

Oldatokban végbemenő folyamatok egyensúlyi és kinetikai vizsgálata

Habilitációs tézisek

Ősz Katalin

Debreceni Egyetem
Természettudományi és Technológiai Kar
Fizikai Kémiai Tanszék
2011.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzések.....	3
2. Vizsgálati módszerek.....	5
3. Új tudományos eredmények.....	6
3.1. A prion betegségek kialakulásával kapcsolatos oldategyensúlyi vizsgálatok.....	6
3.2. Az Alzheimer-kór amiloid- β peptidjével és ennek fémkomplexeivel kapcsolatos eredmények.....	12
3.3. Protonálódási és komplexképződési mikrofolyamatok tanulmányozása.....	16
3.4. Rénium- és ruténiumkomplexek katalitikus hatásának kinetikai vizsgálata.....	20
4. Az eredmények várható alkalmazási lehetőségei.....	22
5. Publikációk.....	23
5.1. A habilitációs tézisekben összefoglalt tudományos közlemények.....	23
5.2. A habilitációs tézisek témájához kapcsolódó konferenciaanyagok.....	26

1. Bevezetés és célkitűzések

Neurodegeneratív betegségek biokémiai hátterének a vizsgálata

Manapság egyre többet lehet hallani az agyvelő degeneratív elváltozásait okozó megbetegedésekről. Az egyik ilyen betegség, az átlátható szivacsos agyvelősorvadás (TSE) számos állatfajban és az emberben is évtizedek óta ismert, mindig halállal végződő betegség. Az orvosokon kívül a közvéleményt azonban nemigen foglalkoztatta ezen ritka betegség mindaddig, amíg 1985-ben el nem kezdődött az angliai kergemarhakór (BSE) járvány, és nem sokkal később a BSE eredetűnek vélt, emberéleteket is követelő Creutzfeld-Jakob kór (CJD) is megjelent. Az Alzheimer-kór (AD) ezzel szemben manapság igen gyakorinak számít. A betegség kialakulása az életkor előrehaladtával egyre valószínűbb, a 90 éves kor feletti lakosságnak akár 10%-át is érintheti. Biológiai minták vizsgálatakor azt találták, hogy a beteg agyszövetekben egy olyan fehérje csapódik ki (TSE esetén ennek a neve prion protein, AD esetében pedig amiloid- β fehérje), ami az egészséges szövetekben is megtalálható, azonban a betegség kialakulása során megváltozik a konformációja (anélkül, hogy az aminosav-szekvenciájában bármilyen változás vagy mutáció menne végbe), és így plakkok formájában kicsapódik. Ezeknek a plakkoknak a vizsgálata azt mutatta, hogy benne a fémionok előfordulása eltérő, mint az egészséges agyszövetben, arra azonban máig nincs egyértelmű magyarázat, hogy ez vajon okozója vagy következménye-e a betegségnek. S.B. Prusiner Nobel-díjas (1997) amerikai kutató elmélete alapján a „kórokozó” olyan fehérje, amely az egészséges szervezetben is megtalálható, de a konformáció megváltozásával fehérjeaggregátumként kicsapódik az agyban, ráadásul autokatalitikus módon gyorsítja az egészséges fehérjék kóros konformációváltozását. Azt is egyre több vizsgálat támasztja alá, hogy a betegség kialakulásában jelentős szerepet játszik az agy fémionegyensúlyának a felborulása.

Vizsgálataink során az előzőekben említett két betegségért felelős fehérjének – a prion proteinnek és az amiloid- β fehérjének, – illetve ezek kisebb modellvegyületeinek a betegség kialakulásáért felelős fémionokkal alkotott törzs- és vegyes komplexeit tanulmányozzuk. Ezen fehérjék több hisztidint, illetve egyéb koordinálódó oldalláncú aminosavakat is tartalmaznak, így akár viszonylag nagy mennyiségű fémion megkötésére is képesek.

