

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Tau peptidfragmensek
átmenetifémkomplexeinek koordinációs
kémiai sajátosságai**

Balogh Bettina Diána

Témavezető: Prof. Dr. Várnagy Katalin



DEBRECENI EGYETEM

Kémia Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2023.

A tézisekben előforduló rövidítések jegyzéke:

A, Ala	alanin
C, Cys	cisztein
D, Asp	aszparaginsav
F, Phe	fenilalanin
G, Gly	glicin
H, His	hisztidin
I, Ile	izoleucin
K, Lys	lizin
L, Leu	leucin
M, Met	metionin
N, Asn	aszparagin
P, Pro	prolin
Q, Gln	glutamin
S, Ser	szerin
T, Thr	treonin
V, Val	valin
A β	amiloid- β
AK/AD	Alzheimer-kór
CD	cirkuláris dikroizmus
CNR-IBB	Consiglio Nazionale Delle Ricerche - Istituto Di Biostrutture e Bioimmagini
DIPEA	<i>N,N</i> -diizopropil-etilamin
DMSO	dimetil-szulfoxid
ESI	elektroporlasztásos ionizáció
ESR	elektronspin rezonancia
fiziológiás pH	spektroszkópia a pH ~ 6,8-7,4 tartományt értem alatta
Fmoc	9-fluorenil-metoxi-karbonil
HOBt·H ₂ O	<i>N</i> -hidroxi-benzotriazol hidrát
MALDI	mátrix által segített lézer deszorpció/ionizáció

pCu(II)

tau(26-33)m

tau(326-333)

tau(326-333)mA

tau(326-333)mG

tau(326-333)mGA

tau(326-333)mGH

tau(326-333) KL

tau(320-333)

tau(320-333)mH

tau(30-34)(327-332)

TBTU

*t*Bu

ThT

TOF

UV-Vis

a ligandumhoz nem kötött

réz(II)ion egyensúlyi

koncentrációjának tízes alapú

negatív logaritmus (c_{lig} = 1 ·

10⁻⁵ M, c_{Cu(II)} = 1 · 10⁻⁶ M)

Ac-KGGYTMHK-NH₂

Ac-GNIHHKPG-NH₂

Ac-GNIHHKAG-NH₂

Ac-GNGHHKPG-NH₂

Ac-GNGAHKPG-NH₂

Ac-GNGHAKPG-NH₂

Ac-GNIHHKPGKLVFF-NH₂

Ac-SKCGSLGNIHHKPG-NH₂

Ac-SKCGSLGNIHHHKPG-NH₂

Ac-TMHQDNIHHKP-NH₂

2-(1-H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-

tetrametilammónium-

tetrafluoroborát

terc-butil

Thioflavin T

repülési idő

ultraibolya-látható

I. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

Napjainkra az idegrendszeret érintő neurodegeneratív elváltozásokban szenvedő betegek életminőségének javítása a fejlett országok társadalmának komoly egészségügyi és szociális kihívásává vált. A kórképek kialakulásának pontos molekuláris háttere a mai napig nem ismert, de a feltételezések szerint egyes fehérjék szerkezetének kóros megváltozása, majd ezt követő aggregációja kulcsszerepet játszik az idegsejtek pusztulásában. Az Alzheimer-kórban érintett amiloid- β és tau protein több, a fémionok megkötésére alkalmas, nagy affinitású kötőhellyel rendelkezik (pl. terminális aminocsoport, hisztidin imidazolnitrogén és cisztein tiolátkénatom), és egyre elfogadottabbá válik az az elképzelés, miszerint a fémionok koordinációja hozzájárulhat a fehérjék hibás feltekeredéséhez, ezen keresztül pedig a kór kialakulásához. Ezeket a kölcsönhatásokat a legegyszerűbben olyan rendszerek segítségével modellezhetjük, melyek központi ionként valamilyen átmenetifémiont, ligandumként pedig egyszerű oligopeptidet tartalmaznak. A *Debreceni Egyetem Bioszerveletlen Kémiai Kutatócsoportjában* zajló kutatások egyik irányvonala a neurodegeneratív rendellenességekben szerepet játszó fehérjék, peptidfragmensek és a biogén fémionok között kialakuló kölcsönhatások megértését célozza. PhD munkám során a tau fehérjét célzó szisztematikus vizsgálatokba kapcsolódtam be.

Munkám során célul tűztem ki imidazolilcsoportot, valamint a hisztidin mellett ciszteinit-oligocsoportot is tartalmazó tau származékok komplexképződési viselkedésének feltárását elsősorban réz(II)- és cink(II)ionok jelenlétében. A nikkel(II)vegyületek tanulmányozása elősegítheti a bonyolultabb Cu(II)-peptid rendszerekben kialakuló kölcsönhatások megértését, így a biogén elemek mellett nikkel(II)iont tartalmazó részecskéket is vizsgáltam.

