövidítések

BuHSS	N,N'-bisz(2-hidroxibenzil-5-szulfonát)-1,4-diaminobután
HexHSS	N,N'-bisz(2-hidroxibenzil-5-szulfonát)-1,6-diaminohexán
HSS	N,N'-bisz(2-hidroxibenzil-5-szulfonát)-1,2-diaminoetán
PentHSS	N,N'-bisz(2-hidroxibenzil-5-szulfonát)-1,5-diaminopentán
PrHSS	N,N'-bisz(2-hidroxibenzil-5-szulfonát)-1,3-diaminopropán
Salpyran	2-(((2-((piridin-2-ilmetil)amino)etil)-amino)metil)fenol
Szalan	N,N'-bisz(2-hidroxibenzil)-1,2-diaminoetán
Szalen	N,N'-bisz(szalicilidén)-1,2-diaminoetán

A dolgozatban szereplő aminosavak egybetűs rövidítésének jelentése

G	Glicin
H	Hisztidin
I	Izoleucin
K	Lizin
M	Metionin
N	Aszparagin
P	Prolin
Q	Glutamin
S	Szerin
T	Treonin
W	Triptofán

Tartalomjegyzék

Az értekezésben használt rövidítések

A dolgozatban szereplő aminosavak egybetűs rövidítésének jelentése

1. Bevezetés	1
2. Irodalmi áttekintés.....	2
2.1. A szalén típusú vegyületek	2
2.2. A szalán típusú vegyületek	3
2.3. A fémionok szerepe a szervezetben	4
2.3.1. A réz biológiai szerepe és koordinációs kémiája	5
2.3.2. A nikkel biológiai szerepe és koordinációs kémiája	5
2.3.3. A cink biológiai szerepe és koordinációs kémiája	5
2.4. A prion protein és a prion betegségek	6
2.5. A peptidek fémionkatalizált oxidációja	7
3. Kísérleti körülmények.....	9
3.1. Felhasznált anyagok	9
3.2. A vizsgált ligandumok	9
3.3. pH-potenciometria.....	10
3.4. UV-látható spektrofotometria.....	11
3.5. Oxidációs vizsgálatok	11
4. Kísérleti eredmények.....	12
4.1. A PentHSS és a HexHSS sav-bázis tulajdonságai	12
4.2. A PentHSS és a HexHSS réz(II)komplexei	13
4.3. A PentHSS és a HexHSS nikkel(II)komplexei.....	20
4.4. A PentHSS és a HexHSS cink(II)komplexei	20
4.5. Oxidációs vizsgálatok	20
5. Összefoglalás	22
Felhasznált irodalom	23
Köszönetnyilvánítás.....	26

1. Bevezetés

A fémionok szerepe a biológiai rendszerekben igen változatos. Az élő szervezetekben számos folyamathoz nélkülözhetetlenek, a szervezetben különböző biomolekulákhoz kötődve fordulnak elő, hiányuk vagy többletük hozzájárulhat különböző betegségek kialakulásához.

Kutatócsoportunkban régóta tanulmányozzák az átmenetifémionok különböző biomolekulákkal való kölcsönhatását. A kutatások célja ezeknek a kölcsönhatásoknak a modellezése, különböző enzimmodellek létrehozása, illetve a fémionok feleslegének eltávolítása.

Az első időszakban ez a komplexképződés oldategyensúlyi vizsgálatát, a stabilitási állandók meghatározását és a képződő komplexek szerkezetének spektroszkópai módszerekkel történő alátámasztását jelentette. Azonban fémionok nem csak a koordinációjuk révén, hanem a reaktív oxigént tartalmazó részecskék képződésének elősegítése kapcsán is kölcsönhatásba lépnek a biomolekulákkal, ezért a vizsgálatokat kiterjesztették a fémionkatalizált oxidáció tanulmányozására is.

Diákköri munkám során a Debreceni Egyetem Fizikai Kémiai Tanszékén előállított szalán típusú ligandumok átmenetifémionokkal való kölcsönhatását tanulmányoztuk és hasonlítottuk össze korábban már vizsgált származékokkal.

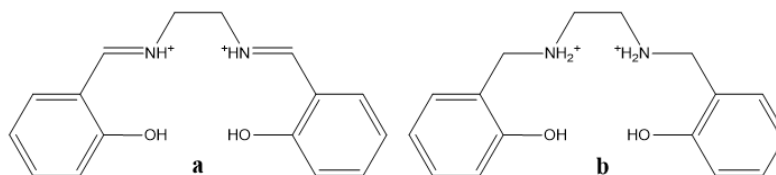
Célunk, hogy meghatározzuk a fémionok és a szalán típusú vegyületek különböző arányú rendszereiben képződő komplexek sztöchiometriáját és szerkezetét. Vizsgáljuk a szerkezet és a fémkomplexek stabilitása közötti összefüggést, és hogy hogyan változik a vegyületek oxidációval szembeni védőhatása az alkiléncsoportok szénatomszámának növekedésével.

Az irodalmi áttekintésben ehhez kapcsolódóan először a szalén és szalán típusú vegyületek jelentőségét, tulajdonságait, komplexképző sajátságait foglalom össze, majd szó lesz a fémionok élő szervezetben betöltött szerepéről, a vizsgált átmenetifémionok koordinációs kémiájáról. A fémionkatalizált oxidációs vizsgálatok során a szalán vegyületek egy prion protein fragmens oxidációjára gyakorolt hatását vizsgáltuk, így ennek irodalmi áttekintése előtt a prion proteinnel kapcsolatos legfontosabb ismereteket is összegzem.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A szalén típusú vegyületek

Szaléneknek nevezzük az N,N-bisz(szalicilidén)etiléndiamin összetételű molekulát, valamint annak különböző származékait. A vegyületek Schiff-bázis típusúak, ezért könnyen előállíthatóak egy aromás szalicilaldehid származék és egy megfelelő diamin kondenzációs reakciójával (1.a ábra).



1. ábra: A szalén (a) és szalán (b) típusú ligandumok

Az egyszerű szintézisük, valamint a széleskörű felhasználhatóságuk okozta a vegyületek elterjedését. A szalén-komplexeket gyakran alkalmazzák a gazdag fotofizikai- és koordinációs kémiai tulajdonságai, valamint biológiai- és katalitikus aktivitásuk miatt: fontos szerepük van az anyagtudományban, a katalízisben, az orvosi biológiában, nanotechnológiában, valamint bioszenzorok gyártásánál is. Ezekre az okokra vezethető vissza, hogy a szalén vegyületek lettek az egyik legszélesebb körben használt ligandumosztály. [1] Az első szalén-komplexet Pfeiffer és munkatársai írták le 1933-ban. [2]

A szalén-vegyületek jó komplexképző tulajdonsággal bírnak. Gyakran stabil komplexeket képeznek a legtöbb átmenetifém többféle oxidációs állapotával is, valamint gyakran a főcsoportokba tartozó fémekhez is képesek koordinálódni, és ezekkel többféle geometriájú komplexet képezni. A koordinációs viselkedése függ a két imin-nitrogén között lévő híd merevségétől és hosszától, ezen okok miatt a vegyületeknél számos változatos szerkezetű komplex képződése megfigyelhető, például egy merevebb csoport jelenlétével a hídban képes négyzetes síkú kötést létrehozni, egy hosszabb szénlánc esetén pedig a tetraédres komplex képződése a preferált. Ez utóbbi megállapításokat a réz(II)ionokkal képzett komplexek vizsgálata közben jegyezték fel. [1]

Habár a szalén típusú vegyületek napjainkban nagyon elterjedtek, és számos területen felhasználhatóak, manapság ezek származékai, a szalán típusú vegyületek is nagy figyelmet élveznek. Ennek egyik oka, hogy a zöld kémia elveinek alkalmazása manapság egyre elterjedtebb, gyakori célja a különböző szerves oldószerek kiküszöbölése a reakcióközegben. Mivel a szalén típusú ligandumok szerves oldószerekben, pl. DMF-ben, acetonitrilben vagy etanolban oldódnak jól és vízben gyakorlatilag oldhatatlanok, így számos kutatócsoport a

céljából tűzte ki ezen vegyületek, komplexek vízzoldhatóvá tételét. Ez egy poláris vagy ionos funkciós csoport beépítésével könnyen elérhető (ilyen lehet például a szulfonát-, a karboxilát- vagy az ammóniumcsoport). [1,3]

A vizes közegben való alkalmazásukat azonban megnehezítette, hogy ezek a vegyületek a bennük található két iminocsoport ($C=N$) miatt hajlamosak a hidrolízisre, különösen a víztartalmú oldószerekben, valamint olyan extrém körülmények között, amik a katalitikus reakciókban is gyakran előfordulnak, ilyen lehet például a magas hőmérséklet vagy bázisok, savak, illetve fémionok jelenléte.

Ez a probléma könnyen kiküszöbölhető a $C=N$ kettőskötések hidrogénezésével. Az iminocsoport redukciója során keletkező aminocsoport már hidrolitikusan stabil, így ezen vegyületek vizes oldatban is gond nélkül alkalmazhatóak, illetve vizsgálhatóak. Ezzel a vegyületek felhasználása szélesebb körben is kiterjeszthető, hiszen a katalitikus reakciókat többféle pH-tartományban is el lehet végezni, a pH-érték pedig egyszerűen savak vagy bázisok hozzáadásával szabályozható. [4]

2.2. A szalán típusú vegyületek

A redukcióval keletkező, már hidrolitikusan stabil vegyületek az N,N' -di(2-hidroxibenzil)etiléndiamin (szalán) (1.b ábra) elnevezésű molekulák. [4]

A szalán típusú vegyületekre (hidrogénezett szalénekre) is jellemző, hogy egyszerűen előállíthatóak, és jó hozammal izolálhatóak. A jobb hidrolitikus stabilitásuk mellett a komplexei is kevésbé merevek, hiszen ezekben a vegyületekben a nitrogénatom már sp^3 hibridállapotban van jelen. Mivel itt a szalén vegyületekre jellemző szén-nitrogén kettőskötés helyett már csak szén-nitrogén egyszeres kötés található, már a ligandumok sem kényszerülnek arra, hogy egy síkban maradjanak, amikor a fémionhoz koordinálódnak, ez a komplex szerkezetét sokkal flexibilisebbé teszi. [5,6]

Komplexbéépítő tulajdonságaikat javítja, hogy ezekben a ligandumokban 4 olyan csoport is jelen van (2 hidroxil- és 2 aminocsoport), amik képesek kovalens vagy koordinált kovalens kötést kialakítani fémionokkal, emiatt jó kelátképző ligandumok. A ligandum tulajdonságai továbbá változtathatóak a csoportok cseréjével, valamint a diaminhid nagyságának megváltoztatásával. [7]

A szalán vegyületek számos fémkomplexét szintetizálták sikeresen, pl. $Cu(II)$ -, $Co(II)$ -, $Ni(II)$ - és $Zn(II)$ -ionokkal. Azonban a $Ni(II)$ - és $Co(II)$ -komplexeknél megfigyelhető volt a jelenség, hogy szerves oldószerben oldva ezen komplexek egyik $C-N$ kötése imin típusú

kettőskötéssé oxidálódhat, vagyis dehidrogénezésen megy keresztül. Ezt a jelenséget a legtöbb Cu(II)-komplexnél nem figyelték meg, ezek a komplexek stabilak maradtak oxigén jelenlétében is. [6]

A szalán vegyületek, a szalénekhez hasonlóan kizárólag szerves oldószerekben oldódnak, viszont poláris vagy ionos szubsztituensek hozzácsatolásával vízdoldhatóvá tehetőek. Mivel a szalán vegyületek már hidrolitikusan is stabilak, így ezeknek a vizes oldatban való használata is elterjedt.

