

## Szakmai záróbeszámoló (OTKA T046366)

**A pályázat címe:** Új, funkcionális peptidszarmazékok előállítása és oldategyensúlyi vizsgálata

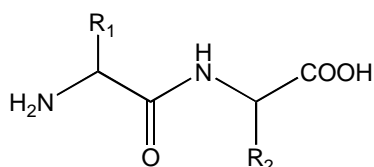
**Témavezető:** Dr. Buglyó Péter egyetemi docens

**A pályázat futamideje:** 2004. január 1. – 2007. december 31.

### 1. Bevezetés

Az oligopeptideket és fémionokat tartalmazó rendszerek többek között metalloenzimek egyszerű szerkezeti modelljei lehetnek, vizsgálatuk pedig értékes információkat szolgáltat az enzim aktív centrumában található fémion és a közvetlen környezetében elhelyezkedő donoratomok közötti kölcsönhatásról.

Valamely egyszerű oligopeptid terminális amino- és/vagy karboxilátcsoportjával képes egy fémionhoz koordinálódni. Ezek a funkciós csoportok még a dipeptidekben is (1. ábra) egymáshoz képest olyan távolságra találhatóak, hogy ugyanazon fémionhoz csak akkor tudnak kötődni, ha a peptidcsoport is részt vesz a koordinációban. A peptidcsoport viszont csak a peptidamid deprotonálódását követően képes stabilis koordinatív kötés kialakítására. Az előbbiekhöz képest változhat a kölcsönhatás erőssége, a fémionok preferencia sorrendje, ha a peptid oldalláncában további, koordinációra képes donoratomok találhatóak, vagy átalakításra kerülnek a terminális csoportok, pl. a karboxilcsoport hidroxámsavvá történő ceréjével. Az így kapott peptidhidroxámsavak fémionmegkötő képessége a peptidekéhez képest, különösképpen a hard sajátságú fémionok irányában nő meg igen jelentősen.



1. ábra

A vas(III)ion és a hidroxámsavak közötti kölcsönhatás fontos szerepet játszik számos alacsonyabb rendű élőlény vas-anyagcseréjében; ilyen típusú ligandumok alkotják az ún. sziderofórok egyik családját [1]. A hidroxámsavak mint enziminhibítorok ugyancsak jól ismertek [2]. Ez a hatásuk szintén a nagy stabilitású fémion-ligandum komplex képződésén alapszik, amely során az enzim aktív centrumában található fémion blokkolása történik. Egy enzim és az azt inhibeáló hidroxámsav kölcsönhatása azonban nem csak a komplexképződésre korlátozódik, hanem a fehérje és az inhibítor közötti egyéb, másodlagos kölcsönhatások is nagyon fontosak. Ílymódon a hidroxámsavcsoporthoz kapcsolt peptidlánc változtatása révén várható a metalloenzim-inhibítor kölcsönhatás szelektívebbé válása.

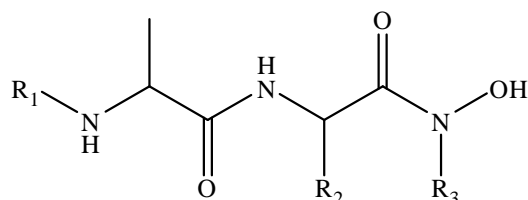
Mindezek indokolták olyan új peptidszarmazékok előállítását, amelyekben a terminális karboxilcsoport helyett hidroxámcsoport található. Célkitűzésünk volt az is, hogy részletesen megvizsgáljuk azt, hogy a peptidhidroxámsavak különböző molekuláriszleteinek változtatása a fémiontól és a pH-tól függően hogyan befolyásolja a fémionmegkötő tulajdonságaikat.