Céлом volt a tau(326-333) ligandum oldategyensúlyi viselkedésének megismerése, valamint a kialakuló koordinációs izomerszerkezetek kötőmódjának leírása. Továbbá, terveim között szerepelt a szomszédos hisztidinek mellett ciszteint is tartalmazó, tau(320-333) fragmensek tanulmányozása, mely eredmények a valóshoz közelebbi képet adhatnak a cink(II) és a tau fehérje között lejátszódó komplexképződési folyamatokról. Mivel a natív szekvenciák fémionkötőhelyeinek kémiai környezete eltér, olyan modellpeptidek vizsgálatát is terveztem, melyek egy molekulán belül tartalmaznak elkülönült

*kötőhelyeket. Választásom a His32 és His329-His330 hisztidinek kémiai környezetét modellező **tau(30-34)(327-332)** kiméra peptidre esett. A tau fragmensek fémionkötő-képességét a „hisztaminszerű” kötésmód kialakítására lehetőséget biztosító horgonycsoportokat és három szomszédos hisztidil-oldalláncot tartalmazó **HAVAHHH-NH₂** ligandum fémion-affinitásával terveztem összehasonlítani. A fent említett peptidszármazékok koordinációs kémiai sajátosságainak feltárása mellett további célom volt a **tau(326-333) KL** ligandum aggregációs viselkedésének tanulmányozása egy nemzetközi együttműködés keretében.*

II. KÍSÉRLETI KÖRÜLMÉNYEK, VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

A vizsgált ligandumok egy része kereskedelmi forgalomból származik: az Ac-GNIHHKAG-NH₂, Ac-GNGHHKPG-NH₂, Ac-GNGHAKPG-NH₂, Ac-GNGAHKPG-NH₂, valamint Ac-TMHQDNIHHKP-NH₂ szekvenciájú peptideket a kínai *SynPeptide Co.* gyártotta. A vegyes kötőhelyű, hisztidint és ciszteint egyaránt tartalmazó származékokat (Ac-SKCGSLGNIHHKPG-NH₂ és Ac-SKCGSLGNIHHHKPG-NH₂), illetve a HAVAHHH-NH₂ ligandumot a *Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén*, míg az Ac-GNIHHKPG-NH₂ és Ac-GNIHHKPGKLVFF-NH₂ peptideket a cataniai CNR-IBB kutatóközpontban szintetizáltuk. A ligandumokat **szilárdfázisú peptidszintézissel**, mikrohullámú, Liberty 1TM peptidszintetizátor (CEM, Matthews, Észak-Karolina) segítségével állítottuk elő. Szilárd hordozóként aminocsoportot tartalmazó, Rink Amide AM típusú gyantát használtunk, ezáltal C-terminálisan amidált származékokhoz jutottunk. Valamennyi peptid előállítása során az Fmoc/tBu védőcsoport-stratégiát alkalmaztuk, míg a kapcsolni kívánt aminosav karboxilcsoportjának aktiválása a TBTU/HOBt/DIPEA stratégiának megfelelően történt. Az N-terminális aminocsoport blokkolását acetilcsoport kiépítésével értük el. Az előállított és tanulmányozott ligandumok szerkezete az *1. ábrán* látható. A peptidek tisztaságáról nagyhatákonyságú folyadékkromatográfia segítségével győződünk meg. A kromatográfiás profilok alapján a vizsgált ligandumok mindegyike egykomponensűnek bizonyult, a helyes szekvenciát ESI- vagy MALDI-MS vizsgálatok igazolták.

pH-potenciometriás mérések alapján az előállított peptidek hatóanyagtartalma 90-95% közöttinek adódott. A technika továbbá fontos információval szolgált az oldatfázisban lejátszódó komplexképződési folyamatokról is. A vizsgálatokat vizes oldatban, valamint 70% (V/V) DMSO-víz oldószerkeletben, 298 K hőmérsékleten végeztem. A fémion:ligandum arányt 1:3 és 3:1 között változtattam, a minták állandó, 0,20 M-os ionerősségét KCl hozzáadásál biztosítottam. A titrálási görbék illesztéséből, a SUPERQUAD nevű számítógépes program segítségével határoztam meg a ligandum-törzssoldatok pontos koncentrációját, valamint a disszociációs protont tartalmazó funkciók csoportok deprotonálódási állandóit. Az egy- és két fémiont tartalmazó rendszerek kiértékelése, a képződő komplexek

sztoichiometriájának és stabilitási szorzatának meghatározása a *Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén* kifejlesztett PSEQUAD program segítségével történt. Az adott rendszerre jellemző koncentrációeloszlási görbét a ligandumok protonálódási állandóinak, a komplexek összetételének, stabilitási szorzatának és a komponensek koncentrációjának ismeretében a MEDUSA nevű számítógépes programmal szerkesztettem meg.