A vízdoldható ligandumok egyik fontosabb csoportját HSS rövidítéssel jelölhetjük, amik a hidrogénezett, szulfonált szalán vegyületeknek felelnek meg. Bunda Szilvia PhD munkája során vizsgálta szulfoszalán ligandumok réz(II)-, nikkel(II)- és palládium(II)ionokkal való komplexképzését. Kimutatta, hogy mindhárom fémionnal kiváló komplexképzők és képesek megakadályozni a hidroxo-komplexek képződését lúgos oldatokban is. Valamennyi fémionnal (O^- , N, N, O^-) csatolt kelátrendszer alakul ki, és a létrejövő komplexek általában axiálisan torzult síknégyszetes geometriával jellemezhetők. [3] A szulfonált szalánnal képzett réz(II)komplexek (HSS) kiváló réz(II)-megkötő képességük mellett katalitikusan is aktívnak bizonyultak többféle reakcióban is, például a Reformatsky- és a Henry-reakciók esetében. Az imin-jellegű rész redukciója miatt azonban a vegyület komplexképződési tulajdonságai nem romlottak, sőt a szalán-jellegű vegyületekből keletkező komplexek nagyobb stabilitással is bírnak. A vegyületeknél továbbá fontos szempont, hogy nem áll fent a toxicitás veszélye sem, ami miatt szintén előnyös lehet a használatuk. [8]

Vizes közegben a fémorganikus katalízist gyakran alkalmazzák különböző biológiai folyamatok tanulmányozására, pl. a biomembránok vizsgálatakor, in vivo képzéskor, valamint nagy szerepet játszik a zöld kémiai folyamatok fejlesztésében. [4,9]

A szalán vegyületeknél már az in vivo és in vitro alkalmazásuk is lehetséges a nagyobb hidrolitikus stabilitásuk miatt, valamint rákellenes készítmények is alkalmasak lehetnek, mivel egyes vegyületeik citotoxikus tulajdonságokat mutatnak. [8]

2.3. A fémionok szerepe a szervezetben

Az emberi szervezetben a fémionok a létfontosságú elemek közé tartoznak, hiszen számos folyamat megfelelő működéséhez elengedhetetlenek. Ilyen fémionok közé tartozik a kálium-, nátrium-, kalcium-, cink- és a magnéziumion. Ezeknek a nem elégséges mennyisége különböző hiánybetegségek kialakulásával járhat.

2.3.1. A réz biológiai szerepe és koordinációs kémiája

A rézkomplexekben a réz oxidációs száma 0 és +4 között fordulhat elő, ezek közül a +2-es, illetve a +1-es állapot a leggyakoribb, az emberben is ilyen állapotokban található meg. A szervezetünk számára létfontosságú elemnek minősül a réz, kb. 100 mg található meg bennünk. [10,11]

A réz jó komplexképző, ezért többnyire komplexeiben fordul elő az élőlényekben is. A Cu(II)-ion már kis pH-n ($\text{pH} = 4-5$) is elősegíti a peptidek, fehérjék amidnitrogénjeinek a deprotonálódását, így ezekkel képes stabilis komplexet alkotni.

Mivel a szervezetben Cu^+ és Cu^{2+} ionok formájában is jelen lehet, így számos biokémiai reakcióban képes részt venni a fehérjékkel való változatos kölcsönhatásának következtében. Ezeknek a funkciója lehet például az oxigénszállítás vagy a redoxi folyamatok katalizálása. A Cu(II)-ion elektronkonfigurációja d^9 , jellemzően 4-es, 5-ös és 6-os koordinációs számmal rendelkezhet, a képződő komplexek szerkezete általában torzult oktaéderes vagy síknégyszetes. A komplexei paramágnesesek és kék, zöld vagy lila színűek lehetnek, ezért a Cu(II)-komplexek UV-látható spektrofotometriával jól vizsgálhatóak. [11,12]

2.3.2. A nikkel biológiai szerepe és koordinációs kémiája

A nikkel az átmeneti fémek közé sorolható, oxidációs száma leggyakrabban 0 és +4 közé esik. +2-es oxidációs állapotában fordul elő leggyakrabban, többek között az élő szervezetekben is. A Ni(II)-ion elektronkonfigurációja d^8 , és a 4, 5 és 6-os koordinációs szám a jellemző rá. Négyes koordinációs szám esetén a komplexei sárga színűek, diamágnesesek és síknégyszetes szerkezetűek. [11]

A nikkel az emberi szervezet számára nélkülözhetetlen fémion, sőt, nagyobb mennyiségben neurotoxikus, karcinogén hatású lehet. A növények és az állatok számára azonban ez is létfontosságú elemnek minősül. [13]

2.3.3. A cink biológiai szerepe és koordinációs kémiája

A cink komplexeiben kizárólag +2-es oxidációs állapottal fordul elő, a koordinációs száma pedig 2-től 8-ig terjedhet. Leggyakrabban tetraéderes vagy oktaéderes szerkezetű komplexeket alkot. A cink, a rézhez hasonlóan az emberi szervezet számára létfontosságú elem, a mennyisége nagyjából 2 g egy emberben. A cinknek többféle szerepe is van: elsősorban enzimek alkotórésze, többek között szerepet játszik a fehérjeszintézisben, valamint különböző metabolikus folyamatokban is.

A cink alacsony mennyisége különböző hiánybetegségeket okozhat, ilyenek például a növekedési zavarok, a hajhullás vagy a különböző bőrproblémák. [11,14]

2.4. A prion protein és a prion betegségek

A prion protein egy 231 aminosavból álló sejtfelületi glikoprotein, ami minden emlőssejtben megtalálható, az emberben több szervben és szövetben is, például a szívben vagy a májban, de elsősorban az idegrendszerben fordul elő. [15,16]

A prion protein szerepe a szervezetben egyelőre tisztázatlan, csak feltételezések állnak a rendelkezésünkre: az egyik kutatás szerint a hosszútávú memóriafolyamatokban van szerepe, mások szerint az oxidatív stressz elleni védekezést segíti elő, de az irodalomban említik, hogy a nagy rézaffinitása miatt akár a rézszállításban is szerepet játszhat. [16-19]

Ha a prion protein a normál állapotában (jelölése: PrP^C) található meg a szervezetben, akkor teljesen ártalmatlan a szervezet számára és nem vezet betegségek kialakulásához. Ekkor a prion protein többségében α -hélix szerkezeteket tartalmaz. Azonban ha a térbeli szerkezete megváltozik, egy új, β -redőkben gazdag konformáció jön létre (jelölése: PrP^{Sc}), ami a különböző neurodegeneratív betegségek kialakulásához vezet. A két konformáció között a különbség, hogy az ártalmatlan PrP^C prion proteint a proteázok képesek lebontani, viszont a betegségeket okozó PrP^{Sc}-t nem. A kóros fehérje ezen felül ellenáll több külső, egyéb betegségek esetén alkalmazott módszernek is, ilyen például az UV-fény, a hő, a kémiai fertőtlenítőszer vagy az ionizáló sugárzás. Ezen felül a PrP^{Sc} képes arra is, hogy sokszorozódjon, és az egészséges szerkezetű fehérjék konformációját is megváltoztassa, egyfajta láncreakciót indukálva. Ezen folyamat során egyre több egészséges fehérje alakul át a káros konformációjúvá, ezek pedig felhalmozódnak az idegsejtekben. Az idegsejtek ennek következményeképp elhalnak. Az idegsejtek halálának következménye, hogy az agy szerkezete megváltozik, és lyukacsos, szivacsos lesz, ez vezet a különböző idegrendszeri betegségek kialakulásához. Ilyenek lehetnek az úgynevezett prion betegségek (pl. a Creutzfeldt-Jakob betegség). [17, 20-22] Az így kialakuló betegségek többsége halálos kimenetelű és szellemi leépüléssel jár. [23]

A fehérje átalakulásának oka egyelőre tisztázatlan, azonban kutatások jelenleg is folynak a témában. Több eredmény is alátámasztja, hogy valószínűleg a konformációváltozáshoz fémekkel való kölcsönhatás is szükséges. [24]

A humán prion protein szerkezete két részre osztható: egy rendezetlen, N-terminális rész, amely körülbelül 100 aminosavból áll, valamint a 125-ös aminosavtól a 228-ig található meg egy α -hélixben gazdag rész.

Az aminosav szekvenciában több kitüntetett rész is megtalálható. Ezek közül a legjellegzetesebb az úgynevezett oktarepeat tartomány, amely a 60-91. aminosavakra jellemző tartomány. Ez egy nyolc aminosavból álló egység, amely négyszer ismétlődik. A szekvenciája a következő: -PHGGGWGQ-. A szekvenciában található hisztidinre jellemző, hogy nagy fémmegkötő sajátsággal rendelkezik, valamint képes a vele kelátképző helyzetben lévő peptidcsoportok deprotonálódását is előidézni, azonban ezt a deprotonálódást a prolin (P) képes gátolni.