### 2. Eredmények és értelmezésük

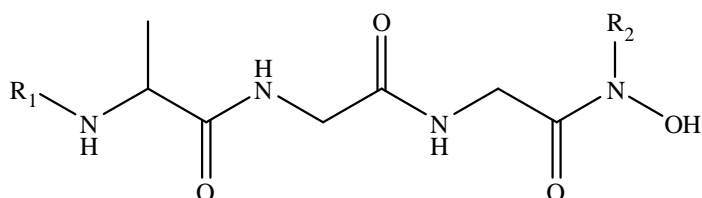
#### 2.1. Az új ligandumok előállítása

A Debreceni Egyetem Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoportjában hosszú ideje eredményesen folyó oldategyensúlyi kutatómunka az utóbbi években szintetikus háttérrel egészült ki a jelen pályázat témavezetőjének a tevékenysége révén. Laboratóriumunkban a pályázat kezdetére lényegében megteremtettük a ligandumok előállításához szükséges, víz- és oxigénmentes reakciókörülményeket biztosító infrastuktúrát (vákuum-line, száraz oldószerek előállítására és tárolására alkalmas készülékek, Schlenk edényzet). A kutatás munkatervének megfelelően megvizsgáltuk egyszerű peptid-hidroxámsavak előállításának különböző lehetőségeit és

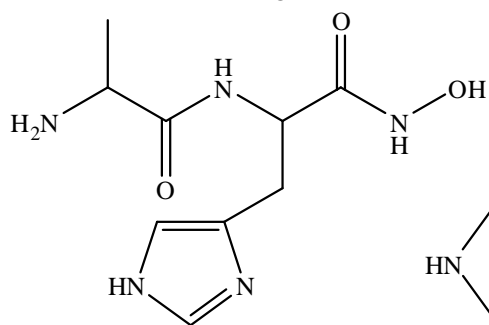
optimalizáltuk azokat. A modellül választott GlyGly egység helyett – annak nem megfelelő oldékonysága miatt – AlaAla és AlaSer dipeptideket tartalmazó ligandumokat szintetizáltunk. Az találtuk, hogy oldószerül száraz metanolt használva, az N-terminuson védett dipeptid metilészter és hidroxilamin közötti reakcióban jó hozamban képződik a hidroxámsav. A nyerstermék metanol-víz elegyből való átkristályosítása tiszta peptidhidroxámsavat eredményezett. A primer Z-védett (Z = benziloxikarbonil) dipeptidhidroxámsavaktól eltérően azok szekunder (N-metil) származékait extrakció után sikerült tisztán izolálni a reakcióelegyekekből. Az AlaGlyGly primer és szekunder hidroxámsav származékát pedig Z-AlaGlyGly-ből kiindulva, a köztitermékként előállított Z-AlaGlyGly-OSucc és a megfelelő szabad hidroxilamin reakciójával nyertük. A Z védőcsoport eltávolítása valamennyi esetben a Pd/C jelenlétében végzett hidrogénezéssel történt metanolos HCl jelenlétében. Az oldalláncban erősen koordinálódni képes donorcsoportot tartalmazó di- és tripeptidek primer hidroxámsavszármazékai közül az AlaHisNHOH, HisAlaNHOH és AlaAlaHisNHOH ligandumok szilárd fázisú peptidszintézissel, Wang gyártmányú hidroxilamin gyanta felhasználásával, majd a nyerstermék preparatív HPLC módszerrel való tisztításával kerültek előállításra nemzetközi együttműködés keretében. A ligandumok tisztaságát TLC, <sup>1</sup>H-NMR, ESI-MS és pH-potenciometrás módszerekkel ellenőriztük. A pályázat keretében összesen 15 új peptidhidroxámsav előállítása és oldategyensúlyi vizsgálata történt meg (2. ábra).



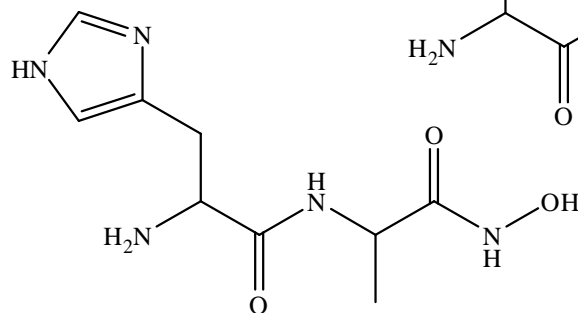
R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Elnevezés
Z	CH <sub>3</sub>	H	<b>Z-AlaAlaNHOH</b>
Z	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	<b>Z-AlaAlaN(Me)OH</b>
Z	CH <sub>2</sub> OH	H	<b>Z-AlaSerNHOH</b>
Z	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>	<b>Z-AlaSerN(Me)OH</b>
H	CH <sub>3</sub>	H	<b>AlaAlaNHOH</b>
H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	<b>AlaAlaN(Me)OH</b>
H	CH <sub>2</sub> OH	H	<b>AlaSerNHOH</b>
H	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>	<b>AlaSerN(Me)OH</b>