A kialakuló fémkomplexeiről különféle szerkezetvizsgálati módszerek szolgáltak további információval.

Az **UV-látható spektrofotometria** a fémionhoz koordinálódó donatoratomok számáról és minőségéről adott felvilágosítást. A különböző fémion:ligandum arányú minták abszorpciós spektrumait a 200-900, illetve 200-400 nm hullámhossztartományban rögzítettem Perkin Elmer Lambda 25 típusú kétsugaras és VWR UV-1600PC típusú egysugaras spektrofotométerrel, 1,000 cm úthosszúságú kvarcküvetében, különböző pH-értékeken.

A réz(II)- és nikkell(II)ionokkal kialakuló peptidkomplexek optikailag aktívak, így a **cirkuláris dikroizmus** jól használható technika a szerkezet felderítésére. A CD-görbékben általában több információt nyerhetünk, mint az UV-Vis spektrumokból, hiszen a keskenyebb sávok miatt viszonylag ritkán fordul elő, hogy a különböző elektronátmenetek folyamatai átfednek egymással, továbbá a Cotton-effektus előjele is fontos szerkezeti információt hordoz magában. A kapott spektrumok segítettek az elsődleges horgonycsoport és a képződő koordinációs izomerszerkezetek arányának meghatározásában. A CD-spektroszkópiás vizsgálatokat a *Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén* végeztem, JASCO-810 típusú spektrofotométeren a 220-800 nm hullámhossztartományban 0,100 és 1,000 cm úthosszúságú kvarcküvetékben. A méréseket a pH-potenciometriás titrálások során alkalmazott fémion:ligandum arány, koncentráció és ionerősség mellett végeztem.

Az **elektronspin rezonancia spektroszkópia** a párosítatlan elektront tartalmazó réz(II)komplexeiről szolgált szerkezeti információval. A spektrumok hiperfinom szerkezetéből a komplexek geometriájának változására következtettünk. Az ESR-méréseket *Dr. Giuseppe Pappalardo* és munkatársai végezték a Cataniai Egyetemen (*Università di Catania*). A spektrumokat számítógép által vezérelt, Bruker Elexsys E500 CW-ESR típusú készülék segítségével

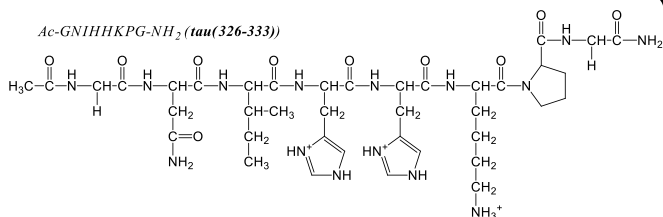
rögzítették különböző pH-értékeken, 150 K hőmérsékleten. A minták izotóptiszta $^{63}\text{Cu(II)}$ -ionokat és legfeljebb 10% metanolt tartalmaztak.

A **tömegspektrometriás mérések** (ESI-MS, MALDI-MS) egyrészt az előállított ligandumok azonosítására szolgáltak, másrészt az egyes komplexekhez rendelhető tömeg/töltés értékek fontos szerkezeti információt hordoztak. A tömegspektrumok egy részét *Dr. Csire Gizella* és *Dr. Nagy Lajos* vették fel ESI ionforrással ellátott *maXis II* MicroTOF-Q típusú Qq-TOF MS készüléken (*Bruker Daltonik*, Bréma, Németország). Az Ac-TMHQDNIIHHKP-NH₂ fémkomplexeinek spektrumait *Dr. Giuseppe Di Natale* rögzítette Q Exactive (Orbitrap) tömegspektrométeren (*ThermoFisher Scientific*), a CNR-IBB kutatóközpontban.

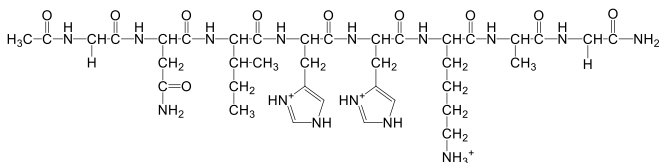
A cataniai kutatócsoporttal együttműködve **Thioflavin T assay** segítségével vizsgáltam az Ac-GNIIHHKPGKLVFF-NH₂ ligandum *A β (1-42)* aggregációjára gyakorolt hatását. A méréseket *Varioskan* (*ThermoFisher*, Waltham, Massachusetts) plate reader készülék segítségével, 37 °C hőmérsékleten végeztük. A gerjesztésre használt fény hullámhossza 440 nm, míg az emittált fény hullámhossza 485 nm volt. A készülék az adatgyűjtést 24 órán keresztül végezte, a görbéket három mérés átlagaként kaptuk. A ThT assay vizsgálatok eredményeként kapott kinetikai görbék kiértékelését *Michele F.M. Sciacca* és munkatársai végezték.