Protonálódási és komplexképződési mikrofolyamatok

Számos biokémiai folyamat tanulmányozása során (ilyen az előzőekben említett, neurodegeneratív betegségekkel kapcsolatos fehérjéknek, de emellett metalloproteinek aktív centrumának a modellezésére tervezett kismolekuláknak a vizsgálata is) több, egymáshoz térben többé-kevésbé közeli funkciós csoport található, melyek mind az hidrogénion, mind a

fémionok számára lehetséges kötőhelyet jelentenek. Az általában protonálódási és komplexképződési folyamatok vizsgálatára alkalmazott módszerek (pH-potenciometria, UV-Vis spektrofotometria) az ún. makroszkopikus folyamatokat írják le, azaz megadhatjuk a segítségükkel a képződő részecskék összetételét (sztöchiometriáját) és stabilitási állandóját, azonban több lehetséges kötőhely esetében nem érzékenyek a kötődés pontos helyére. Ennek megállapítására egyrészt olyan spektroszkópiai módszerekre van szükség, amely külön látja ezeket a kötőhelyeket (ilyen pl. az NMR, vagy a cirkuláris dikroizmus spektroszkópia), illetve bizonyos esetekben az eredmények kiértékelésére újfajta matematikai kezelésmódra, azaz mikroállandók megállapítására szolgáló új módszerekre is szükség lehet. Ez leginkább egymással átfedő folyamatok értelmezésénél merül fel; amikor is több folyamat közel azonos pH-tartományban játszódik le (ide tartozik a több azonos koordinálódó aminosavat tartalmazó peptidek deprotonálódása és komplexképzése), illetve amikor egy-egy jel ugyan nagyrészt egy-egy folyamathoz rendelhető, ugyanakkor ez a hozzárendelés nem kizárólagos, azaz más folyamatok hatását is érezni lehet az adott csoporton, bár kisebb mértékben. Ez utóbbi esetben nem – vagy nemcsak – a kémiai folyamatok, hanem az azok követésére használható spektroszkópiai adatok is átfednek egymással.

Fémkomplexekkel katalizált reakciók kinetikai vizsgálata

Kutatási tevékenységem reakciókinetikával foglalkozó területe egyrészt a homogén, másrészt a heterogén katalízist érinti. Ezen két nagy területet összehasonlítva a homogén katalízis előnyei közé elsősorban a katalizátorok jelentős aktivitását és szelektivitását szokás sorolni. Emellett homogén katalitikus reakciók esetében a folyamatok reprodukálhatósága lényegesen jobb (nem befolyásolják a sebességet pl. olyan, viszonylag nehezen kontrollálható tényezők, mint amilyen a keverés sebessége, vagy a katalizátor részecskeeloszlása), és a követésükre is többféle on-line módszer alkalmazható. Ugyanakkor a reakció végén a katalizátor elválasztására ipari méretekben gyakran nincs megoldás, és így alkalmazásuk nem gazdaságos.

Számos próbálkozás történik arra, hogy a fémkomplex katalizátor a reakció végén lehetőleg teljes mértékben visszanyerhető, és újabb folyamatokban ismételten felhasználható legyen. Az egyik ilyen lehetőség a katalizátor szilárd hordozón történő megkötése, azonban ez sokszor a katalitikus aktivitás vagy a szelektivitás csökkenésével, leoldódással, vagy más problémával járt. Jóval nagyobb sikert értek el azokban az esetekben, amikor két egymással nem elegyedő oldószert alkalmaztak: az egyik oldószert ilyenkor a katalizátort, a másik pedig a szubsztrátumot, illetve a reakció termékét tartalmazza. A legtöbb átalakítandó szubsztrátum szerves vegyület, melyek többsége csak szerves oldószerekben oldódik, így ez képezi a szerves fázist, a másik fázis pedig – a környezetvédelmi szempontokat szem előtt tartva – a katalizátor vizes oldata. Ilyen környezetbarát, vízzeloldható katalizátorok fejlesztésével, illetve működésüknek reakciókinetikai vizsgálatával is foglalkoztam az utóbbi években.