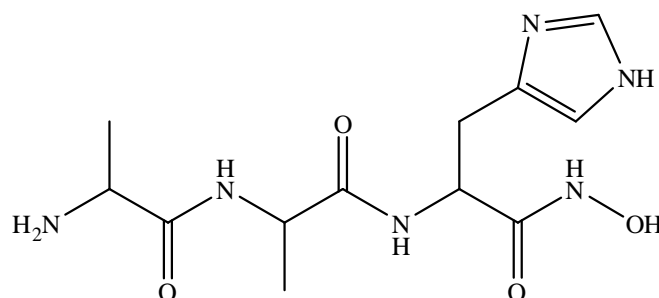
R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Elnevezés
Z	H	<b>Z-AlaGlyGlyNHOH</b>
Z	CH <sub>3</sub>	<b>Z-AlaGlyGlyN(Me)OH</b>
H	H	<b>AlaGlyGlyNHOH</b>
H	CH <sub>3</sub>	<b>AlaGlyGlyN(Me)OH</b>



**AlaHisNHOH**



**HisAlaNHOH**



**AlaAlaHisNHOH**

2. ábra

## 2.2. Az előállított ligandumok fémkomplexei: oldategyensúlyi vizsgálatok

### 2.2.1. Kísérleti módszerek

Az oldategyensúlyi vizsgálatainkhoz döntően pH-potenciometriát alkalmaztunk. A titrálási görbék lehetőséget teremtettek a ligandumok protonálódási állandóinak számítására és a belőlük készített törzsoldatok pontos koncentrációjának a meghatározására, illetve a fémiont is tartalmazó rendszerekben a képződő asszociátumok stabilitási szorzat értékeinek a számítására. Munkánk során a ligandumok Fe(III), Cu(II), Ni(II), Zn(II), Al(III) és Mo(VI) komplexeit tanulmányoztuk valamint részletes megvizsgáltuk a VO(IV)ion és hidroxámsavak közötti redoxireakciót is. Az oldatbeli komplexek legvalószínűbb szerkezetének a meghatározására – az adott fémiontól függően – UV-látható spektrofotometriát, ESR-t, CD-t továbbá <sup>1</sup>H-NMR módszereket vontunk be vizsgálatainkba.

### 2.2.2. Egyszerű dipeptidok primer hidroxámsav származékainak fémkomplexei

Az előállított **H-AlaAlaNHOH** és **H-AlaSerNHOH** fémionmegkötő tulajdonságait Fe<sup>3+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> és Zn<sup>2+</sup>-ionokkal tanulmányoztuk. Meghatároztuk a képződő komplexek stabilitási szorzat értékeit és javaslatot tettünk legvalószínűbb oldatszerkezetükre. A terminális aminocsoport fémionmegkötésben játszott szerepének a tisztázására a megfelelő Z-védett intermedier ligandumokat (**Z-AlaAlaNHOH** és **Z-AlaSerNHOH**) is bevontuk a vizsgálatainkba. Oldategyensúlyi eredményeink az alábbiakban foglalhatók össze:

Meghatároztuk a fenti négy ligandum protonálódási állandóit. A védőcsoportot nem tartalmazó peptidhidroxámsavak átfedő protonálódási folyamatai miatt ezen rendszerekben a mikroállandókat is kiszámítottuk a megfelelő protonok kémiai eltolódás értékeinek pD függése alapján.

