

Magyar Kémikusok Egyesülete Csongrád Megyei  
Csoportja, SZTE Kémia Doktori Iskola, SZTE  
Gyógyszertudományok Doktori Iskola  
közös rendezvénye

**XXXIII.**  
**KÉMIAI ELŐADÓI NAPOK**  
**- Fókuszban a kémia és a gyógyszer -**

*Program és előadás-összefoglalók*



Szegedi Akadémiai Bizottság Székháza  
Szeged, 2010. október 25-27.

Szerkesztették:

*Janáky Csaba*

SZTE TTIK Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék

*Németh Zoltán*

SZTE TTIK Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék

ISBN

# BIOMIMETIKUS ELEKTRONTRANSZFER KATALIZÁTOROK KÉSZÍTÉSE

**Csendes Zita, Pálinkó István**

*SZTE Szerves Kémiai Tanszék, 6720 Szeged, Dóm tér 8.*

## **Bevezetés**

A katalizátorkutatás általános célja olyan anyagok készítése, melyek nagy aktivitással és szelektivitással rendelkeznek. A cél elérése érdekében a kutatók többféle módszerrel próbálkoznak. Egy ígéretes út lehet a természet leghatásosabb katalizátorainak az enzimek aktív centrumainak lemásolása [1].

Az élő organizmusok több ezer enzimet tartalmaznak alapvetően az összes elképzelhető kémiai reakcióra. Bár aktivitásuk és szelektivitásuk felülmúlhatatlannak látszik, így direkt laboratóriumi alkalmazásuk kézenfekvőnek tűnhet, azonban nagyon érzékenyek a kísérleti körülményekre, szűk nyomás- és hőmérséklettartományban, valamint sótartalmú vizes oldatban működnek optimálisan. Ezeket a hátrányokat kiküszöbölhetjük vagy úgy, hogy az enzimet rögzítjük különféle hordozókra olyan módszerekkel, hogy a hordozómentes enzim aktivitása és szelektivitása megmaradjon [2-6], vagy úgy, hogy nem az enzimet, hanem csupán aktív centrumának funkcionális vagy szerkezeti modelljét immobilizáljuk [7-10]. Az immobilizálás történhet (i) adszorpcióval vagy hidrogénhid-kötéssel, (ii) elektrosztatikus kötéssel (ioncserével) vagy (iii) kovalens kötéssel. Korábban már kipróbálták ezeket a módszereket felületen rögzített réz-aminosav komplexek készítésekor. A legjobban kontrollálhatónak a kovalens kötéssel való rögzítés bizonyult, oldószerként a 2-propanolt találták legmegfelelőbbnek.

Funkcionális modellezés esetén nem másoljuk le fémion környezetét, hanem olyan ligandumokat keresünk, melyekkel az enzimhez hasonlóan működik a modellkomplex. Szerkezeti modellezéskor pedig arra törekszünk, hogy az enzim aktív centrumát minél pontosabban utánzó modellvegyületeket alakítsunk ki. Mindkét megközelítést sokan alkalmazzák szerte a világon, és mindkét megközelítés hozott már figyelemreméltó eredményeket.

Az én munkám célja az volt, hogy kétfajta SOD enzim (Cu,Zn-SOD enzim és Ni-SOD enzim) aktív centrumának szerkezeti modelljeit rögzítsem módosított szilikagélre kovalens kötéssel. Infravörös spektroszkópia segítségével meghatározom a felületen rögzített komplexek lehetséges szerkezetét. Végezetül mérjem meg SOD aktivitásukat egy biokémiai reakció (metionin-riboflavin-NBT reakció) segítségével. A szerkezeti modell kialakításánál figyelembe vettük, hogy a SOD enzimek aktív centrumában többféle aminosav van, a hisztidin mindig része az aktív centrumnak, és ezen kívül is olyan aminosavakat választottunk többnyire, amelyek megtalálhatók az illető SOD enzim aktív centrumában vagy annak közelében.