2. Vizsgálati módszerek

Oldategyensúlyi mérések és számolások

A különféle aminosav- és peptidszármazék ligandumok esetében vizes (vagy oldhatósági problémák esetén vizes-etanolos) oldatban, pH-potenciometriás módszerrel határoztuk meg a ligandum protonálódási állandóit, illetve a különféle fémionokkal keletkező komplexeknek a stabilitási állandóit. A titrálási görbe kiértékeléséhez többféle illesztőprogramot (PSEQUAD, Superquad, Hyperquad) is használtunk. A rendszerben képződő részecskék (különféle protonáltsági fokú ligandumok, ill. komplexek) szerkezetét egyrészt a stabilitási állandó adatok hasonló komplexekkel való kritikai összevetése alapján, másrészt különféle spektroszkópiai módszerekkel határoztuk meg. Az általunk alkalmazott legfontosabb technikák a következők voltak: ^1H - ^{13}C - és ^{31}P -NMR, többdimenziós NMR technikák (*ligandumprotonálódás, cink(II)-, síknégyzetes nikkell(II)-, valamint palládium(II)komplexek*), spektrofotometria (UV-Vis), cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia (*réz(II)-, nikkell(II)-, palládium(II)-, kobalt(II)komplexek*), tömegspektrometria (ESI-MS), ESR (*réz(II)komplexek*). Ezen módszerek használatánál valamennyi esetben különféle fémion/ligandum arányoknál, illetve különféle pH-értékeken szükséges volt méréseket végezni.

A mikroállandók meghatározására egyrészt NMR módszert alkalmaztunk (a *ligandum protonálódási folyamatait*), másrészt a színes fémkomplexek (főképp *réz(II)komplexek*) esetében CD mérésekből nyert információ segítségével végeztük el a szükséges számításokat. A matematikai modellek felállítását követően az illesztésekhez MicroMath Scientist, Matlab, valamint Microsoft Excel Solver programot használtunk.

Kinetikai mérések és kiértékelésük

Homogén fázisú kinetikai méréseinket szobahőmérsékleten spektrofotometriásan, illetve – lassúbb reakciók esetében – időfüggő NMR mérésekkel követtük. A rendszerek levegőre nem voltak érzékenyek. A reakciókat szerves oldószerekben (toluol, benzol) hajtottuk végre. A kinetikai görbék kiértékelésére egyrészt a kezdeti sebességek módszerét alkalmaztunk, másrészt a teljes kinetikai görbétet különféle kinetikai és egyéb illesztőprogramok (MicroMath Scientist, Microcal Origin, Kaleidagraph, KinSim, ZiTa) segítségével elemeztük.

Heterogén katalitikus reakcióinknál a katalizátort valamennyi esetben a reaktánsokkal és termékekkel nem elegyedő, puffertelt (foszfát-, ill. citrát-puffert tartalmazó) vizes fázis tartalmazta. A reakciók oxigénre való érzékenysége miatt szükséges volt a Schlenk-technika (argonatmoszféra) alkalmazása. A reakciók egy részét ugyanakkor magas hőmérsékleten (80 °C) kellett végrehajtani annak érdekében, hogy néhány óra alatt megfelelő konverziót érjünk el. A reakciók előrehaladtát gázkromatográfiásan követtük, azonban egyes esetekben (szobahőmérsékleten) NMR méréseket is végeztünk.

3. Új tudományos eredmények

3.1. A prion betegségek kialakulásával kapcsolatos oldategyensúlyi vizsgálatok

A humán prion protein (HuPrP) egy 250 aminosavból felépülő fehérje, amely réztároló és -szállító funkciót lát el az agyban. A fehérje nagy része (HuPrP91-230) rendezetlen szerkezetű, és proteázokkal nem lebontható. Itt található a toxicitásért felelős HuPrP106-126 szakasz is, amely a protein aggregálódásáért, így a betegség kialakulásáért közvetlenül felelős.