A **vas(III)** rendszerekben valamennyi ligandum hidroxamát oxigéneken keresztüli koordinációját azonosítottuk már pH = 2.0 alatt. Az így kialakuló MAH illetve MA összetételű (Z-ligandumok) komplexek stabilitási szorzat értékeit ezért spektrofotometriás mérésekből határoztuk meg és felhasználtuk a pH-potenciometriás adatok értékeléséhez. Ligandumfelesleg esetén a pH növelésével 1:2 és 1:3 összetételű komplexek képződését majd a fémion hidrolízisét mutattuk ki. A nem védett és a Z-peptidhidroxámsav rendszerekben számolt állandók összevetése azt mutatta, hogy utóbbiak kissé jobb ligandumai a fémionnak. Ezt a Z-ligandumokkal képzett komplexek kompaktabb szerkezetével és a láncvégi -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> csoport(ok) hiányával értelmeztük. Az AlaSer egységet tartalmazó ligandumokkal az alkoholos OH-csoport szerepe nem volt kimutatható.

Az **alumínium(III)ion** esetén 1:1 és 1:2 törzskomplexek illetve vegyes hidroxokomplexek feltételezésével voltak illeszthetők a H-AlaAlaNHOH és H-AlaSerNHOH rendszerekbeli titrálási görbék, míg MA és vegyes hidroxokomplexek képződését detektáltuk a Z-ligandumokkal. A pH további emelésekor, a fémion erős hidrolízise miatt csapadékképződés következett be.

A **cink(II)** rendszerekben a H- és Z-ligandumok eltérő viselkedése mutatta a H-AlaAlaNHOH és H-AlaSerNHOH ambidentát tulajdonságát. Amíg a csak (O,O) koordinációra képes Z-hidroxámsavakkal csak 1:1 összetételű részecskék képződtek és csapadékkiválás történt, addig a szabad aminocsoportot is tartalmazó H-ligandumok a fémiont nagyobb pH-ig voltak képesek oldatban tartani. <sup>1</sup>H-NMR méréseink azt igazolták, hogy a H-AlaAlaNHOH és H-AlaSerNHOH rendszerekben (O,O) és (NH<sub>2</sub>, O) koordinációjú kötési izomerek is jelen vannak. Két ekvivalens fémiont azonban ezek a ligandumok sem voltak képesek megkötni.

**Réz(II)ionnal** a Z-ligandum rendszerekben nem lehetett stabilitási állandókat meghatározni, mert már pH = 3.0 felett csapadékkiválás történt, a megfelelő a kis oldékonyságú, semleges CuA<sub>2</sub> részecskék képződtek. A H-AlaAlaNHOH és H-AlaSerNHOH ligandumok erős kölcsönhatásra voltak képesek a fémionnal. A spektrális (UV-VIS, ESR) eredmények azt mutatták, hogy savas pH-n (O,O) kötémódú komplexek vannak jelen, majd a pH növelésével a ligandumok (NH<sub>2</sub>, N<sub>amid</sub>, N<sub>hidr</sub>, H<sub>2</sub>O) koordinációjú komplexeket képeznek. Fémion feleslegnél hárommagvú részecskék

jelentős képződése is kimutatható volt. Ezen  $\text{Cu}_3\text{A}_2\text{H}_x$  ( $x = 4-6$ ) összetételű komplexekben egy harmadik rézion köt össze két nitrogéneken keresztüli kordinációjú egységet azok szabad hidroxamát oxigénjeihez kapcsolódva.

A **Ni(II)ion** is csak gyenge kölcsönhatásra volt képes a Z-ligandumokkal: a nem preferált (O,O) kötésmódú MA komplex képződését csapadékkiválás követte a pH emelésével. Ezzel szemben a H-AlaAlaNH<sub>2</sub>OH és H-AlaSerNH<sub>2</sub>OH rendszerekben, ahol pH ~ 5-nél indult a komplexképződés, különböző protonáltsági fokú 1:1 sztöchiometriájú részecskék voltak detektálhatók. A spektrális sajátosságok a komplexek planáris szerkezetét, a ligandumok N-eken keresztüli koordinációját támasztották alá.

### 2.2.3. Dipeptidek szekunder hidroxámsav származékainak és egyszerű tripeptidek hidroxámsav származékainak fémionmegkötése

A modellül választott egyszerű, primer dipeptidhidroxámsavak (H-AlaAla-NHOH és H-AlaSerNHOH) előállítására és fémion-megkötésük tanulmányozása után, a kutatás következő részében azt vizsgáltuk, hogy a hidroxámsavcsoport N-jén elhelyezett alkil szubsztituens hogyan befolyásolja ezen új ligandumok fémionokkal való kölcsönhatását. Mivel Cu(II) és Ni(II) esetén a terminális amino- és a deprotonált peptidcsoport aktív részvételét is kimutattuk a fémion-megkötésben, így kézenfekvő volt két peptidcsoportot tartalmazó tripeptidhidroxámsavak előállítása és vizsgálata is.