A második kitüntetett tartomány a 106-126 aminosavakra terjed ki. Ez neurotoxikus sajátságú, a toxicitása hasonló a prion protein PrP^{Sc} konformációjához. [17, 25]

A harmadik kitüntetett tartomány a pentapeptid rész, amely a 184. aminosavtól a 188-ig terjed, ennek a szekvenciája: -IKQHT-. Mivel itt is található hisztidin, így valószínűsíthető, hogy emiatt lesz a fehérje fémmegkötő képessége kifejezetten jó, és összefüggésben állhat a feltételezéssel, hogy a prion protein feladata a szervezetben a fémion tárolása. [24]

2.5. A peptidek fémionkatalizált oxidációja

A peptidek oxidációjának vizsgálata során bebizonyosodott, hogy a folyamatba a fémionok, valamint a szabad gyökök egyaránt részt vesznek. Ezek a károsodott (oxidálódott) fehérjék keletkezhetnek az oxidatív stressz következményeként, valamint az öregedési folyamatban is. A károsodott fehérjék felhalmozódása különböző betegségek kialakulásához vezethet (pl. Alzheimer-kór, prion betegségek). [26]

A reaktív oxigén gyökök (ROS) elsődleges forrása az élő szervezetekben a H₂O₂, de keletkezhetnek UV- vagy radioaktív sugárzás által, illetve megtalálhatóak a légkörben is. Ezek állandó mennyiségben vannak jelen a szervezetben, sok folyamatban fontos szerepük van (pl. a sejt növekedése, fejlődése, halála folyamán nélkülözhetetlenek). Azonban ezek túlermelődése felelős lehet a fehérjék oxidációjáért. Ilyen gyökök például a •OH, •OOH, O₂^{-•}, NO•.

A fémionkatalizált oxidáció során a fémion képes koordinálódni a fehérjéhez, ez a fémion H₂O₂ jelenlétében redukálódik, ami hatására szabad gyökök keletkeznek, és ezek képesek károsítani a koordinációs szféra közelében lévő aminosavoldalláncoakat. A legnagyobb károsító hatással a hidroxilgyökök rendelkeznek. [27] Az aminosavak oxidációjakor többféle átmeneti termék is keletkezik, de a folyamat végén kialakuló leggyakoribb termékek az α-keto-karbonsavak, az aldehidek, valamint a láncban ammónia és szén-dioxid veszteség is előfordulhat, gyakran a peptidlánc felhasadása is bekövetkezhet. [28,29]

Kutatócsoportunkban több prion protein fragmens fémionkatalizált oxidációját is tanulmányozták. Vizsgálták, hogy az oxidációra érzékeny aminosavak (hisztidin, metionin) peptidláncbeli helyzete, illetve fémionhoz való koordinációja hogyan befolyásolja a peptidek oxidációját. Tanulmányozták különböző védőmolekulák, a gyökfogóként ismert aszkorbinsav és a fémion és peptid közötti kölcsönhatást gyengítő kismolekulák (aróil-hidrazon és szalán-típusú ligandumok) hatását is. Megállapították, hogy ezek a vegyületcsoportok kompetícióba lépnek a fémionokért, így módon védve a vizsgált peptidmodelleket, illetve fehérjéket a különböző betegségek kialakulását okozó oxidációval szemben. [16, 30-34] Egy szalán típusú vegyület, a Salpyran különösen hatékonnak bizonyult, HuPrP(103-112) fragmens oxidációja igen jelentős mértékben visszaszorult. Ez alapján a szalán típusú vegyületek potenciálisan alkalmasak lehetnek különböző neurodegeneratív betegségek elleni gyógyszerek fejlesztésére is, például az Alzheimer-kór ellen. [34] Ez indokolja vizsgálataink kiterjesztését a fémionkatalizált oxidáció tanulmányozására is.

3. Kísérleti körülmények

3.1. Felhasznált anyagok

A pH-potenciometriás titrálásokat kb. $0,2 \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú, karbonátmentes, argon gáz alatt tárolt KOH-oldattal végeztük. A KOH-oldat és a használt HCl-oldat pontos koncentrációjának a meghatározása szintén pH-potenciometriásan történt.

A CuCl_2 , NiCl_2 és ZnCl_2 oldatokat a.l.t. minőségű, a Reanal cég által gyártott vegyszerekből készítettük, a pontos fémionkoncentrációkat gravimetriásan oxinát formájában, a sav-, illetve a lúgkoncentrációkat pedig pH-potenciometriásan határoztuk meg.

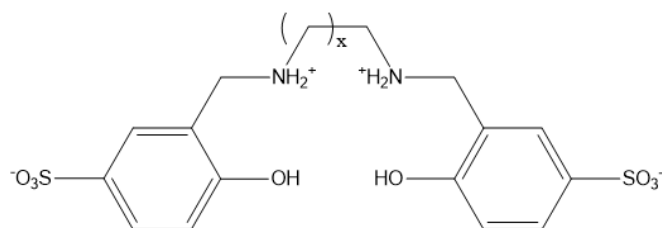
A pH-potenciometriás mérésekhez használt kálium-hidrogén-ftalát, KCl- és KOH-oldatokat szilárd vegyszerekből készítettük, háromszorosan ioncserélt víz felhasználásával.

Az összehasonlításhoz használt Gly₄ peptidet a Bachem, az oxidációs vizsgálatokhoz használt peptidet, a HuPrP(103-112) fragmensét (Ac-SKPKTNMKHM-NH₂, rövidítve: dMKHM) pedig a Synpeptide cégtől vásároltuk.

A HPLC vizsgálatokhoz használt acetonitril a Molar Chemicals Kft.-től származik.

3.2. A vizsgált ligandumok

Az általam vizsgált vegyületeket Dr. Bunda Szilvia állította elő a Debreceni Egyetem Fizikai Kémiai tanszékén. Az általunk vizsgált PentHSS és HexHSS rövidítésű vegyületekből a fent említett, pontosan ismert koncentrációjú KOH-oldatból, valamint háromszor ioncserélt vízből készültek az oldatok. A vizsgált ligandumokon további tisztítást nem végeztünk.



2. ábra: A vizsgált szalán típusú vegyületek általános szerkezete, $x = 1$: *N,N'*-bisz(2-hidroxibenzil-5-szulfonát)-1,2-diaminoetán (rövidítve: HSS), $x = 2$: *N,N'*-bisz(2-hidroxibenzil-5-szulfonát)-1,3-diaminopropán (rövidítve: PrHSS), $x = 3$: *N,N'*-bisz(2-hidroxibenzil-5-szulfonát)-1,4-diaminobután (BuHSS), $x = 4$: *N,N'*-bisz(2-hidroxibenzil-5-szulfonát)-1,5-diaminopentán (rövidítve: PentHSS), $x = 5$: *N,N'*-bisz(2-hidroxibenzil-5-szulfonát)-1,6-diaminohexán (rövidítve: HexHSS)

A munkám során két vegyület vizsgálatát végeztem el: ha a két aminocsoport közötti híd öt metilénecsoporthoz áll, akkor a vegyület rövidítése PentHSS, ha pedig hat szénatomos a két aromás gyűrűt összekötő híd, akkor beszélhetünk a HexHSS vegyületről.

3.3. pH-potenciometria

A pH-potenciometria az egyik legszélesebb körben alkalmazott, legmegbízhatóbb módszer a különböző fémkomplexek összetételének azonosításához, valamint ezen komplexek eloszlásának megállapításához. A módszer segítségével meghatároztuk a PentHSS, illetve HexHSS elnevezésű vegyületek deprotonálódási állandóit, valamint a vizsgált három fém esetén (Cu(II), Ni(II), Zn(II)) a képződő komplexek stabilitási állandóit.

A titrálásokat számítógép által vezérelt Mol-AcS mikrobüretta és MOLSPIN pH-mérő használatával végeztük, melyhez Metrohm 6.0234.100 kombinált üvegelektrodát használtunk.

A méréseinkhez pontosan ismert koncentrációjú (kb. $0,2 \text{ mol/dm}^3$), karbonátmentes kálium-hidroxid oldatot használtunk. A pH-mérő pufferelesét $0,050 \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú kálium-hidrogén-ftalát oldattal végeztük. Ennek a pH-ja pontosan ismert, 298 K hőmérsékleten 4,005. A hőmérsékletet állandóan $25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ -on tartottuk ultratermosztáttal. Az oxigén kizárását argongáz átbuborékoltatásával biztosítottuk, az állandó kevertetést pedig mágneses keverő használatával.

A vizsgált minták ionerősségét KCl-oldat segítségével állítottuk be $0,2 \text{ mol/dm}^3$ -re. Ez biztosította, hogy a mérés során a mintánk ionerőssége állandó maradjon. Ez azért lehetséges, mert ez az ionerősség nagy pontossággal megegyezik a mérőoldat koncentrációjával, de jóval nagyobb, mint a fémion- és a ligandumkoncentráció összege. A diffúziós potenciál kiküszöbölésére az Irving és munkatársai által leírt módszert alkalmaztuk. [35]

A mintánk előkészítéséhez a pontosan meghatározott KOH-oldaton kívül sósavoldatot is alkalmaztunk ($\sim 0,2 \text{ mol/dm}^3$), aminek a pontos koncentrációját a KOH-oldattal határoztuk meg, pH-potenciometriásan. A koncentrációk meghatározását a Gran-féle linearizációval végeztük.

A ligandum kezdeti koncentrációja 2 mM volt. A pontos koncentrációját a SUPERSQUAD program segítségével határoztuk meg. [36]

A ligandumokat háromféle fém/ligandum aránynál is vizsgáltuk, a Cu(II)-ion esetén ezek a következők: 1:1, 3:2, 2:1. A Ni(II)-ion vizsgálatát 1:1, illetve 3:2, a Zn(II)-ion vizsgálatát pedig csak 1:1 arányoknál végeztük el.

A képződő fémkomplexek stabilitási állandóit a PREQUAD [37] program segítségével határoztuk meg, az eloszlási görbéket pedig a MEDUSA [38] nevű számítógépes programmal készítettük.

3.4. UV-látható spektrofotometria

A Cu(II)/ligandum, valamint Ni(II)/ligandum rendszereinket UV-látható spektrofotometriásan is megvizsgáltuk, a korábban felírt arányokkal. A rendszereket vizsgáltuk többféle pH-értéken (pH = 7 és 11,5 esetén), vizsgáltuk a ligandumok koncentrációfüggését ekvimoláris rendszerekben, valamint ugyanezekben a rendszerekben, az előbb megadott pH-értékeken tanulmányoztuk a c_M/c_L függést is.