Tau peptidfragmensek átmenetifémkomplexeinek koordinációs kémiai sajátosságai

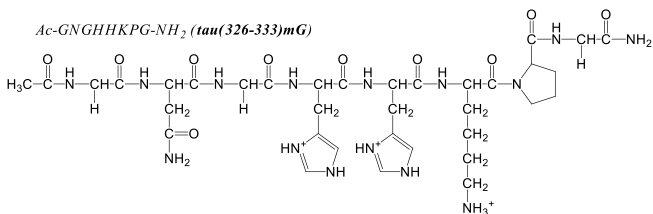
Ac-GNIHHKPG-NH₂ (tau(326-333))



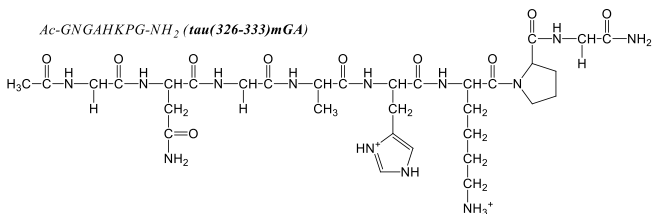
Ac-GNIHHKAG-NH₂ (tau(326-333)mA)



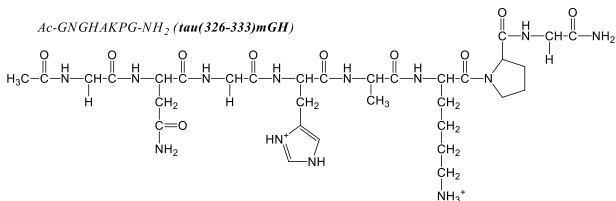
Ac-GNGHHKPG-NH₂ (tau(326-333)mG)

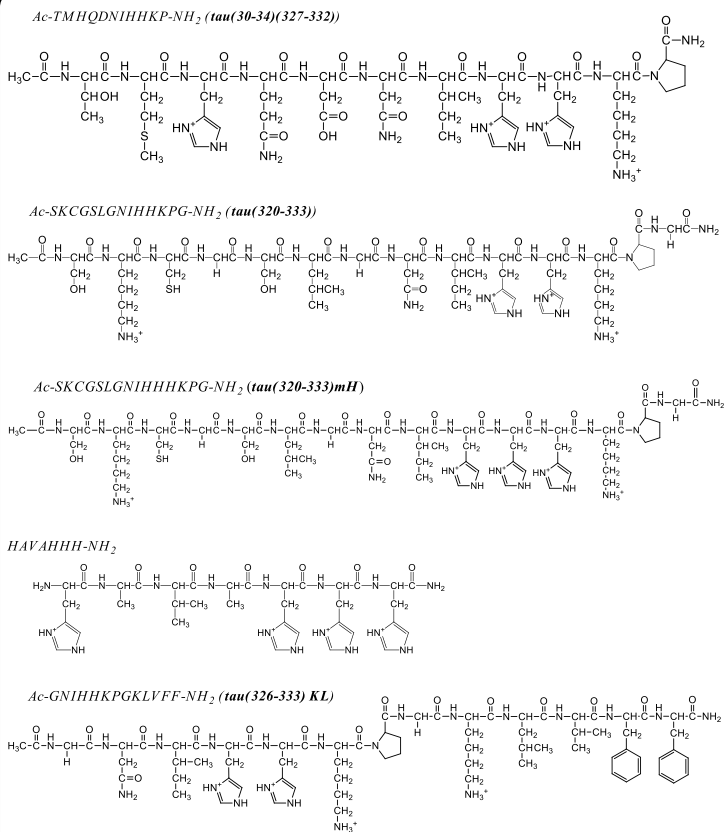


Ac-GNGAHKPG-NH₂ (tau(326-333)mGA)



Ac-GNGHAKPG-NH₂ (tau(326-333)mGH)





1. ábra: A vizsgált peptidek szerkezete

III. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

3.1. Tanulmányoztuk a *tau*(326-333) ligandum és pontmutánsai réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)ionok jelenlétében lejátszódó komplexképződési folyamatait. Megállapítottuk, hogy a réz(II)- és nikkel(II)ionok képesek elősegíteni a peptidnitrogének protonvesztését és bázikus oldatban koordinációs izomerszerkezetek alakulnak ki. Igazoltuk, hogy a „lánctörő” szerepéről ismert prolin jelenléte nem akadályozza meg, hogy réz(II)ion-felesleget tartalmazó oldatban az amidnitrogének fémion-indukált deprotonálódása a molekula C-terminális része felé induljon és kétmagvú komplexek alakuljanak ki.