A **H-AlaAlaN(Me)OH**, **H-AlaSerN(Me)OH**, **H-AlaGlyGlyNHOH** és **H-AlaGlyGlyN(Me)OH** fémionmegkötését Fe(III), Al(III), Cu(II), Ni(II) és Zn(II) ionokkal tanulmányoztuk. A terminális aminocsoportok szerepének a tisztázására a megfelelő Z-védett intermediereket (**Z-AlaAlaN(Me)OH**, **Z-AlaSerN(Me)OH**, **Z-AlaGlyGly-NHOH** és **Z-AlaGlyGlyN(Me)OH**) is bevontuk a vizsgálatokba.

Megállapítottuk, hogy a **vas(III)** már pH = 2,0 alatt számottevő kölcsönhatást mutat valamennyi új ligandummal, azok hidroxamát oxigénjeihez kötődve. A kialakuló MA illetve MAH összetételű komplexek stabilitási szorzat értékeit ezért független spektrofotometriás mérések alapján határoztuk meg és használtuk fel a pH-metriás adatok kiértékeléséhez. Ligandumfelesleg esetén a pH növelésével 1:2 és 1:3 összetételű komplexek képződését majd valamennyi esetben a fémion hidrolízisét mutattuk ki.

**Alumínium(III)ionnal** a pH 2,0 – 4,0 tartományban 1:1 és 1:2 arányú komplexek illetve vegyes hidroxokomplexek voltak kimutathatók valamennyi rendszerben, hasonlóan a korábban vizsgált primer dipeptidhidroxámsavakhoz. A Z-ligandumokkal MA és vegyes hidroxokomplexek képződését detektáltuk. A pH további emelésekor, a fémion erős hidrolízise miatt csapadékképződés következett be.

A **cink(II)**-t tartalmazó mintákban – hasonlóan a korábban tanulmányozott primer dipeptidhidroxámsav rendszerekhez – azt találtuk, hogy a megfelelő H- és Z-ligandumok eltérően viselkedtek, utalva a H-AlaAlaN(Me)OH, H-AlaSerN(Me)OH valamint a tripeptid ligandumok ambidentát tulajdonságára. Amíg a csak (O,O) koordinációra képes Z-hidroxámsavakkal csupán 1:1 összetételű részecskék voltak kimutathatók és csapadékkiválás történt, addig a szabad aminocsoportot is tartalmazó H-ligandumok a fémiont nagyobb pH-ig voltak képesek oldatban tartani. Ugyanakkor az amidcsoport(ok) deprotonálódása és koordinálódása ezekben a rendszerekben sem volt detektálható.

**Réz(II)ionnal** a Z-ligandum rendszerekben a mérhető pH-tartomány (kb. pH = 6,0-ig) – egyezésben a spektrális információkkal – (O,O) kötésmódú MA és MA<sub>2</sub> komplexek képződésével volt leírható. Ugyanakkor a Z-AlaGlyGlyNHOH esetén nem lehetett stabilitási állandókat meghatározni, mert már pH = 3.6 felett csapadékkiválás történt; feltehetően a kis oldékonyságú, semleges CuA<sub>2</sub> képződik. A H-AlaAlaN(Me)OH és H-AlaSerN(Me)OH ligandumok erős kölcsönhatásra voltak képesek a fémionnal. A spektrális (UV-VIS, ESR) eredmények azt mutatták, hogy savas pH-n (O,O) kötésmódú 1:1 és 1:2 részecskék vannak jelen, majd a pH növelésével a ligandumok (NH<sub>2</sub>, N<sub>amid</sub>, O<sub>hidr</sub>, H<sub>2</sub>O) koordinációjú komplexeket képeznek. Erősen lúgos pH-n