Az általunk használt készülék a VWR UV-1600PC egysugaras spektrofotométer volt, a mérésekhez 1,000 cm-es kvarc küvettát használtunk. A spektrumokat 300-900 nm hullámhossz tartományban rögzítettük. A kapott spektrumokból következtethettünk a komplexek szerkezetére a sávok elhelyezkedése alapján.

3.5. Oxidációs vizsgálatok

A reakció előrehaladásának és lejátszódásának követésére nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) technikát alkalmaztunk. Az analitikai HPLC Jasco MD-2010 plus diódasoros detektorral van felszerelve. A reakció követésére használt analitikai kolonna paraméterei a következők: Teknokroma Europa Protein (250 mm × 4,6 mm, 300 Å, 5 μm). Elválasztáshoz eluensként (A) vizet és (B) acetonitrilt (ACN) használtunk, amelyek 0,1 % (v/v) TFA-t tartalmaztak. Az áramlási sebesség 1 ml/perc volt. Az elválasztás során gradiens elúciót használtunk: 0-3 perc között az ACN 0% volt, majd 3-9 perc között lineárisan változott 14%-ra, ezt az összetételt a 24. percig tartottuk, majd 6 perc alatt lineárisan csökkent az aránya 0%-ra.

1 cm³ mintát állítottunk össze úgy, hogy a ligandum és a fémion koncentrációja ~1 mmol/dm³ legyen, vagyis a mintánkban a ligandum/Cu(II) arány 1:1 volt mindkét vizsgált ligandum esetén. A vizsgált peptidet is ~1 mmol/dm³ koncentrációban adtuk hozzá a mintákhoz. A vizsgálatokat fiziológiás, 7,4-es pH-n végeztük. Az oxidáció beindításához 1%-os hidrogén-peroxid oldatot készítettünk, ezt négyszeres feleslegben alkalmaztunk. Az oxidáció leállítását ötszörös feleslegben vett Na₂EDTA-oldattal végeztük.

4. Kísérleti eredmények

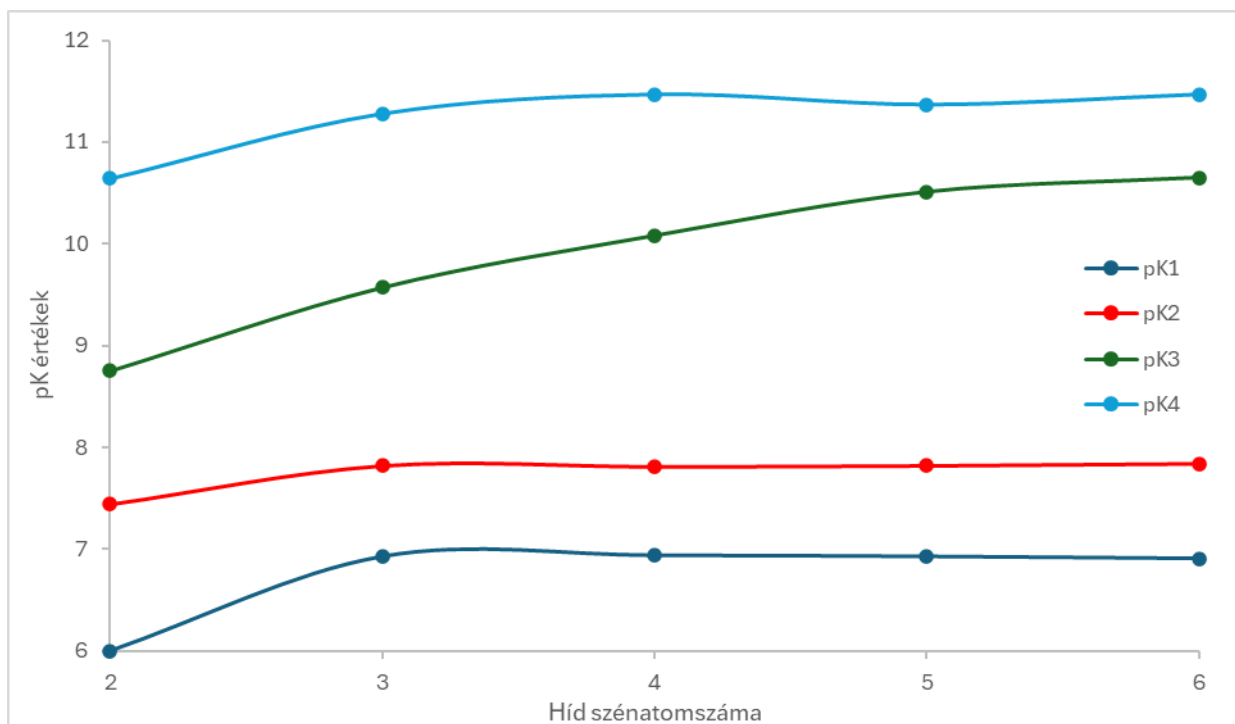
4.1. A PentHSS és a HexHSS sav-bázis tulajdonságai

A két ligandum sav-bázis tulajdonságait pH-potenciometriás mérésekkel vizsgáltuk, ez alapján megállapítható, hogy a vegyületek négy deprotonálódási állandóval jellemezhetőek. A kapott adatokat az 1. táblázatban foglaltuk össze, az összehasonlíthatóság érdekében korábbi mérések adataival együtt. A csoportok deprotonálódási sorrendjét korábban ^{13}C -NMR méréssel állapították meg. Elsőként az egyik szekunder aminocsoport, majd a két fenolos hidroxilcsoport, végül pedig a másik aminocsoport deprotonálódik. A két szulfoniloxicsoprot deprotonálódása $\text{pH} = 2$ alatt következik be, ezért ezek deprotonálódási állandója pH-potenciometriás méréssel nem állapítható meg.

1. táblázat: A vizsgált ligandumok deprotonálódási állandói és a képződő komplexek stabilitási állandói

	HSS [4,8]	PrHSS [4,8]	BuHSS [4,8]	PeHSS	HeHSS
pK₁	6,00	6,93	6,94	6,93(1)	6,91(2)
pK₂	7,44	7,82	7,81	7,82(1)	7,84(2)
pK₃	8,75	9,57	10,08	10,51(1)	10,65(2)
pK₄	10,64	11,28	11,47	11,37(1)	11,47(2)
[CuLH]⁺	24,25	24,82	22,04	20,91(5)	21,13(4)
[CuL]	20,34	18,98	15,70	14,12(4)	13,93(6)
[CuLH₋₁]⁻	–	–	–	2,60(8)	2,27(9)
[NiLH]⁺	18,70	19,07	15,98	16,39(1)	16,57(2)
[NiL]	13,00	12,15	7,89	–	–
[ZnL]	n.a.	n.a.	n.a.	9,47(10)	9,57(7)

Az 1. táblázat adataiból látható, hogy az alkilénecsoprt növekvő méretéből adódóan a fenolos hidroxilcsoportok és az aminocsoportok bázikussága jelentősen megnövekedett, de ez a növekedés nem lineáris (3. ábra). Az első két deprotonálódó csoport (egy amino- és egy hidroxilcsoport) pK értéke a PrHSS vegyülettől már nem változik a szénatomszám függvényében, gyakorlatilag állandósul, a 3. deprotonálódási állandó a PentHSS, a 4. állandó pedig a BuHSS vegyülettől kezdve válik állandóvá.

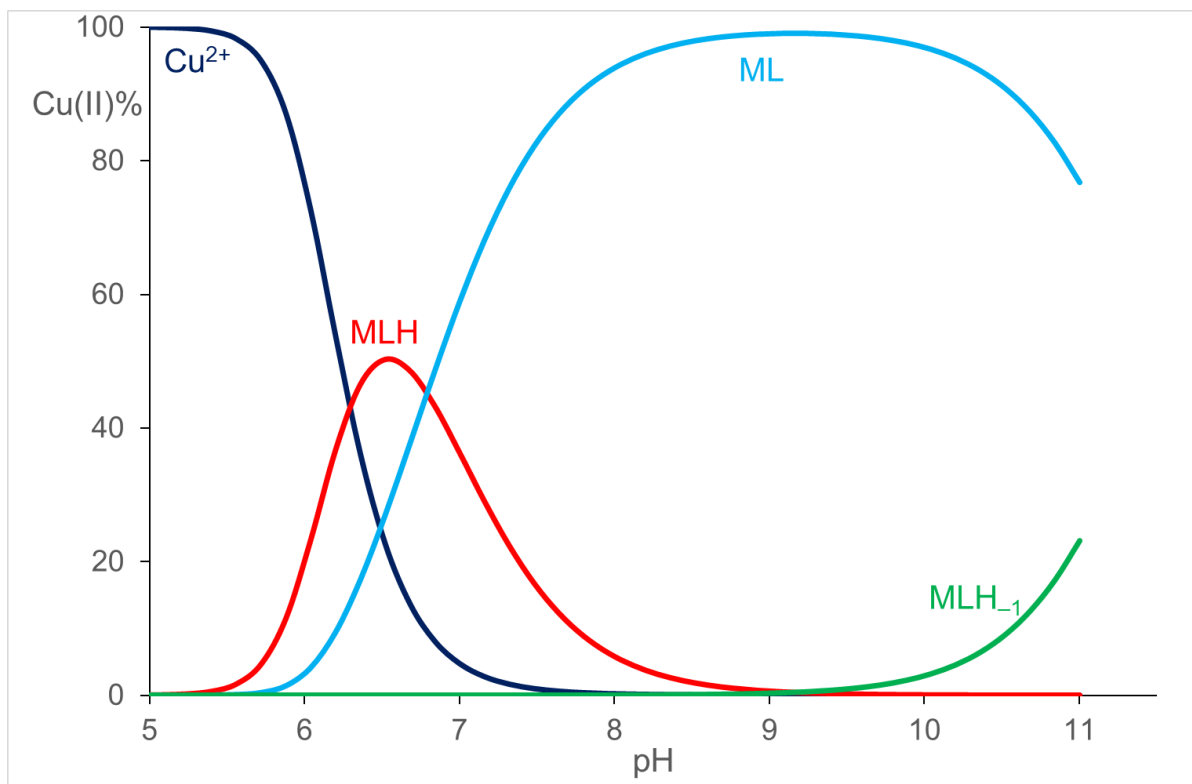


3. ábra: A pK értékek függése az alkilénecsoportok szénatomszámától

4.2. A PentHSS és a HexHSS réz(II)komplexei

A vegyületek komplexképződését több fém/ligandum aránynál is vizsgáltuk, pH-potenciometriás, valamint UV-VIS spektrofotometriás módszerekkel. Az 1:1, illetve 3:2 arányú fém/ligandum rendszerek vizsgálatát gondtalanul el tudtuk végezni, azonban 2:1-es arány esetében már csapadékleválást tapasztaltunk. A képződő csapadék 11-es pH-n sem oldódott fel, így elsősorban az ekvimoláris arányú rendszert vizsgáltuk tovább.