A prion protein esetében három fontos, C- és N-terminálisan védett (a natív peptidben nem terminális) fragmenst kell vizsgálni, melyek részt vehetnek a fémionok kötésében: az első az „octarepeat” HuPrP57-91 és kisebb származékai (HuPrP60-91, HuPrP61-65, HuPrP60-85), ahol egy nagyon jellegzetes, 8 aminosavat tartalmazó [PHGGGWGQ] peptidszekvencia ismétlődik négyszer. Az aminosavak között található egy hisztidin, ami igen erős fémmegkötő sajátosságú, és indukálhatja a vele kelátképző helyzetben lévő peptidcsoportok pH növelésével végbemenő lépcsőzetes deprotonálódását is. A szekvenciában található emellett egy prolin is (P), amelyről ismert az, hogy meg tudja állítani a lépcsőzetes peptid-deprotonálódást, mivel a peptidcsoport kialakulása után nem tartalmaz NH-csoportot. A triptofán (W) és glutamin (Q) szerepe ennél jelentéktelenebb, azonban ha a koordináció irányításában nem is, de a fém kötésében, a másodlagos szerkezet és az oldhatósági viszonyok kialakításában ezen csoportok is részt vehetnek.

A második, neurotoxicitásért felelős fragmens az emberben és a csirkében lévő egyik nonapeptid prion szakasz (HuPrP106-114 [KTNMKHMAG] és ChPrP119-127 [KTNFKHVAG]), amely mindössze két aminosavban tér el egymástól. A kétféle peptidszekvencia közötti különbség az, hogy amíg az emberből izolált protein metionint (M) tartalmaz a 109. és 112. pozícióban, addig a csirkéből izolált proteinben itt fenilalanin (F), ill. valin (V) található. (Lehetséges, hogy ennek tulajdonítható az a tény, miszerint a csirkéknek nincs prion betegsége.) Ugyanezt a szekvenciát tetrapeptidben is tanulmányoztuk (HuPrP94-97 [GTHS], HuPrP109-112 és ChPrP122-125) annak eldöntésére, vajon mennyi a minimális aminosavsáv ezen kötőhely megfelelő modellezésére. Ugyanennél a fémmegkötő helynél nemcsak a natív szekvenciát, hanem a HuPrP106-126 Scrambled peptidet [NGAKALMGGHGATKVMVGAAA] is előállítottuk annak tanulmányozására, hogy a fémmegkötés szempontjából az egyes aminosavaknak kémiai minőségének, vagy azok egymáshoz képesti pozíciójának van-e jelentősebb szerepe.

A harmadik fontos fémmegkötő rész a HuPrP184-188 pentapeptid, [IKQHT]. Ez egyetlen hisztidint tartalmaz, és koordinációs szempontból jól összevethető a második fragmens tetrapeptidjeivel. Itt is vizsgáltunk egy ennél nagyobb modellpeptidet is, a HuPrP180-193 [VNITIKQHTVTTTT] szakaszt.

A kisebb peptidszármazékok vizsgálata mellett annak a megválaszolása is alapvető volt, hogy vajon a teljes peptidben az egyes kötőhelyek hogyan versengenek egymással különféle fémionok esetében (akár többféle fémiont tartalmazó rendszerekben). Ehhez olyan származékok (pl. HuPrP91-115, HuPrP84-114 és mutánsai, HuPrP76-114) mérésére volt szükség, amelyek egyszerre tartalmazzák a különféle tartományokban lévő hisztidineket. Ezen nagyméretű, sok, de térben távol lévő koordinálódó csoportot tartalmazó peptideknek a vizsgálatánál már szükség van a klasszikustól némiképp eltérő kezelésmódra, a stabilitási állandók és az ezekből levonható következtetések (pl. kooperativitás), eredmények matematikai statisztikai elemzésére, illetve – a több „octarepeat” egységet tartalmazó származékoknál a peptidek és a komplexek oldhatóságá növelendő – a peptidlánc polietilén-glikollal (PEG) való kapcsolására. Tapasztalataink szerint ez utóbbi módszer más típusú, több aminosavat tartalmazó peptidek esetében is hatékonyan növelte az oldhatóságot. Emellett a fémion kötőhelyek közötti megoszlásánál egy új, komplexképződési mikroállandók meghatározására alkalmas módszert is kifejlesztettünk; ez utóbbiról részletesebben a 3.3. fejezetben lesz szó.