vegyes hidroxokomplex képződik. Ellentétben a primer dipeptidhidroxámsav ligandumokkal, itt többmagvú részecskék jelenléte nem volt kimutatható. Ligandumfelesleg esetén különböző protonáltsági fokú 1:2 komplexek alárendelt képződése is detektálható volt, amelyek közül a  $\text{Cu}_2\text{H}$ -ban – a spektrális információk alapján – a második ligandum ( $\text{NH}_2$ , CO) kötésmóddal axiális-ekvatoriálisan koordinálódik. Mindkét nem védett tripeptidhidroxámsav erős  $\text{Cu}^{2+}$ -megkötésre képes. Ezekben a rendszerekben is (O,O) kötésmódú 1:1 és 1:2 részecskék detektálhatók a savas pH tartományban, majd ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{N}_{\text{amid}}$ ,  $\text{N}_{\text{amid}}$ ,  $\text{N}_{\text{hidr}}$ ) (H-AlaGlyGlyNHOH) illetve ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{N}_{\text{amid}}$ ,  $\text{N}_{\text{amid}}$ ,  $\text{O}_{\text{hidr}}$ ) (H-AlaGlyGlyN(Me)OH) koordinációjú komplexek képződnek. Az ESR eredmények alátámasztják kismennyiségű, ESR inaktív többmagvú részecskék jelenlétét is mindkét ligandum esetén.

A **Ni(II)ion** esetén megállapítottuk, hogy a dipeptidhidroxámsavak esetén akár a terminális aminocsoport (Z-ligandumok) akár a hidroxamát N (szekunder ligandumok) blokkolása kis stabilitású (O,O) kötésmódú 1:1 és 1:2 komplexek képződését eredményezte. Ugyanakkor a nem védett tripeptidhidroxámsavakkal nagy stabilitású, planáris, a Cu(II)-rendszerbelivel megegyező szerkezetű komplexek képződését detektáltuk.

#### 2.2.4. Hidroxámsavcsoport és VO(IV) közötti redoxireakció tanulmányozása

Ismert, hogy egyes fémionok (pl. Fe(II), VO(IV), U(IV)) és hidroxámsavak között redoxireakció játszódik le, amely során a ligandum amiddá redukálódik a fémion pedig oxidálódva stabilis komplexet képez a hidroxámsav feleslegével. Modellül az aceto- és benzohidroxámsavat választva, részletesen megvizsgáltuk a fenti reakció sztöchiometriáját. Megállapítottuk, hogy pH = 4,5 – 5,0 felett, mintegy 10-30 óra alatt, anaerob körülmények között a következő folyamat megy végbe:  $2\text{VO}(\text{RCONHO})_2 + \text{RCONHOH} + \text{H}_2\text{O} = 2[\text{VO}_2(\text{RCONHO})_2]^- + 2\text{H}^+ + \text{RCONH}_2$ .

#### 2.2.5. Egyszerű di- és tripeptidek hidroxámsav származékainak Mo(VI)-megkötése

A kutatómunka tervének megfelelően a korábban előállított egyszerű di- és tripeptidek hidroxámsav származékainak a biológiai szempontból jelentős Mo(VI)-ionnal való kölcsönhatását tanulmányoztuk pH-potenciometriás és spektrális (UV-látható,  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{17}\text{O}$ -NMR) módszerekkel. Céljunk annak megállapítása volt, hogy a potenciálisan enziminhibítor hidroxámsav-származékok peptidvázának terminális amino- és peptidcsoportjai részt vesznek-e a fémion megkötésében. Így vizsgálatainkba olyan modellvegyületeket is bevontunk, amelyekben az aminocsoport védett (Z ligandumok). A primer és szekunder hidroxámsavak fémionmegkötésének az összehasonlításával pedig azt tanulmányoztuk, hogy lehetőség van-e a hidroxámsavcsoport nitrogénjén lévő proton disszociációjával kialakuló hidroximáto típusú kötésmód kialakulására a Mo(VI)-tal való kölcsönhatás során.