A vizsgálatok alapján az általunk tanulmányozott ligandumoknál háromféle összetételű réz(II)-monokomplex alakulhat ki. A képződő komplexek eloszlását a PentHSS példáján keresztül mutatom be (4. ábra). A komplexképződés valamennyi ligandumnál $[\text{CuLH}]^+$ komplex kialakulásával képződik. Azonban amíg a korábban vizsgált HSS ligandumnál csak 30%-ban, a $[\text{CuL}]$ komplexszel teljes átfedésben képződött, az össze többi vegyületnél 50-80%-ban is jelen van, és a $[\text{CuL}]$ komplex képződése a nagyobb pH tartomány felé tolódik el.



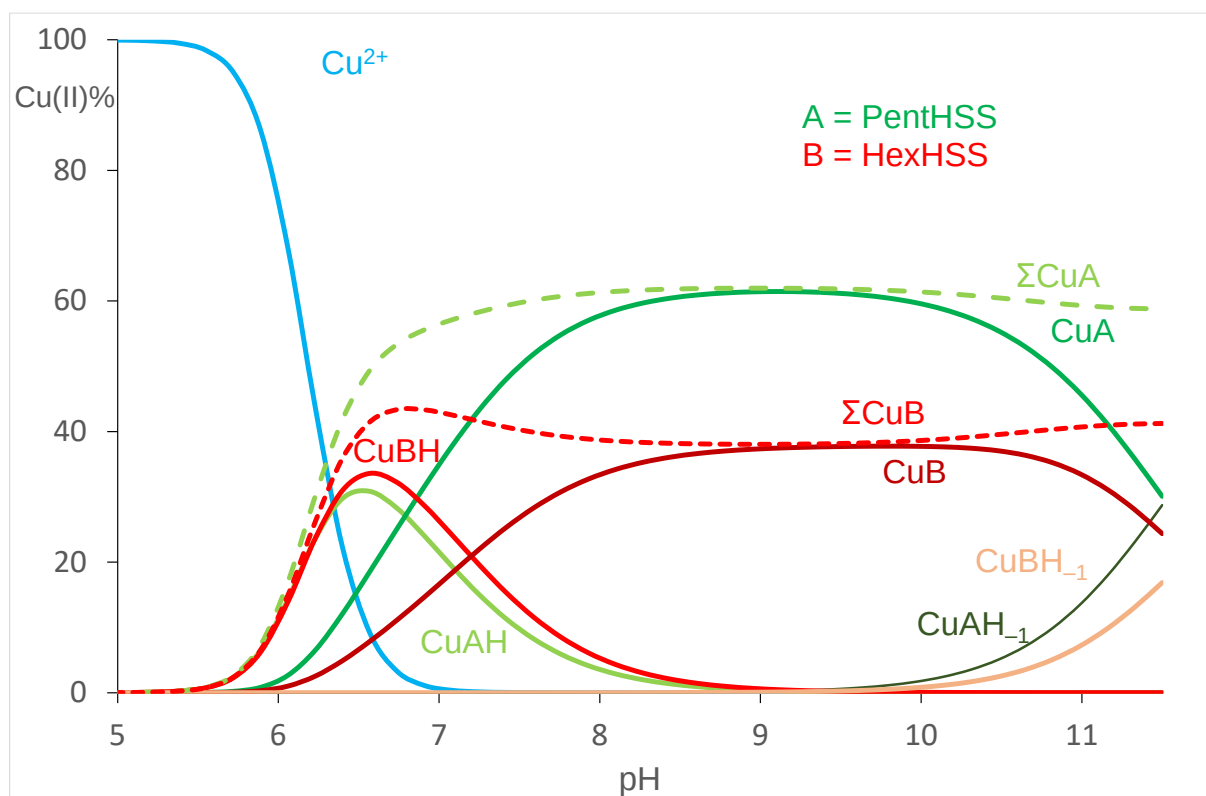
4. ábra: A Cu(II):PentHSS ekvimoláris rendszerben képződő komplexek eloszlása a pH függvényében ($c_{\text{Cu(II)}} = c_L = 2 \text{ mM}$)

A $[\text{CuLH}]^+$ komplexben az egyik nem koordinálódó funkciós csoport még protonált. A deprotonálódási állandók alapján az egyik aminocsoport lenne az. Azonban amíg a kialakuló (6,5), illetve (6,6)-tagú csatolt kelátgyűrűk miatt a HSS és a PrHSS esetén valószínűbb az $(\text{O}^-, \text{N}, \text{N})$ -koordináció, s hogy az egyik fenolos hidroxilcsoport marad protonált, a PentHSS és HexHSS esetén egyre valószínűbbé válhat az $(\text{O}^-, \text{N}, \text{O}^-)$ -koordináció, a korábban megállapított deprotonálódási sorrendnek megfelelően. Ennek a csoportnak a deprotonálódásával és koordinációjával alakul ki a $[\text{CuL}]$ komplex, amely a fő részecske mindegyik ligandumnál.

Az 1. táblázat tartalmazza a képződő komplexek stabilitási állandóit is a különböző vegyületek esetében. A csoportok bázicitása ugyan növekszik az alkilénecsoport növekvő méretének függvényében, de ez nem jelent nagyobb fémmegkötő képességet, a híd szénatomszámának a növekedésével az általunk vizsgált ligandumok réz(II)ionmegkötő képessége csökken.

Ha az öt szalán típusú vegyület fémmegkötő képességét össze szeretnénk hasonlítani, azt tapasztalnánk, hogy a HSS réz(II)ionmegkötő-képessége kiugróan nagy, bármelyik másik ligandummal 1:1:1 arányú rendszerben a rézion gyakorlatilag csak ehhez a ligandumhoz koordinálódik. Az általunk vizsgált két vegyület, a PentHSS és HexHSS réz(II)ionmegkötő-képességét összehasonlítva láthatjuk, hogy pH 7-11 között a fémionmegkötő képesség 60-40%

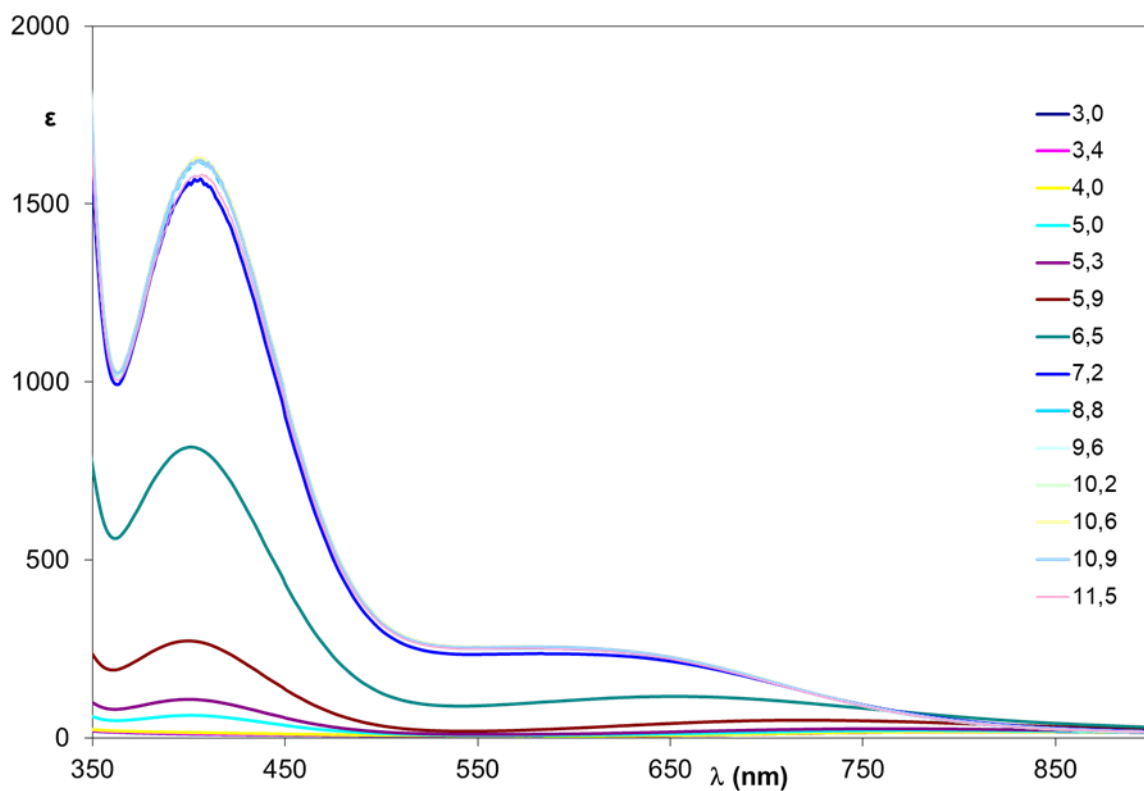
arányban viszonyul egymáshoz (5. ábra). A alkiléncsoport hosszának növekedése még ilyen nagy tagszám esetén is jelentős a stabilitáscsökkenést okoz.