## Kísérleti rész

Munkám során klórpropilezett szilikagélen kovalens kötéssel rögzítettem különböző védett aminosavakat. A reakciók az N-védett aminosavak esetén észterképződéssel, a C-védetteknel pedig N-alkilezéshez hasonló folyamattal mentek végbe. Az aminosavak felületre kötését követően a fémion-aminosav komplexek kialakítását végeztem el, ligandumban szegény (csak felületen kötött aminosav-származékok vehettek részt a komplexképződésben) és ligandumban gazdag (a szintéziselegy tartalmazott felületre nem kötött aminosav-származékokat is) körülmények között. Egyfajta és vegyes ligandumú immobilizált fém-aminosav komplexeket állítottam elő. Az egyfajta ligandumot tartalmazó felületen rögzített fémion-aminosav komplexek készítésekor ligandumként L-cisztein-metilésztert vagy L-cisztin-metilésztert használtam, a központi fémion Cu(II) vagy Ni(II) volt. A felületi komplexek kialakítása során először a védett aminosavat kötöttem a felületre, ezután a komplexképzés következett ligandumszegény és ligandumgazdag környezetben. Vegyes ligandumú keverékkomplexeket kétféle módszerrel állítottam elő. Az "A" módszer esetén 1:1 molarányú megfelelően védett aminosavkeveréket kötöttem a felületre, majd ligandumszegény és ligandumgazdag (1:1 molarány) keverékkomplexet hoztam létre. A "B" módszer esetén az egyik védett aminosavat immobilizáltam, majd a megfelelő fémsó oldatában kialakítottam a felületi komplexet, végül a másik aminosav feleslegének hozzáadásával előállítottam a keverékkomplexet. A rézkomplexek előállításához *t*-butoxikarbonil-L-tirozint, *t*-butoxikarbonil-L-hisztidint, L-tirozin-metilésztert, L-hisztidin-metilésztert, a nikkelkomplexek előállításához *t*-butoxikarbonil-L-hisztidint, *t*-butoxikarbonil-L-cisztein, L-hisztidin-metilészter, L-cisztein-metilésztert használtam.

A kapott minták IR spektrumát felvettem, a spektrumokat alapvonal-korrigáltam, símítottam, ha szükséges volt, a hordozó spektrumát kivontam és a vegyes aminosav komplexek esetén dekonvolúciót is alkalmaztam, ahol szükséges volt. A spektrumokat elemeztem, a megfelelő felületen nem kötött védett aminosavak színeképeivel összehasonlítottam, és így valószínűsítettem az adott koordinációs szférát.

Az előállított felületen rögzített komplexek szuperoxid-dizmutáz aktivitását a metionin-riboflavin-NBT (nitro blue tetrazolium) tesztreakcióval vizsgáltam.

## Eredmények és értékelésük

### *Szerkezetmeghatározás infravörös spektroszkópiával*

Példaként az "A" módszerrel előállított felületre kötött Ni(II)-C-védett hisztidin:C-védett cisztein vegyes ligandumú komplexek infravörös spektrumainak elemzését mutatom be.

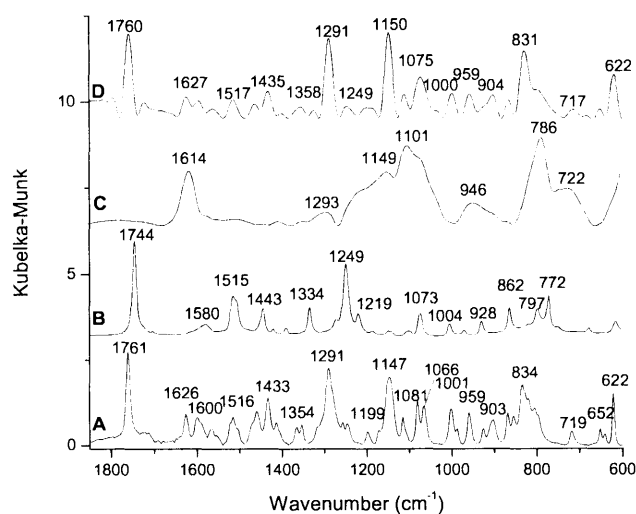
A klórpropilezett szilikagélre az N-terminálison keresztül kovalensen kötöttük az C-védett aminosavakat, ezért az aminocsoport nitrogénatomja nem képes koordinációra, mivel túl közel található a hordozó felszínéhez. Biztos koordinálódó csoport a C-védett hisztidin esetén az egyik imidazolnitrogén [11], lehetséges jelöltek a karboniloxigén és az észtercsoport metoxioxigénje. Az előbbi szterikus okok miatt valószínűbb, mint az utóbbi. Ligandumszegény környezetben a komplexképzés leginkább úgy valósulhat meg, hogy a hisztidin-metilészter kétfogú ligandumként koordinálódik a központi ionhoz, mivel nincs elég felületen kötött aminosav egymáshoz olyan közel, hogy egyfogú ligandumként