A szekunder ligandumok esetén azt találtuk, hogy mind a pH-potenciometriás, mind a spektrális módszerek két részecske jelenlétét támasztják alá a savas pH tartományban. Az  $[\text{MoO}_2(\text{HL})_2]^{2+}$ -ben (Z ligandumok esetén:  $[\text{MoO}_2\text{L}_2]$ ) a fémionhoz két oxocsoport mellett két ligandum kötődik öttagú, hidroxamát típusú [O,O] koordinációval. A pH emelésével  $[\text{MoO}_3(\text{HL})(\text{H}_2\text{O})]$  (Z ligandum esetén:  $[\text{MoO}_3\text{L}(\text{H}_2\text{O})]^-$ ) detektálható, amelyben egy [O,O] kelát található, három oxocsoport mellett. A fémion hatodik koordinációs helyét egy vízmolekula foglalja el. Semleges pH-n ez a komplex elbomlik és csak szabad ligandum valamint  $\text{MoO}_4^{2-}$ -ion detektálható a rendszerekben.

A primer Z-védett és nem védett ligandumokkal a pH-potenciometria alapján a szekunder hidroxámsavakéhoz hasonló összetételű komplexek detektálhatók a savas-semleges pH-tartományban.  $^{17}\text{O}$ -NMR eredményeink azonban azt igazolták, hogy három  $\text{MoO}_2$  magvú és két  $\text{MoO}_3$  magvú részecske van egymással egyensúlyban a rendszerekben, és a ligandumok pH = 10,5-ig képesek a fémiont komplexbe kötve tartani. A fenti ellentmondást – összhangban a megelőző primer monohidroxámsavakra kapott eredményekkel – úgy értelmeztük, hogy a pH-metria nem tud különbséget tenni az azonos pH-effektust okozó  $[\text{MoO}_2(\text{HL})(\text{OH})_2]$  (Z ligandum:  $[\text{MoO}_2\text{L}(\text{OH})_2]^-$ )

és az  $[\text{MoO}_3(\text{HL})(\text{H}_2\text{O})]$  (Z ligandum:  $[(\text{MoO}_3\text{L}(\text{H}_2\text{O}))^-]$ ) között; továbbá a hidroximáto kötőmódú komplexek és a szabad  $\text{MoO}_4^{2-}$  képződésének ugyanaz a pH-effektusa, így ezeket a részecskéket a pH-metria szintén nem képes megkülönböztetni.

A primer és szekunder ligandumok Mo(VI)-megkötőképességének összehasonlítása alapján megállapítható, hogy a hidroximáto kelát kialakítására is képes primer ligandumok nagyobb pH-értékig képesek a fémion komplexben tartására, jobban visszaszorítják a Mo(VI) oligomerizációs folyamatait.

Spektrális eredményeink azt mutatják, hogy egyetlen vizsgált peptid-hidroxámsavval sem mutatható ki a peptidváz szerepe a Mo(VI)-megkötésben, a ligandumok kizárólag hidroxamát oxigénjeiken keresztül koordinálnak a fémionhoz. Ezt támasztja alá a meghatározott stabilitási állandók elemzése is, amely szerint a védőcsoportot nem tartalmazó és Z-védett peptidhidroxámsavak valamint a monohidroxámsavak is nagyon hasonló erősséggel kötik a fémiont.

Mindez azt is jelenti, hogy elvileg lehetséges olyan szelektív, potencionálisan Mo-enzim inhibitorok tervezése, melyek hidroxámsavcsoportja a fémionhoz való kötődés révén a gátlást, míg egyedi peptidláncuk a szubsztrátspecifikusság révén a szelektivitást biztosíthatja.

### 2.2.6. Oldalláncban erősen koordinálódó donoratomot tartalmazó di- és tripeptidek hidroxámsavszármazékainak fémkomplexei

Az oldalláncban erősen koordinálódni képes donorcsoportot tartalmazó di- és tripeptidek primer hidroxámsavszármazékai közül az **AlaHisNHOH**, **HisAlaNHOH** és **AlaAlaHisNHOH** ligandumok réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)ionokkal való kölcsönhatását vizsgáltuk pH-potenciometriás és spektrális módszerekkel.

Megállapítottuk, hogy az AlaHisNHOH a réz(II)ionnal a komplexképződés kezdetén ( $\text{NH}_2$ , CO,  $\text{N}_{\text{im}}$ ) kötőmódú  $[\text{CuHL}]$  részecskét hoz létre. A pH növelésével a hidroxamát kiszorul a fémion koordinációs szférájából az ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{N}_{\text{amid}}$ ,  $\text{N}_{\text{im}}$ ) kötőmódú  $[\text{CuL}]$ -ben, majd további deprotonálódás után nagystabilitású,  $[\text{CuH}_1\text{L}]_x$  összetételű komplex képződik ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{N}_{\text{amid}}$ ,  $\text{N}_{\text{im}}$ ,  $\text{O}_{\text{hidr}}$ ) koordinációval.