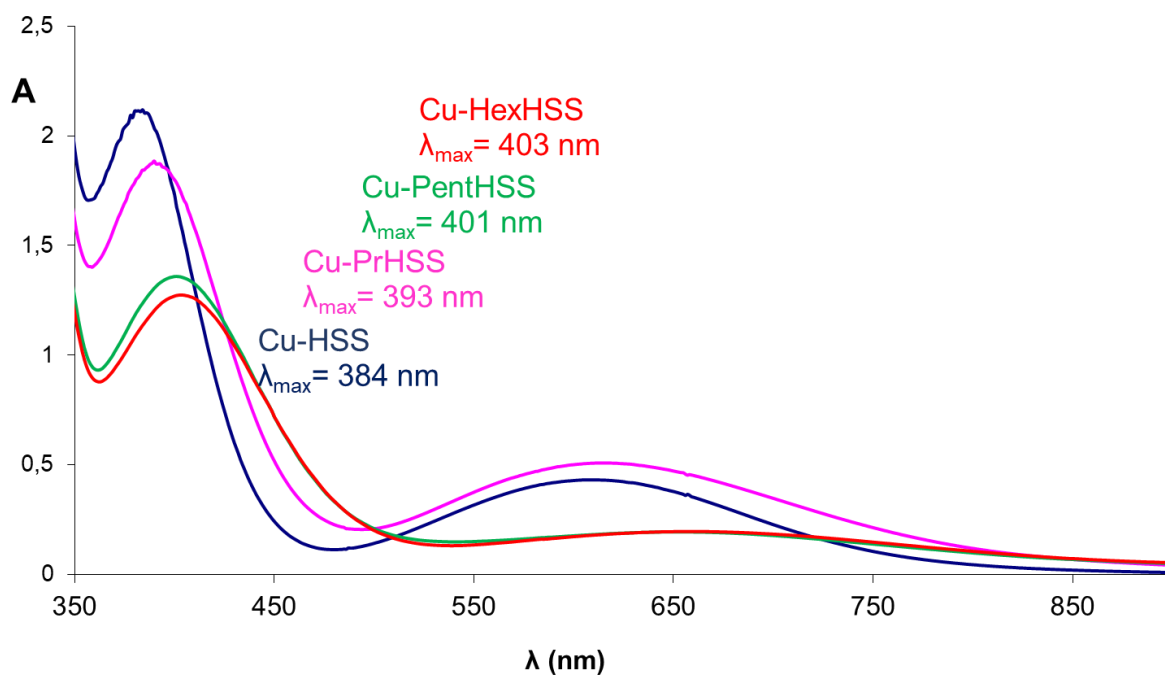
5. ábra: A PentHSS és HexHSS ligandumok réz(II)ionmegkötő-képességének összehasonlítása

$$(c_{\text{Cu(II)}} = c_{\text{PentHSS}} = c_{\text{HexHSS}} = 2 \text{ mM})$$

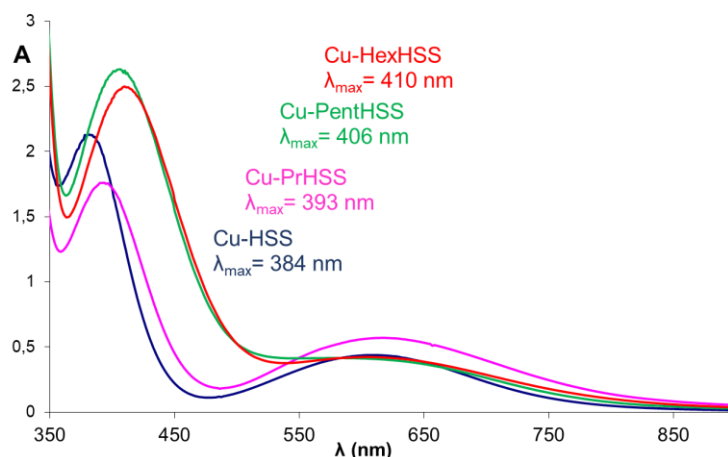
Ez azzal magyarázható, hogy amíg a HSS ligandum esetén a $[\text{CuL}]$ komplexben (6,5,6) tagú kelátgyűrű alakul ki, a PrHSS esetén (6,6,6) tagú, míg nagyobb távolságra levő donoratombok esetén a középső gyűrű tagszáma tovább növekszik, s az így kialakuló komplexek sokkal flexibilisebbek, könnyebben felbomlanak, a 4 donoratombos stabilis komplex képződése egyre kevésbé valószínű. Erre utal az is, hogy a PentHSS és HexHSS ligandumok esetén akár vegyes hidroxokomplex is képződhet. Ennek mennyisége azonban nem számottevő, anélkül leírva a rendszereket az illesztés paramétere kis mértékben romlik, a másik két komplex stabilitási állandója azonban nem változik. A pH-függő UV-látható spektrum első ránézésre nem utal a hidroxokomplexek képződésére (6. ábra), pH 7 felett a spektrum gyakorlatilag állandósul, azonban ha a különböző ligandumok esetén összehasonlítjuk a 6,5-ös (7. ábra) és 11-es pH-n felvett (8. ábra) ekvimoláris spektrumokat, akkor láthatjuk, hogy a HSS-sel és a PrHSS-sel szemben a PentHSS és a HexHSS esetén a lúgos tartományban kismértékű vöröseltolódás figyelhető meg. Ez utalhat a hidroxokomplexek képződésére. A vegyes hidroxokomplex képződése is azt mutatja, hogy a növekvő távolsággal a komplex egyre flexibilisebb, és egyre könnyebben bomlik fel. Az egyik koordinálódó csoport kiszorulása és az OH^- -ionnal való helyettesítése a csatolt kelátrendszer kialakulásának hiányával értelmezhető.



6. ábra: A Cu(II)-PentHSS ekvimoláris rendszer különböző pH-értékeken felvett UV-látható spektrumai ($c_{\text{Cu(II)}} = c_L = 2 \text{ mM}$)

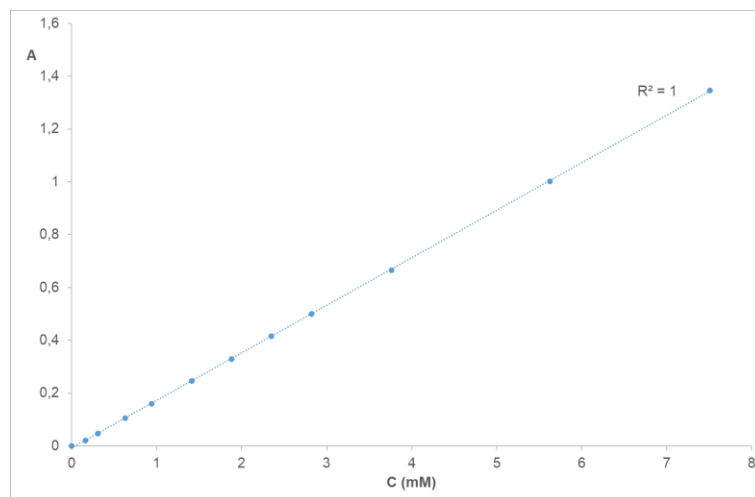


7. ábra: A vizsgált és az összehasonlításához használt réz(II)-szalán rendszerek ekvimoláris oldatában felvett UV-látható spektrumok összehasonlítása ($\text{pH} = 6,5$)

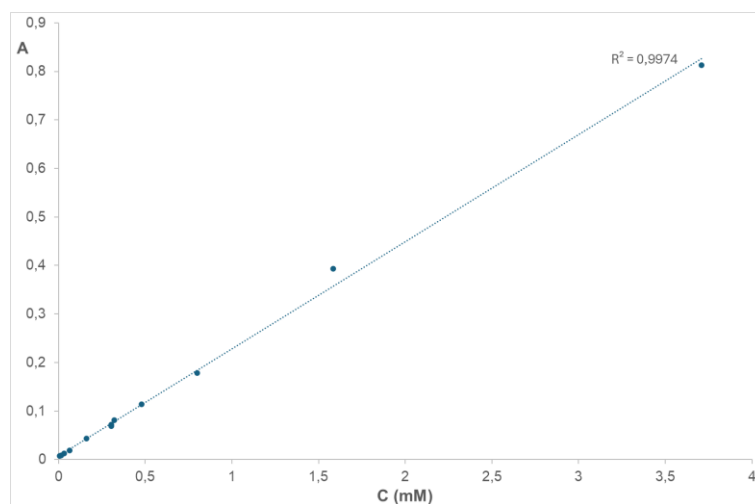


8. ábra: A vizsgált és az összehasonlításhoz használt réz(II)-szalán rendszerek ekvimoláris oldatában felvett UV-látható spektrumok összehasonlítása ($pH = 11,0$)

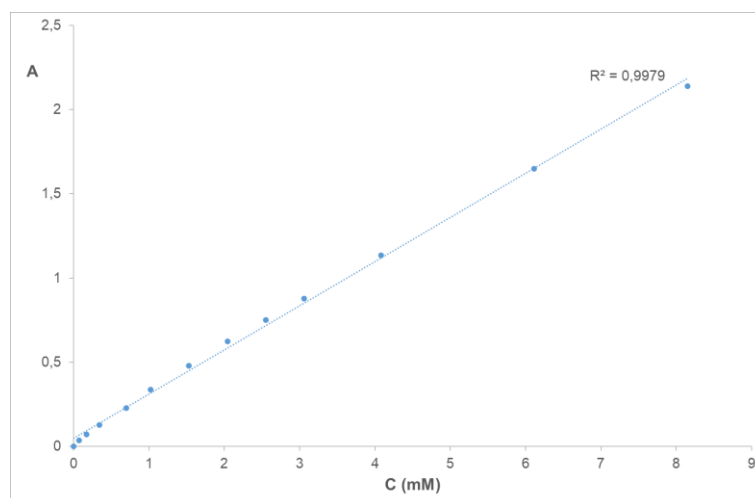
Azonban a két (O,N) egység közötti távolság növekedésével nem zárható ki a dimer szerkezetű komplexek képződése sem. A célunk az volt, hogy megállapítsuk, hogy a képződő komplex monomer (CuL), vagy dimer (Cu_2L_2) sztöchiometriájú. Ehhez az 1:1 arányú $Cu(II)$ /ligandum rendszer koncentrációfüggését tanulmányoztuk, összehasonlításképpen pedig felvettük azonos körülmények között az irodalomban jól leírt réz(II)/tetraglicin 1:1 arányú rendszerének is a spektrumát. Ha a $Cu(II)$ -tetraglicin rendszerben mért abszorbanciát ábrázoljuk a koncentráció függvényében (9. ábra), akkor egy origóba tartó egyenest kapunk, ahol a pontok igen jól illeszkednek az egyenesre ($R^2 = 1$). Azonban az általunk vizsgált ligandumok viselkedése ettől eltért, egyenest nagyobb hibával tudunk illeszteni. 0,5 mM koncentráció alatt a mérési pontok az egyenes alatt helyezkednek el (10-11. ábra). A vizsgált, szalán típusú ligandumokat tartalmazó rendszerekben tehát nem érvényes a Lambert-Beer törvény, a koncentráció növelésével változik a koordinációs mód. Még szembetűnőbb a különbség, ha a képződő komplexek moláris abszorbanciáját ábrázoljuk a koncentráció függvényében (12-14. ábra). A $Cu(II)$ -tetraglicin rendszer esetén 0,2 mM koncentrációtól kezdve az x tengellyel párhuzamos egyenest kaptunk, attól kisebb koncentráció esetén a számolt moláris abszorbanciaérték kisebb. Ami arra utalhat, hogy kisebb koncentráció esetén még nem 100%-ban képződik a megfelelő komplex. Ez megfelel a várakozásunknak, nagyon híg oldatokban még nem teljes a komplexképződés. Ezzel szemben a PentHSS és a HexHSS esetén kis koncentrációknál épp ellenkező a tendencia, lényegesen nagyobb a moláris abszorbancia értéke. Ebből következtethetünk arra, hogy a képződő komplex nem, vagy nem csak monomer formában van jelen a $Cu(II)$ -PentHSS és a $Cu(II)$ -HexHSS rendszerekben. A számított modellben most csak a monokomplexeket tüntettük fel. A dimer komplexek képződésének, az esetleges monomer-dimer egyensúly fennállásának igazolására ESR vizsgálatokat tervezünk.