3.1.1. Vizsgáltuk a prion protein „octarepeat” tartományának a protonálódási folyamatait, valamint a komplexképződését különféle átmenetifém-ionokkal (ezek közül réz(II)ionnal kaptuk a legérdekesebb eredményeket). A pH növelésével – a peptidszekvenciában a hisztidint megelőző prolin hatására – a deprotonálódás a C-terminális irányba indul el, és így első lépésben egy 7-tagú, a kisebb tagszámúakhoz képest kisebb stabilitású kelátrendszer alakul ki. (C1.1., C1.2., C1.3.)

Az egyetlen „octarepeat” monomer egységet tartalmazó peptid réz(II)komplexei esetében a pH növelésével lépcsőzetes deprotonálódás figyelhető meg a peptid C-terminális irányába. Ennek a koordinációs módnak a stabilitása kisebb, mint a hisztidin-tartalmú peptideknél általános, N-terminális irányú deprotonálódásé, de így is képes a fémiont a teljes mérhető pH-tartományban (pH 2-11) megvédeni a hidrolízistól.

Amennyiben a vizsgált peptid egynél több (kettő vagy négy) „octarepeat” egységet tartalmaz, már megfigyelhető az ezek közötti kooperativitás, azaz az első fémionnak a koordinációja erősen megnöveli a második fémion koordinációs készségét azáltal, hogy az első réz(II) koordinációja megváltoztatja a fehérje konformációját oly módon, ami kedvezőbb a többi fémion számára is. Ennek megfelelően pl. a Cu(II)/„octarepeat dimer” rendszerben már 1:1 fémion/ligandum aránynál is nagy mennyiségben megjelennek a kétmagvú (két réz(II)iont tartalmazó) komplexek, ugyanakkor a peptid kb. 50%-a fémiontól mentes, szabad formában található. Ugyanez a hatás a „tetra-octarepeat” ligandumnál még erőteljesebb (ez esetben a négymagvú komplexek stabilitása kitüntetett).

3.1.2. Részletesen tanulmányoztuk a konformációs változásokért felelős, emberben előforduló HuPrP106-126 fragmens, illetve az ennek a kisebb modelljét képező HuPrP106-114 és a csirkében lévő ChPrP119-127 réz(II)- és cink(II)komplexeit. Emellett előállítottunk egy olyan szekvenciát is (HuPrP106-126Scrambled), amely ugyanazokat az aminosavakat tartalmazza, mint a natív prion proteinben található szakasz, de az aminosavak sorrendje össze van keverve, és ennek is megvizsgáltuk az előbb említett fémekkel való komplexképzését. (C1.1., C1.4., C1.5., C1.6.)

A 106-126 peptidszakasz esetében vizsgálataink alapján jóval stabilabb komplexek képződnek, mint az egyetlen „octarepeat” egységet tartalmazó modellekkel. A hisztidin koordinálódása után az amidnitrogének deprotonálódása az N-terminális irányba megy végbe, így végül nagy pH-ra stabilis, (6,5,5)-tagú csatolt kelátrendszer jön létre. Emellett a Cu(II)/HuPrP106-114 rendszer esetében a metionin koordinációja tovább növeli a 3N-es komplex stabilitását.

A HuPrP106-126 vizsgálata – összehasonlítva az előző származékokkal – hasonló eredményeket adott, igazolva azt, hogy ezen szekvencia hidrofób oldalláncai gyakorlatilag nem befolyásolják a fémek koordinációját.