- Savas oldatban mindhárom vizsgált átmenetifémion az oldalláncbeli imidazolnitrogén(ek)en keresztül koordinálódik és különböző protonáltsági fokú, egymagvú részecskék képződnek. Réz(II)ionokat tartalmazó rendszerben, ligandumfelelsleg alkalmazása mellett biszkomplex is kialakul.
- A pH emelésével bekövetkezik az amidnitrogének fémion-indukált deprotonálódása és koordinációs izomerszerkezetek jönnek létre. A réz(II)komplexek közel 1:1 arányban képződnek a 329-es és 330-as pozíciójú imidazolilcsoportról induló amidkoordinációval, míg nikkel(II)ionok esetén mintegy 95%-ban a His330 az elsődleges horgonycsoport nagy pH-n.
- A két hisztidint tartalmazó származékok cink(II)komplexei esetében nem tapasztaltuk hidrolitikus folyamatok lejátszódását. A tömegspektrometriás vizsgálatok eredményei arra utalnak, hogy a pH növelésével amidkoordinált, egymagvú fémkomplexek alakulnak ki.
- Kétmagvú részecskék kialakulását csak réz(II)ionok jelenlétében tudtuk igazolni. A prolil-oldallánc jelenléte nem akadályozza meg a peptidnitrogének protonvesztését, de a képződő komplexek sztöchiometriájára hatással van. Míg a prolint tartalmazó származékokban legfeljebb egy amidnitrogén deprotonálódhat a karboxiterminus felé, az alanint tartalmazó pontmutáns esetén összesen hat peptidnitrogén vehet részt a fémionok koordinálásában.

3.2. Vizsgáltuk a *tau*(320-333) ligandum és három szomszédos hisztidil-oldalláncot tartalmazó származéka nikkel(II)- és cink(II)ionok jelenlétében lejátszódó oldategyensúlyi folyamatait.

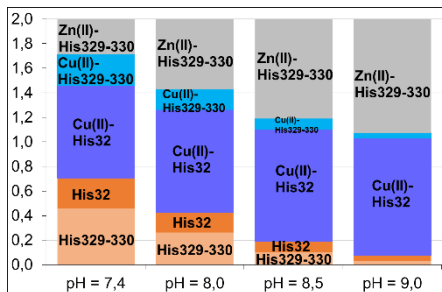
Megállapítottuk, hogy az egymagvú komplexekben mindkét fémion elsődleges kötőhelye az –SKCG– szekvencia tiolátkénatomja, ugyanakkor a két különböző fémion egyidejű jelenlétében a nikkel(II) a ciszteinil-oldalláncon, míg a cink(II) a szomszédos hisztidinek valamelyikén keresztül kötődik.

- A savas-semleges oldatban képződő komplexekben a nikkel(II) a peptidek oldalláncbeli imidazolil- és tiolátcsoportján keresztül koordinálódik. $\text{pH} > 7$ fölött kialakulnak az amidkoordinált részecskék: $\sim 70\%$ -ban olyan komplexek keletkeznek, melyekben a fémion a cisztein tiolátkénatomon és a szomszédos deprotonálódott amidnitrogénekén keresztül kötődik. Ez arra utal, hogy a nikkel(II)ion számára a ciszteinil-oldallánc kedvezőbb kötőhelyet jelent mind két, mind pedig három szomszédos hisztidinnél. Fémoonfelesen alkalmazása esetén egy nikkel(II) az –SKCG– szekvencia tiolátkénatomjához kötődik, míg a másik fémion az imidazolilcsoportok valamelyikén keresztül koordinálódik.
- Cink(II)ionok jelenlétében nagy stabilitású S,N-donoratomok által koordinált fémkomplexek képződnek. Az amidnitrogének valószínűleg nem képesek kiszorítani a cisztein tiolátkénatomot a fémion koordinációs szférájából, és bázikus oldatban a peptidnitrogének deprotonálódása helyett hidrolitikus folyamatok játszódnak le.
- Vegyes Ni(II)/Zn(II)-komplexek csak $\text{pH} > 8$ fölött képződnek. Savas, semleges, sőt még enyhén bázikus oldatban is az 1:1 sztöchiometriájú cink(II)komplexek az uralkodó részecskék a különböző fémionokat tartalmazó rendszerben, bizonyítva ezen specieszek kiemelkedő termodinamikai stabilitását. A kétmagvú vegyes részecskékben a nikkel(II) számára a cisztein tiolátcsoportja jelenti az elsődleges horgonycsoportot, a cink(II)ionok pedig a rendelkezésre álló másik kötőhelyet foglalják el. Ez egyértelmű különbséget jelent az egymagvú cink(II)komplexekben megfigyelt koordinációs viszonyokhoz képest, mely részecskékben a fémion fő kötőhelye a cisztein tiolátcsoportja.