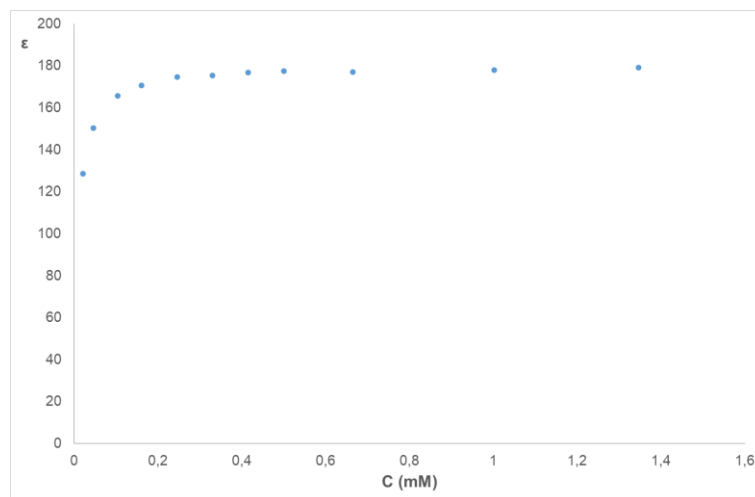
9. ábra: A Cu(II)/tetraglicin 1:1 arányú komplexének abszorbanciája a koncentráció függvényében
($\lambda = 512 \text{ nm}$)



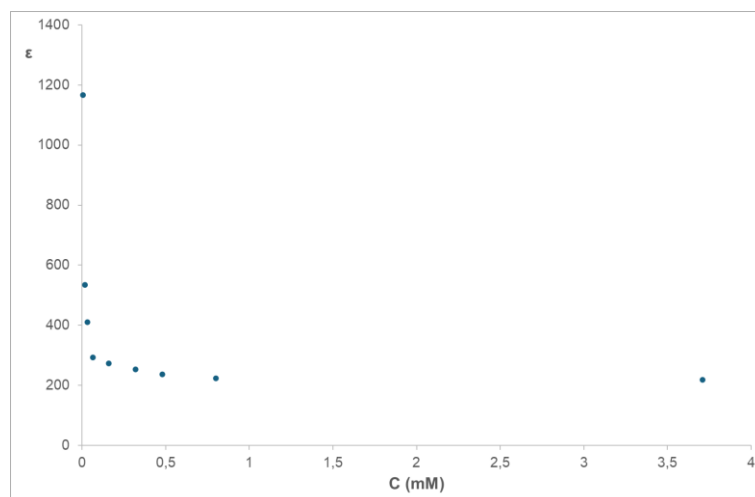
10. ábra: A Cu/PentHSS = 1:1 rendszer 600 nm-en mért abszorbanciája a koncentráció függvényében
($\text{pH} = 11,5$) ($\lambda = 600 \text{ nm}$)



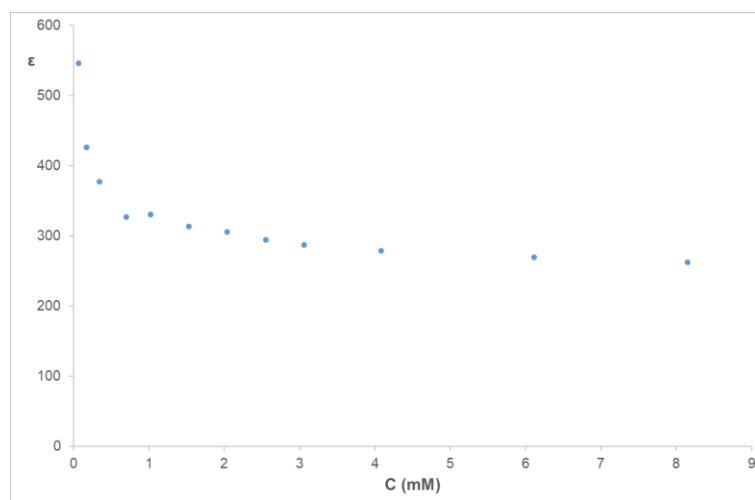
11. ábra: A Cu(II)/HexHSS 1:1 arányú komplex abszorbanciájának függése a koncentrációtól
($\text{pH} = 11,5$) ($\lambda = 600 \text{ nm}$)



12. ábra: A Cu(II)/tetraglicin 1:1 arányú komplexének moláris abszorbanációjának függése a koncentrációtól ($\lambda = 512 \text{ nm}$)



13. ábra: A Cu(II)/PentHSS 1:1 arányú komplexének moláris abszorbanációjának függése a koncentrációtól ($\text{pH} = 11,5$) ($\lambda = 600 \text{ nm}$)



14. ábra: A Cu(II)/HexHSS 1:1 arányú komplex moláris abszorbanációjának függése a koncentrációtól ($\text{pH} = 11,5$) ($\lambda = 600 \text{ nm}$)

4.3. A PentHSS és a HexHSS nikkel(II)komplexei

A vizsgálatokat 1:1 és 3:2 Ni(II)/ligandum arányú rendszerekben is elvégeztük. Az 1. táblázatból látható, hogy az általunk vizsgált ligandumokkal csak $[\text{NiLH}]^+$ összetételű komplex képződik. Ez a komplex az UV-látható spektrum alapján oktaéderes geometriájú. A korábban vizsgált ligandumokkal ellentétben a PentHSS és HexHSS ligandumokkal nem alakul ki $(\text{O}^-, \text{N}, \text{N}, \text{O}^-)$ -koordinációjú, síknégyszetes geometriájú $[\text{NiL}]$ komplex. $\text{pH} = 8,7$ fölött az ekvimoláris és a fémionfelesleget tartalmazó rendszerekben is csapadékkiválás következett be.

A táblázat adataiból az is megállapítható, hogy a $[\text{NiL}]$ komplex stabilitása az első három ligandumnál is drasztikus módon csökken az alkilénecsoport szénatomszámának növekedésével. A csatolt kelátgyűrűk mérete egyre kevésbé kedvez a síknégyszetes geometriájú komplex képződésének. Ezzel szemben az általunk vizsgált rendszerekben kizárólagosan képződő $[\text{NiLH}]^+$ komplex stabilitása a PentHSS és HexHSS ligandumokkal, azok flexibilitásával együtt növekszik.

4.4. A PentHSS és a HexHSS cink(II)komplexei

A ligandumainknak a Zn(II)-ionokkal képzett komplexeit is vizsgáltuk, az előzőekhez hasonló módon (1. táblázat), azonban ebben az esetben nem állt a rendelkezésünkre összehasonlító adat. Ahogy a táblázatban is látszik, az általunk vizsgált ligandumok esetén csak $[\text{ZnL}]^+$ összetételű komplex képződik, aminek a stabilitása lényegesen kisebb, mint a megfelelő réz(II)komplexeké. A cink(II)komplex stabilitása a két ligandum esetén közel azonos. A kialakuló, feltételezhetően $(\text{O}^-, \text{N}, \text{N}, \text{O}^-)$ koordináció nem képes oldatban tartani a cink(II)ionokat, $\text{pH} 8$ körül mindkét rendszerben csapadékképződés volt megfigyelhető már az ekvimoláris oldatban is.

4.5. Oxidációs vizsgálatok

A vizsgálataink a továbbiakban arra terjedtek ki, hogy meghatározzuk, alkalmas-e az általunk vizsgált két szalán típusú ligandum a peptidek fémionkatalizált oxidációjának visszaszorítására, esetleg megakadályozására. A vizsgálatához a HuPrP(103-112) prion protein fragmensét alkalmaztuk. A rendszert $\text{Cu(II):L:dmKHM:H}_2\text{O}_2=1:1:1:4$ arányú rendszerben vizsgáltuk, mindkét szalán típusú ligandum esetén külön-külön. Azt tapasztaltuk, hogy amíg a ligandumokat nem tartalmazó rendszerben 1 óra elteltével csak a peptid 12%-a maradt változatlan formában, addig a PentHSS és HexHSS esetében ez az érték 18%, illetve 20% volt. Ez alapján a mindkét szalán típusú vegyület képes volt visszaszorítani a peptidek

fémionkatalizált oxidációját, a HexHSS vegyület valamivel hatékonyabb védőmolekulának bizonyult. Bár a HSS ligandummal még nem készültek ilyen vizsgálatok, azt azonban érdemes megjegyezni, hogy a kutatócsoportunkban korábban vizsgált, hasonló koordinációs módú szalán típusú vegyületek lényegesen hatékonyabbnak bizonyultak. [34] Ez alapján úgy tűnik, hogy a Cu(II)-ion körüli telített koordinációs szféra igen fontos tényező a peptidek oxidációjának megakadályozására.

5. Összefoglalás

Diákköri munkám során két szalán típusú vegyület (PentHSS és HexHSS) komplexképző tulajdonságait, valamint a peptidek fémionkatalizált oxidációjával szembeni védőhatását tanulmányoztuk. Az eredmények összehasonlítása miatt felhasználtuk több, már korábban vizsgált, az irodalomból jól ismert vegyület eredményeit (HSS, PrHSS, BuHSS).