A HuPrP106-126Scrambled szekvencia vizsgálata során problémát jelentett, hogy vizes oldatban 6-os pH felett drasztikusan lecsökkent a ligandum oldhatósága, így a mérések egy részét igen híg oldatokban, víz/etanol elegyben végeztük. Réz(II)ionnal csak 1:1 összetételű komplexek képződnek az imidazolil oldalláncon mint horgonyon keresztül, lépcsőzetes deprotonálódással. A 4N koordináció kialakulása után még két lizin deprotonálódását lehet detektálni a pH növelésével. A ligandum tartalmaz metionint is, ami azonban – a Cu(II)/HuPrP106-114 rendszerrel ellentétben – itt nincs megfelelő helyzetben ahhoz, hogy koordinálódjon. Ezen szekvencia sokkal inkább a Cu(II)/ChPrP119-127 rendszeréhez hasonlít mind koordinációs kémiai, mind biológiai szempontból.

Cink(II)ionnal ennél jóval gyengébb koordinációt sikerült csak kimutatni. Fiziológias pH-nál az imidazon keresztülli monodentát koordináció volt jellemző, amit a metionin jelenléte sem befolyásolt számottevően.

3.1.3. Meghatároztuk a prion protein helixII domain-jében található 187-es hisztidint tartalmazó egyhisztidines modellpeptidek protonálódási folyamatait, valamint réz(II)- és cink(II)ionnal alkotott komplexeit. Vizsgáltuk a peptid fémionokra vonatkozó szelektivitását és a kialakuló komplexek koordinációs módjait. (C1.7.)

Méréseink alapján a HuPrP184-188 fragmens igen szelektív rézre, a cink(II)ionnal csak nagyon kis stabilitású, 1N koordinációjú komplex képződött 6-os pH felett, azonban ennek a moltörtje legfeljebb 30%. Ezzel szemben a Cu(II)/HuPrP184-188 rendszerben

már 4-es pH- megkezdődik a komplexképződés a cink(II)komplexszel azonos 1N szerkezettel, majd ezt 5,5-ös pH-nál a két, N-terminális vég felőli amid-nitrogén kooperatív deprotonálódásával 3N, 8-as pH-n pedig 4N koordináció váltja fel. A nem-koordinálódó lizin deprotonálódása a szabad liganduméval egyező pK-val jellemezhető. A rendszeren a réz(II)/ligandum aránytól függetlenül csak 1:1 összetételű komplexek alakulnak ki, amelyeknek a stabilitása azonban nagyobb, mint bármely egyéb, egyetlen hisztidint tartalmazó prion szakaszé.

HuPrP180-193 esetén igen hasonló származtatott stabilitási állandókat és koordinációs módokat kaptunk, ami alapján megállapíthatjuk, hogy a HuPrP184-188 pentapeptid jó modellje a peptid helixII domain-jének.

3.1.4. *A kisebb méretű prion szegmensek (ChPrP122-125, HuPrP61-65, HuPrP109-112, HuPrP94-97, HuPrP184-188) vizsgálatát elvégeztük a réz(II)- és cink(II)-ionon kívül egyéb, létfontosságú és toxikus fémekkel is, amelyek – a korábbi irodalmi adatok alapján – szintén felelősek lehetnek a prion betegségek kialakulásáért. Ezen fémionok a következők: palládium(II), nikkel(II), kadmium(II), kobalt(II), mangán(II). Az összes vizsgált fém koordinációs erőssége Pd(II) >> Cu(II) > Ni(II) Zn(II) > Cd(II) ~ Co(II) > Mn(II) irányban csökken. (C1.4., C1.6.)*

Valamennyi esetben sikerült igazolni a His85-öt tartalmazó „octarepeat monomer” egység többi hisztidinhez (His96, His111, His187) képesti gyengébb koordinációs képességét. A legtöbb vizsgált fémionnal gyenge monodentát imidazol-koordináció alakul ki fiziológiás pH körül. Palládium(II) esetén ezzel szemben már egész savas pH-n képződik a 3N-es komplex, és a tioéter-kén koordinációja már itt jelentős különbséget eredményez a HuPrP és a ChPrP származékok között.