A Ni(II) esetén az találtuk, hogy horgonyként a ligandum imidazol nitrogénje viselkedik. A pH emelésével előbb  $[\text{NiL}]$  (pontosabban  $[\text{NiH}_1\text{LH}]$ ) képződik a ligandum imidazol, amid és amino nitrogénjének részvételével, majd pH 8 felett, hasonlóan az AlaAlaNHOH rendszerbeli eredményekhez, síknégyzetes  $[\text{NiH}_1\text{L}]$  lesz a domináns részecske a ligandum ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{N}_{\text{amid}}$ ,  $\text{N}_{\text{hidr}}$ ) koordinációjával.

A Zn(II) rendszerbeli eredmények nem túl erős kölcsönhatára utalnak a ligandummal. A  $^1\text{H}$ -NMR mérések kötési izomerek jelenlétét valószínűsítették, amelyekben a hidroxamátokon keresztüli koordináció mellett ( $\text{NH}_2$ , CO) kötőmód is megvalósulhat.

Az AlaAlaHisNHOH ligandum egy további erős fémion megkötőhelyet is tartalmaz, így az imidazol N és hidroxamát N között kompetíció valósulhat meg. Eredményeink szerint a réz(II) megkötése a molekula hidroxamát végén történik, majd a pH emelésével kötési izomerek jelen a rendszerben. pH 7,5 felett a nagystabilitású ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{N}_{\text{amid}}$ ,  $\text{N}_{\text{amid}}$ ,  $\text{N}_{\text{im}}$ ) koordinációjú komplex létezését igazoltuk a spektrális eredmények alapján.

Ni(II)ionnal azt találtuk, hogy széles pH tartományban egy síknégyzetes, 4N-es komplex dominál, amelyben az amino, amid, amid nitrogének mellett a negyedik koordinációs helyet  $\text{N}_{\text{im}}$  vagy  $\text{N}_{\text{hidr}}$  foglalja el.

Az ambidentát tulajdonású HisAlaNHOH, amely hisztaminszerű és hidroxamát koordinációra is képes, eredményeink szerint az előbbi kötőmóddal lép kapcsolatba a réz(II)ionnal, de már pH 4 felett  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]$  összetételű dimer jelenléte valószínűsíthető az ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{N}_{\text{im}}$ ) kelát mellett a hidroxamátcsoport részvételével. A pH emelésével egy  $[\text{Cu}_2\text{H}_2\text{L}_2]$  összetételű komplex képződik, amelyben két ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{N}_{\text{amid}}$ ,  $\text{O}_{\text{hidr}}$ ) kötőmódú egység imidazol hidakkal van összekötve.

A Ni(II) esetén kizárólag oktaéderes komplexek képződését találtuk, amelyekben a ligandum valószínűleg hisztaminszerű koordinációja valósul meg.

## Hivatkozások

1. A.-M. Albrecht-Gary and A. L. Crumbliss, in *Metal Ions in Biological Systems*, ed. H. Sigel and A. Sigel, Marcel Dekker, New York, **1998**, Vol. 35, p. 239
2. M. Arnold, D. A. Brown, O. Deeg, W. Errington, W. Haase, K. Herlihy, T.J. Kemp, H. Nimir and R. Werner, *Inorg. Chem.*, **1998**, 37, 2920

A munka eredményeiből a pályázat nyilvántartási számának feltüntetésével ezidáig három közlemény jelent meg, egy van megjelenés alatt, további három kézirat összeállítása van folyamatban, és 11 előadás illetve poszter került bemutatásra nemzetközi és hazai konferenciákon. A pályázat keretében végzett kutatásokba diplomamunkájukat végző és doktorandusz hallgatók bekapcsolódtak, így a kutatás témájában két diplomamunka (Pótári Norbert, Nagy Ildikó) és egy PhD értekezés (Nagy Eszter Márta) is készült.