3.3. A His32 és a His329-His330 imidazolilcsoportok fémionmegkötő-képességét, illetve az egyes kötőhelyek szelektivitását a $\tau(30\text{-}34)(327\text{-}332)$ kiméra peptiden keresztül tanulmányoztuk. Megállapítottuk, hogy mind egy, mind két fémiont tartalmazó rendszerben a His32 hisztidin jelenti az elsődleges

kötőhelyet a réz(II) számára, míg a cink(II) a szomszédos imidazolgyűrűkön keresztül koordinálódik.

- A savas mintában kialakuló egymagvú komplexekben a ligandum három hisztidinje közül a 330-as pozíciójú imidazolilcsoport mutatja a legnagyobb affinitást a réz(II)ion megkötésére. Az amidnitrogének koordinációban való részvételével feltehetően megváltozik a His32 és a His329-His330 hisztidil-oldalláncok körüli kötőhely fémionaffinitása és a preferencia a pH növelésével a –TMH– szekvenciára tevődik át. Fiziológias pH-n és bázikus oldatban ~ 80%-ban olyan koordinációs izomerek keletkeznek, melyekben a réz(II) a His32 kémiai környezetét modellező imidazolilcsoporton keresztül koordinálódik.
- A kiméra peptid kiemelkedő réz(II)ionkötő affinitását igazolja, hogy fémionfelesleg alkalmazása mellett valamennyi hisztidil-oldallánc elkülönült kötőhellyé válik és két-, illetve hárommagvú komplexek is kialakulnak.
- A cink(II)ionok jelenlétében fiziológias pH-n képződő komplexben a fémiont feltehetően mindhárom hisztidin imidazol-nitrogénatom koordinálja nagy stabilitású makrokelát szerkezetet kialakítva, de nem zárható ki az aszparaginsav karboxilátcsoportjának koordinációban való részvétele sem. A pH növelésével bekövetkező amidnitrogén-deprotonálódáshoz és -koordinációhoz feltehetően a szomszédos hisztidinek egyike szolgál horgonycsoportként.
- Az egy fémiont tartalmazó törzsrendszerek vizsgálatából levont következtetéseinket a vegyes Cu(II)/Zn(II)-tartalmú minták vizsgálata is alátámasztja. A fiziológias és bázikus pH-tartományban az N-terminális hisztidil-oldallánc jelenti az elsődleges kötőhelyet a réz(II) számára, míg a cink(II)ionok a karboxiterminusus két szom-



2. ábra: A Cu(II)- és Zn(II)-ionok megoszlása a His32 és His329-His330 kötőhelyek között

szédos hisztidinjének valamelyikéhez koordinálnak (2. ábra).

3.4. A HAVAHHH-NH₂ ligandum segítségével arra kerestük a választ, hogy a „hisztaminszerű” kötésmód kialakítására lehetőséget biztosító horgonycsoportok jelenléte miként befolyásolja a komplexképződési folyamatokat. Megállapítottuk, hogy savas oldatban a terminális aminocsoport és a szomszédos hisztidin jelenti az elsődleges kötőhelyet mindhárom vizsgált átmenetifémion számára, a pH növelésével azonban koordinációs izomerszerkezetek alakulnak ki.

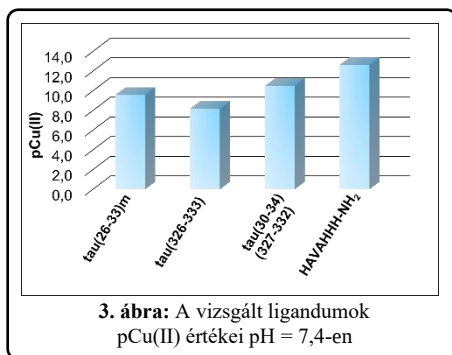
- A savas mintában képződő, „hisztaminszerű” kötésmódot tartalmazó átmenetifémkomplexek szerkezetét feltehetően a C-terminális hisztidinek kiegészítő koordinációja stabilizálja.
- A cink(II)komplexek esetén a négy vagy öt donorcsoport részvételével kialakuló nagy stabilitású makrokelát szerkezet sem képes megóvni a fémiont a hidrolízistől, és bázikus közegben cink(II)-hidroxid csapadék válik le.
- A réz(II)- és nikkel(II)ionok bázikus oldatban elősegítik a peptidnitrogének protonvesztését és koordinációs izomerszerkezetek alakulnak ki. Nagy pH-n a réz(II)iont az N-, illetve a C-terminális részen kötő izomerek aránya megközelítőleg 1:1, míg a nikkel(II) számára az aminonitrogén egyértelműen jobb kötőhelyet jelent a –HHH– szekvenciánál.
- Fémionfelesleg alkalmazása mellett kétmagvú réz(II)- és nikkel(II)komplexek is kialakulnak, habár képződésük pH-tartománya eltér. Ha a két fémion egyaránt jelen van, a háromkomponensű rendszerben a vegyes Cu(II)/Ni(II)-részecskék mellett nagyszámú koordinációs izomerszerkezet kialakulásával kell számolnunk.