Az alkilénecsoport szénatomszámának növekvő mérete jellemzően növelte ligandumok bázicitását, azonban ez nem jár a fémionmegkötő-képesség növekedésével. A vegyületek komplexképzést több átmenetifémionnal is tanulmányoztuk. A Ni(II)-komplexek stabilitása drasztikusan csökkent, és az általunk vizsgált rendszerekben csak $[\text{NiLH}]^+$ összetételű komplex jelent meg, míg a kisebb szénatomszámú vegyületeknél a $[\text{NiL}]$ -komplex képződése is bekövetkezett.

A Zn(II)ionok esetén nem állt rendelkezésünkre összehasonlító adat, de az általunk vizsgált két ligandum esetén a keletkező $[\text{ZnL}]$ -komplexek stabilitása közel azonos. A Zn(II)-valamint Ni(II)-ionok esetén csak 1:1 arányú komplexek képződtek, ennél nagyobb ligandumarány esetén csapadék vált le az oldatból.

A Cu(II)ionok esetén $[\text{CuLH}]^+$, $[\text{CuL}]$, valamint $[\text{CuLH}]^-$ -komplexek képződtek az általunk vizsgált ligandumok esetén. Azonban ennél a fémionnál az UV-VIS spektrofotometriás mérésekkel bizonyítottuk, hogy többmagvú és dimer szerkezetű komplexek képződése is kedvezményezett. A vizsgálatok alapján megállapítható, hogy a vizsgált három átmenetifémion közül (Ni(II), Cu(II), Zn(II)) az alkilénecsoport szénatomszámának növekedése egyik komplex kialakulásának sem kedvezett, a szénatomszám növekedése csökkentette a képződő komplexek stabilitását.

A vegyületek védőhatását a peptidek oxidációjával szemben egy human prion protein fragmens esetén a Cu(II)/H₂O₂ rendszerrel tanulmányoztuk. Amíg a ligandumokat nem tartalmazó rendszerekben 1 óra elteltével a HuPrP(103-112) fragmens 12%-a maradt változatlan formában, addig a PentHSS ligandum esetében ez az érték 18%, a HexHSS esetében pedig 20%, vagyis mindkét ligandum képes volt visszaszorítani a peptidek fémionkatalizált oxidációját. Ez a hatás azonban alulmaradt a kutatócsoportunkban korábban vizsgált hasonló koordinációs módú szalán vegyületekkel szemben. Ez alapján az állapítható meg, hogy a védőhatás sokkal hatékonyabb, hogyha a réz(II)ion koordinációs szférája telített, ami a donoratomok közötti rövidebb összekötő hidak esetén valósulhat meg.

Felhasznált irodalom

- [1] A. Erxleben: Transition metal salen complexes in bioinorganic and medicinal chemistry, *Inorg. Chim. Acta.*, (2018), 472, 40–57.
- [2] P. Pfeiffer, E. Breith, E. Lübke, T. Tsumaki: Tricyclische orthokondensierte Nebervalenzringe, (1933), 503, 84-130.
- [3] Bunda Szilvia: Vízoldható tetrahidroszalén komplexek előállítása és egyes katalitikus sajátságai, Egyetemi doktori (PhD) értekezés, Debreceni Egyetem, (2022)
- [4] N. Lihi, S. Bunda, A. Udvardy, F. Joó: Coordination chemistry and catalytic applications of Pd(II)-, and Ni(II)-sulfosalen complexes in aqueous media, *J. Inorg. Biochem.*, (2020), 203, 110945
- [5] M. Purgel, P.P. Fehér, Á.K. Balogh, S. Bunda, F. Joó: Water-mediated formation of hydride derivatives from flexible Pd-salen complexes: A DFT study, *Mol. Catal.*, (2021), 500, 111331
- [6] I. Correia, A. Dornyei, T. Jakusch, F. Avecilla, T. Kiss, J. Costa Pessoa, WaterSoluble Sal2en- and Reduced Sal2en-Type Ligands: Study of Their Cu(II) and Ni(II) Complexes in the Solid State and in Solution, *Eur. J. Inorg. Chem.*, (2006), 14, 2819– 2830.
- [7] D.A. Atwood: Salen complexes of the group 12, 13 and 14 elements, *Coord. Chem. Rev.*, (1997), 165, 267-296.
- [8] J.C. Pessoa, I. Correia: Salan vs. salen metal complexes in catalysis and medicinal applications: virtues and pitfalls, *Coord. Chem. Rev.*, (2019), 388, 227-247.
- [9] S. Bunda, N.V. May, D. Bonczidai-Kelemen, A. Udvardy, H.Y.V. Ching, K. Nys, M. Samanipour, S. Van Doorslaer, F. Joó, N. Lihi: Copper(II) Complexes of Sulfonated Salan Ligands: Thermodynamic and Spectroscopic Features and Applications for Catalysis of the Henry Reaction, *Inorg. Chem.* (2021), 60, 11259–11272
- [10] M.S. Willis, S.A. Monaghan, M.L. Miller, R.W. McKenna, W.D. Perkins: Zinc induced copper deficiency: a report of three cases initially recognized on bone marrow examination, *Am. J. Clin. Pathol.*, (2005), 123, 125-131.
- [11] N.N. Greenwood, A. Earnshaw: Az elemek kémiája, (1999), Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest.
- [12] R.A. Festa, D.J. Thiele: Copper: An essential metal in biology, *Current Biology*, (2011), 21(21), R877–R883.
- [13] X. Song, S.S.F. Kenston, L. Kong, J. Zhao, Molecular mechanisms of nickel induced neurotoxicity and chemoprevention, *Toxicology*, (2017), 392, 47–54.

- [14] K.M. Hambidge, C.E. Casey, N.F. Krebs: Trace Elements in Human and Animal Nutrition (Fifth Edition), (1986), 1-137.
- [15] R. Nafe, C.T. Arendt, E. Hattingen: Human prion diseases and the prion protein - what is the current state of knowledge?, Transl. Neurosci., (2023)
- [16] G. Csire, L. Nagy, K. Várnagy, Cs. Kállay: Copper(II) interaction with the Human Prion 103-112 fragment – Coordination and oxidation, J. Inorg. Biochem, (2017), 170, 195-201.
- [17] D.R. Brown, H. Kozlowski: Biological inorganic and bioinorganic chemistry of neurodegeneration based on prion and Alzheimer diseases, Dalton Transactions, (2004), 1907, 1917.
- [18] A.I. Bush: Metals and neuroscience, Current Opinion in Chemical Biology, (2000), 4, 184-191.
- [19] J. Stöckel, J. Safar, A.C. Wallace, F.E. Cohen, S.B. Prusiner: Prion protein selectively binds copper(II) ions, Biochemistry, (1998), 37, 7185-7193.
- [20] B. Stanley, M.D. Prusiner: Neurodegenerative diseases and prions, The New England Journal of Medicine, (2001), 344, 1516.
- [21] S.B. Prusiner: Prions, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, (1998), 95, 23, 13363-13383.
- [22] R.R. Crichton, R.J. Ward: Metal-Based Neurodegeneration, John Wiley & Sons Ltd., (2006).
- [23] E.D. Belay: Transmissible spongiform encephalopathies in humans, Annu. Rev. Microbiol., (1999), 53:283–314.
- [24] G.L. Millhauser: Accounts of Chem, Res. (2004), 37, 39.
- [25] P.B. Bonomo, D. La Mendola, G. Pappalardo, E. Rizzarelli, I. Sóvágó: Recent Development in Bioinorganic Chemistry: Metal Complexes of Bioactive Molecules, (2006), 133-160.
- [26] G.L. Millhauser: Copper Binding in the Prion Protein, Acc. of Chem. Res., (2004), 37, 2, 79-85.
- [27] K. Barbusinski: Fenton reaction-controversy concerning the chemistry, Ec. Chem. and Eng., (2009), 16, 3, 347-358.
- [28] E.R. Stadtman, B.S. Berlett: Fenton chemistry. Amino acid oxidation, J. Biol. Chem. (1991), 266, 26, 17201-17211.

- [29] S. Fu, S. Gebicki, W. Jessup, J.M. Gebicki, R.T. Dean: Biological fate of amino acid, peptide and protein hydroperoxides, *Biochem. J.*, (1995), 311, 3, 821-827.
- [30] D.S. Cukierman, N. Bodnár, B.N. Evangelista, L. Nagy, C. Griesinger, Cs. Kállay, N.A. Rey: Impact of pyridine-2-carboxaldehyde-derived aroylhydrazones on the copper-catalyzed oxidation of the M112A PrP103-112 mutant fragment, *J. Biol. Inorg. Chem.*, (2019), 8, 1231-1244.
- [31] G. Csire, I. Turi, I. Sóvágó, E. Kárpáti, Cs. Kállay: Complex formation processes and metal ion catalyzed oxidation of model peptides related to the metal binding site of the human prion protein, *J. Inorg. Biochem.*, (2020), 203, 110927.
- [32] N. Bodnár, K. Várnagy, L. Nagy, G. Csire, Cs. Kállay: Ambivalent role of ascorbic acid in the metal-catalyzed oxidation of oligopeptides, *J. Inorg. Biochem.*, (2021), 111510.
- [33] D.S. Cukierman, N. Bodnár, R. Diniz, L. Nagy, Cs. Kállay, N.A. Rey: Full equilibria picture in aqueous binary and ternary systems involving copper(II), 1-methylimidazole-containing hydrazonic ligands and the 103-112 human prion protein fragment, *Inorg. Chem.*, (2022), 61, 723-737.
- [34] J. Devonport, N. Bodnár, A. McGown, M.B. Maina, K.C. Serpell, Cs. Kállay, J. Spencer, G.E. Kostakis: Salpyran: A Cu(II) Selective Chelator with Therapeutic Potential, (2021), 60, 15310-15320.
- [35] H. Irving, G. Miles, L.D. Pettit: Irving, *Anal. Chim. Acta.*, (1967), 38, 475-488.
- [36] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca: SUPERQUAD, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1985) 1195–1200.
- [37] L. Zékány, I. Nagypál: Computational Methods for the Determination of Stability Constants, ed. D. J. Leggett, Plenum Press, New York, 1985.
- [38] I. Puigdomenech: Hydra/Medusa Chemical Equilibrium Database and Plotting Software. (32 bit vers.); KTH Royal Institute of Technology: Stockholm, Sweden, (2004).

Köszönetnyilvánítás

A Kulturális és Innovációs Minisztérium EKÖP-24-1 kódszámú Egyetemi Kutatói Ösztöndíj Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.