3.1.5. *Összevetettük az előzőekben leírt prion szakaszok fémmegkötő képességét. Ehhez egyrészt modellszámításokat végeztünk, melyben felhasználtuk az egy hisztidines szakaszok már ismert stabilitási állandóit és ezekből számoltuk a két- vagy többféle környezetben lévő hisztidin között a réz(II)ion megoszlását; másrészt vizsgáltunk olyan szekvenciákat is (HuPrP91-115, HuPrP84-114 és ennek mutánsai (HuPrP84-114His85Ala, HuPrP84-114His96Ala, HuPrP84-114His111Ala), HuPrP(76-114)), amelyek többféle különböző tartományban található hisztidineket tartalmaztak együtt (C1.2., C1.3., C1.5., C1.6., C1.7.)*

Az egy hisztidines modellpeptideket tartalmazó, számolt eloszlásgörbék azt mutatták, hogy a réz(II)ion számára a His187 kötőhely a legstabilabb. Ezzel összemérhető stabilitású a His111 és His96, az „octarepeat” tartományban található His85 pedig a

legkevésbé stabilis. Ez a kép azonban alapvetően megváltozik, ha az „octarepeat” esetében dimert vagy tetramert használunk a modellezésre: ez utóbbiak minden egyéb, „octarepeat” tartományon kívüli hisztidinnel eredményesen képesek versengeni a réz(II)ionért.

Az általunk vizsgált, hosszabb natív peptidszekvenciák 2, 3 vagy 4 hisztidint tartalmaznak (ennek megfelelően maximálisan 2, 3 vagy 4 réz(II)iont képesek megkötni). Emellett a háromhisztidines HuPrP84-114 szegmensnek három olyan mutánsát is vizsgáltuk, melyekben egy-egy hisztidint alaninra cseréltünk. A három különböző környezetben lévő hisztidin komplexképződési tulajdonságai nagyon hasonlóak: valamennyi esetben 1N-, 3N- és 4N-koordinációs mód tud kialakulni a pH növelésével. Leginkább az „octarepeat” tartományban lévő hisztidin (His85) különbözik a másik kettőtől, ez előbbi esetében ugyanis réz(II) hatására az amidnitrogének deprotonálódása nem a szokásos, N-terminális, hanem C-terminális irányban indul a prolin miatt. A legtöbb spektroszkópiás módszer (ESR, UV-Vis) csak arra érzékeny, hogy a fémionhoz hány, és milyen jellegű donorcsoport koordinálódik, így nem tud különbséget tenni a három hisztidin között. Azonban a három hisztidin körüli, különböző nem koordinálódó oldalláncokkal jellemezhető aminosav-sorrend miatt CD spektroszkópia igen érzékenynek bizonyult még a két teljesen azonos koordinációs módú hisztidin, a His96 és a His111 komplexképződésének a megkülönböztetésére is. A méréseink azt mutatták, hogy a His96 és His111 rézmegkötő képessége nagyobb, mint a His85-é, azonban az előbbi kettő egymáshoz viszonyított fémmegkötő képessége viszonylag nagymértékben függ a pH-tól is (fiziológias körülmények között His111 > His96 >> His85).

A több hisztidint tartalmazó HuPrP szekvenciák vizsgálata alátámasztotta, hogy semleges pH körül kialakulhat egy $[2 \times N(\text{Im})]$ koordinációjú, makrokelátos szerkezet; főleg a His85 és His96 aromás nitrogénjének a részvételével. Ez a részecske azonban nem jelenik meg nagy mennyiségben a rendszerben, főleg nem fiziológias koncentrációviszonyok között.

3.1.6. Statisztikai számításokat végeztünk a több hisztidint tartalmazó rendszerekben annak eldöntésére, hogy az egyes fémionok kötődése között van-e kimutatható kooperativitás, esetleg antikooperativitás. Ezekhez a számolásokhoz nem csak a hisztidinek számát és a fémion/ligandum arányt, hanem az egyes hisztidinek pH-függő fémmegkötő képességét (azaz az egyhisztidines modellekkel képződő komplexek már ismert stabilitási állandó értékeit) is felhasználtuk. (C1.2., C1.3.)