3.5. A vizsgált ligandumokon keresztül összehasonlítottuk a különböző kémiai környezetben található horgonycsoportok fémionkötő-képességét. Megállapítottuk, hogy a fiziológiás pH-tartományban a réz(II)- és nikkel(II)ionok „hisztaminszerű” koordinációja a preferált kötésmód, míg a cink(II) számára az S,N-donoratomok biztosítják a legkedvezőbb koordinációs környezetet. A bázikus oldatban képződő amidkoordinációjú komplexekben a réz(II) számára a –TMH– szekvencia hisztidinje, a nikkel(II) számára a cisztein tiolátkénatomja, míg a cink(II)

számára a kiméra peptid két szomszédos imidazolilcsoportja bizonyult a legerősebb kötőhelynek.

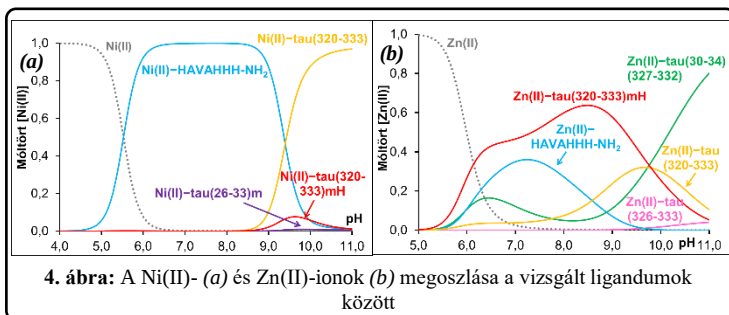
- A tanulmányozott hisztidintartalmú ligandumok legnagyobb affinitással a réz(II)ionokat koordinálják, de termodinamikailag stabil nikkel(II)- és cink(II)komplexek is kialakulnak.
- A fiziológias pH-n képződő, „hisztaminszerű” kötőmódot tartalmazó réz(II)- és nikkel(II)komplexek szerkezetét feltehetően a C-terminális szomszédos imidazolilcsoportok kiegészítő koordinációja is stabilizálja.

- A réz(II) számára a –TMH– szekvencia kedvező koordinációs környezetet biztosít már semleges pH-jú mintában is (3. ábra), amit a hisztidin közvetlen környezetében található treonil- és/ vagy metionil-



3. ábra: A vizsgált ligandumok pCu(II) értékei pH = 7,4-en

- oldallánc hatásának tulajdoníthatunk. A bázikus oldatban képződő amidkoordinált részecskékben pedig ez a kötőhely erősebb horgonycsoportnak bizonyult mind a terminális aminonitrogénnél, mind pedig a szomszédos imidazolil-oldalláncoknál.
- Az említett –TMH– motívum kitűnő réz(II)ionkötő affinitását támasztja alá, hogy az Ac-ATMHQD-NH₂ ligandum képes fiziológias pH-n kiszorítani a két hisztidint tartalmazó származékot a réz(II)–tau(326-333)m részecskéből és azt helyettesítve, nagy stabilitású komplex formájában szelektíven kötni a fémiont.
- Az amidkoordinációjú komplexekben a nikkel(II)ion számára a tiolátkénatom jelenti a legerősebb horgonycsoportot (4/a. ábra).
- A fiziológias pH-tartományban a cink(II) számára a cisztein tiolátkénatomján keresztül, valamint a „hisztaminszerű” kötőmód is kedvező, különösen, ha a kialakuló komplexek szerkezetét egyéb donorcsoportok – jelen esetben hisztidin imidazolnitrogének – kiegészítő koordinációja stabilizálja (4/b. ábra). A pH növelésével az amidnitrogének fémion-indukált deprotonálódása kerül előtérbe, melyhez a hisztidil-oldallánc szolgál horgonyként.



3.6. Tanulmányoztuk a tau(326-333) KL peptid A β (1-42) ligandum aggregációjára gyakorolt hatását. Ezzel összefüggésben vizsgáltuk, hogy a hidrofób –KLVFF– szekvencia kapcsolása miként befolyásolja a tau(326-333) oldatfázisban, réz(II)ionok jelenlétében lejátszódó komplexképződési folyamatait. Megállapítottuk, hogy sem az említett pentapeptid-részlet kapcsolása, sem pedig az oldószercseré nincs jelentős hatással a képződő komplexek szerkezetére és a réz(II) kötémódjára.