tudjanak viselkedni. Ligandumban gazdag körülmények közt az aminocsoport nitrogénje is szerepet játszik.

A C-védett cisztein esetén lehetséges komplexképző csoport a tiolátcsoport kénatomja és a karboniloxigén. Ezek alapján valószínűsíthető, hogy ligandumszegény környezetben a C-védett cisztein kétfogú ligandumként viselkedik és a karboniloxigén valamint a tiolátkén található a Ni(II) koordinációs szférájában. Ligandumgazdag körülmények között a feleslegben adott aminosav aminocsoportjának nitrogénje is szerepet játszhat a koordinációban.

Az IR spektrumokat elemezve megállapítható, hogy mindkét C-védett aminosav részt vesz a komplexképzésben (1. ábra).

**1. ábra FT-IR spektrumok: hisztidin-metilészter (A), cisztein-metilészter (B) és a hordozón rögzített C-védett aminosav-keverék különbségi spektruma ligandumszegény (C) és ligandumgazdag (D) környezetben (az utóbbi két esetben a hordozó spektrumát kivontam).**

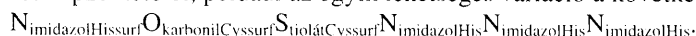


Ligandumszegény körülmények közt a hisztidin-metilészter karbonilcsoportjának vegyértékrezgése 1761 cm<sup>-1</sup>-ről 1614 cm<sup>-1</sup>-re tolódott el, tehát a karboniloxigén biztosan részt vesz a komplexképzésben. Ez a cisztein-metilészter karboniloxigénjéről is elmondható. Ez a rezgés 1744 cm<sup>-1</sup>-ről 786 cm<sup>-1</sup>-re tolódott el. A szabad cisztein-metilészter spektrumában 772 cm<sup>-1</sup>-nél található sáv a C-S rezgéshez tartozhat, mely a ligandumszegény környezetben felvett spektrumban 722 cm<sup>-1</sup>-nél jelenik meg, tehát a kénatom is koordinációs hely. A ligandumszegény környezetben kapott anyag színe zöld, tehát a Ni(II) koordinációs száma négy [12]. A rendelkezésünkre álló információk szerint a legvalószínűbb koordinációs szféra a következőképpen néz ki:



A felületen kötött, védett aminosavak feltehetőleg kétfogú ligandumként koordinálnak a központi ionhoz, mivel nincs elég felületen kötött aminosav egymáshoz olyan közel, hogy egyfogú ligandumként tudjanak viselkedni.

A ligandumgazdag környezetben felvett komplex spektrumában a hisztidin-metilészter dominál, ami azt jelentheti, hogy a feleslegben adott cisztein-metilészter nem koordinálódik a központi ionhoz. A Kjeldahl módszerrel meghatározott nitrogéntartalom azt mutatja, hogy sokkal több aminosav található a mintában, mint ami a kovalens kötéssel és a komplexképzéssel elképzelhető, ezért az feltételezzük, hogy a hisztidin-metilészter adszorbeálódik a felületre. A kapott anyag színe ebben az esetben barna, ami arra utal, hogy a Ni(II) koordinációs száma hat [12]. A spektrumból megállapítható, hogy a feleslegben adott hisztidin-metilészter karboniloxigénje nem koordinálódik. Többféle koordinációs környezet képzelhető el, például az egyik lehetséges variáció a következő:



#### *Szuperoxid dizmutáz aktivitási mérések eredményei*

Minden szintetizált anyag mutatott szuperoxid dizmutáz aktivitást, de a legjobbak is kb. másfél nagyságrenddel elmaradtak az enzim aktivitásától. A ligandumszegény körülmények közt szintetizált komplexek nagyobb aktivitásúak voltak, mint a ligandumban gazdag közegben előállított komplexek. Tulajdonképpen ez nem meglepő, hiszen ennek a komplexnek a leginkább torzult a geometriája a szabad komplexéhez képest. Itt csak felületre kötött aminosavak állnak rendelkezésre ligandumként, a felületi koncentráció pedig meglehetősen alacsony. A feszültség csökkentésének nagy a hajtóereje, amely a komplex nagy reaktivitásában nyilvánul meg.

Az előállított anyagok közül a legnagyobb szuperoxid dizmutáz aktivitást az "A" módszerrel ligandumszegény körülmények közt szintetizált felületen rögzített Cu(II)-C-védett tirozin;C-védett hisztidin vegyes ligandumú komplex mutatta.

#### **Összefoglalás**

Az IR spektroszkópiai vizsgálatok azt mutatták, hogy a fémion-aminosav komplexek előállítása minden esetben sikeres volt. Megállapítottam, hogy az imidazolgyűrű nitrogénje, a tiolát és tiolcsoport kénatomja és a diszulfid-híd kénatomjai mindig, a karbonilcsoport oxigénje és a fenoláttoxigén igen gyakran koordinálódik.

Minden komplex mutatott szuperoxid dizmutáz aktivitást. Némelyik egészen kiemelkedőt, reményt nyújtva arra, hogy alkalmazható lesz egyéb, például finomkémikáliákat előállítását célzó elektrontranszfer reakciókban az enzimreakciónál szigorúbb körülmények (szerves oldószer, magasabb hőmérséklet, atmoszféránál nagyobb nyomás) között is.

#### **Irodalomjegyzék:**

- [1] A.J. Kirby, Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 35 (1996) 706.
- [2] S. Akgöl, Y. Kacar, S. Özkara, H. Yavuz, A. Denizli, M.Y. Arica, J. Mol. Catal. B 15 (2001) 197.
- [3] A.M. Azevedo, D.M.F. Prazeres, J.M.S. Cabral, L.P. Fonseca, LP (2001) J. Mol. Catal. B 15 (2001) 147.
- [4] F.M. Bautista, J.M. Campelo, A. Garcia, A. Jurado, D. Luna, J.M. Marinas, A.A. Romero, J. Mol. Catal. B 11 (2001) 567.
- [5] I. Domínguez, V. Fornés, M.J. Sabater, J. Catal. 228 (2004) 92.

- [6] T. Joseph, M. Hartmann, S. Ernst, S.B. Halligudi, *J. Mol. Catal. A* 207 (2004) 131.
- [7] H.B. Albada, F. Soulamani, B.M. Weckhuysen, R.M.J. Liskamp, (2007) *Chem Commun* (2007) 4895.
- [8] B.M. Weckhuysen, H. Leeman, R.A. Schoonheydt, *PCCP* 1 (1999) 2875.
- [9] R.J.P. Williams, *J. Inorg. Biochem.* 102 (2008) 1.
- [10] I. Pálinkó, in *Inorganic Biochemistry: Research Progress*. Nova Science Publishers Inc., 2008, Ch 10, pp. 281–303.
- [11] P.C.A. Bruijninx, M. Lutz, A.L. Spek, W.R. Hagen, B.M. Weckhuysen, G. van Koten, R.J.M.K. Gebbink, (2007) *J. Am. Chem. Soc.* 129 (2007) 2275.
- [12] F.A. Cotton, G. Wilkinson in *Advanced Inorganic Chemistry*, 5th ed., John Wiley & sons, 1988, pp. 744-747.