- A hidrofób –KLVFF– láncot tartalmazó fragmens kis vízdékonysága miatt a tau(326-333) KL ligandum oldatfázisban lejátszódó komplexképződési folyamatait 70% (V/V) DMSO-víz oldószerkeletben tanulmányoztuk. Megállapítottuk, hogy – az általunk vizsgált koncentrációtartományban – mind vizes oldatban, mind pedig oldószerkeletben azonos koordinációs módú komplexek képződnek, és a részecskék kötémódjára sem az oldószercseré, sem pedig a hidrofób –KLVFF– peptidrészlet jelenléte nincs jelentős hatással.
- **Egy nemzetközi együttműködés keretében vizsgáltuk a tau(326-333) KL ligandum A β (1-42) aggregációjára gyakorolt hatását. Habár a vizsgált peptid nem hajlamos szátképzésre, az A β származék aggregációs folyamatait csak kismértékben gátolja.**

IV. AZ EREDMÉNYEK HASZNOSÍTÁSI LEHETŐSÉGEI

A neurodegeneratív megbetegedések, így az Alzheimer-kór kialakulásával kapcsolatban is mind a mai napig rengeteg a megválaszolatlan kérdés. Többek között azt sem értjük pontosan, hogy a különböző fémionok miként járulnak hozzá az AK-kórkép kialakulásához, illetve az egyes kationok tau fehérjén belüli elsődleges kötőhelye is tisztázásra vár. A 3. fejezetben bemutatott eredmények a bioszervetlen és (bio)koordinációs kémia területén alaputatás jellegűek, ugyanakkor a különböző tau peptidfragmensek réz(II)- és cink(II)ionok jelenlétében lejátszódó komplexkémiai viselkedésének megismerése hozzájárulhat a betegség hátterének megértéséhez, illetve molekuláris szintű alapokat nyújthat a későbbi *in vivo* kutatásokhoz.

Az Alzheimer-kórban szenvedők agyában felhalmozódó fehérje-aggregátumokban fémionok (pl. réz(II)) jelenlétét mutatták ki, így az ismertetett eredmények közül gyakorlati szempontból talán a legérdekesebb a –TMH– szekvencia réz(II)ionok megkötésére mutatott kiemelkedő affinitása. Ezen tulajdonság révén az említett motívumot tartalmazó kis tagszámú peptidek akár potenciális kelátorokként is ígéretesek lehetnek. Említést érdemel, hogy ezek a származékok lényegesen kisebb stabilitású komplexeket képeznek a – szintén esszenciális – cink(II)ionokkal, vagyis a –TMH– részletet tartalmazó ligandumok megfelelhetnek a kelátorokkal szemben támasztott szelektivitási követelményeknek is.



DEBRECENI
EGYETEM

DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/443/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Balogh Bettina Diána
Doktori Iskola: Kémiai Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10069142

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Idegén nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (3)

1. **Balogh, B. D.**, Szakács, B., Di Natale, G., Tabbi, G., Pappalardo, G., Sóvágó, I., Várnagy, K.:
Copper (II) binding properties of an octapeptide fragment from the R3 region of tau protein: A combined potentiometric, spectroscopic and mass spectrometric study.
J. Inorg. Biochem. 217, 1-13, 2021. ISSN: 0162-0134.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111358>
IF: 4.336
2. **Balogh, B. D.**, Szunyog, G., Lukács, M., Szakács, B., Sóvágó, I., Várnagy, K.: Thermodynamics and structural characterization of the nickel(II) and zinc(II) complexes of various peptide fragments of tau protein.
Dalton Trans. 50 (40), 14411-14420, 2021. ISSN: 1477-9226.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/D1DT02324A>
IF: 4.569
3. **Balogh, B. D.**, Bihari, Z., Buglyó, P., Csire, G., Kerekes, Z., Lukács, M., Sóvágó, I., Várnagy, K.:
Metal binding selectivity of an N-terminally free multihistidine peptide HAVAHHH-NH.
New J. Chem. 43 (2), 907-916, 2019. ISSN: 1144-0546.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C8NJ04538K>
IF: 3.288





**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

További közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (1)

4. Székely, E., Csire, G., **Balogh, B. D.**, Erdei, J. Z., Király, J. M., Kocsi, J., Pinkóczy, J., Várnagy, K.:

The Role of Side Chains in the Fine-Tuning of the Metal-Binding Ability of Multihistidine Peptides.

Molecules. 27, 1-29, 2022. ISSN: 1420-3049.

DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27113435>

IF: 4.927 (2021)

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 17,12

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
12,193**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománytermetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2022.10.13.