Kevés koordinálódó donorcsoportot tartalmazó peptidek fémkomplexei esetében az eloszlásgörbék alapján viszonylag egyszerűen megállapítható a többféle fémion

koordinálódásával kapcsolatos kooperativitás/antikooperativitás kérdése. Az általunk vizsgált származékoknál azonban – melyekben több, legfeljebb 4 azonos His horgonydonor található – már akár statisztikus okai is lehetnek annak, ha 1:1 fémion/ligandum aránynál megjelennek a többmagvú komplexek is. Ennek a kezelésére egy olyan, súlyozott statisztikai módszert dolgoztunk ki, melyben egyrészt felhasználtuk az egyes hisztidineknek az egymáshoz képesti kötési erősségét különböző arányoknál (azaz azt, hogy adott mennyiségű fémion hogyan oszlana el az egyes kötőhelyek között – lásd: 3.1.5. pont első szakasz), és az így kapott eredményeket vetettük össze a többhisztidines származék stabilitási állandóiból számolható tényleges, egymagvú-, kétmagvú- stb. komplexekre jellemző eloszlásokkal. Ezen módszer segítségével több esetben (pl. Cu(II)/HuPrP84-114) is sikerült igazolni, hogy 1:1 fémion/ligandum aránynál a többmagvú komplexek megjelenésének csupán statisztikai oka van, nincs a fémek koordinációja között kimutatható kooperativitás, sőt, kismértékű antikooperativitás figyelhető meg, ami a koordinált réz(II)ionok elektrosztatikus taszításával jól értelmezhető. Ugyanakkor az „octarepeat” tartományban lévő His-ek réz(II)megkötésénél ezen módszer is alátámasztott az igen erős kooperativitást.

Ezen módszert felhasználva sikerült értelmezni azt a kísérletileg is megállapított tényt, miszerint a többmagvú komplexeknek a kisebb fémion/ligandum arányoknál való megjelenése annál számottevőbb, minél nagyobb hányada található a fémionnak komplexben kötött formában, illetve minél inkább hasonló az egyes kötőhelyeken a koordinációs kötés erőssége.

3.2. Az Alzheimer-kór amiloid- β peptidjével és ennek fémkomplexeivel kapcsolatos eredmények

Az Alzheimer-kór kialakulásában az amiloid- β (1-42) felhalmozódása és plakkokká történő aggregációja játssza a kulcsszerepet. A fémmegekötés szempontjából a peptidnek egy 16 aminosavból álló szegmense (amiloid- β (1-16) $[\text{NH}_2\text{-DAEFRHDSGYEVHHQK}]$, a későbbiekben A β 1-16) játszik szerepet, itt található ugyanis az összes potenciális koordinálódó donorcsoport, ezért az A β 1-16 peptidnek, valamint ezen peptid még kisebb szegmenseinek a komplexképzését vizsgáltuk különféle fémionokkal.

A prion proteinnel ellentétben ezen peptidnél a lehetséges kötőhelyek egymástól nem olyan távol helyezkednek el, sőt, a szekvenciában szomszédos hisztidinek is találhatóak (His13 és His14).

A másik lényeges különbség a prionhoz képest, hogy az A β peptidnél közvetlenül az N-terminális rész felelős a fémkötésért, emiatt ezeket a modellpeptideket (A β 1- n származékok) szabad terminális aminocsoporttal kellett előállítani. A mérések azt mutatták, hogy ennek az aminocsoportnak valóban lényeges hozzájárulása van az teljes peptid fémmegekötő képességéhez.

A harmadik különbség, hogy itt nemcsak a hisztidin oldalláncokat (H) kell potenciális fémmegekötő helyekként kezelni, hanem – főként cink(II)ionnal szemben – az aszparaginsavak (D) és glutaminsavak (E) karboxilátcsoportjait is, melyek megint csak térben közel helyezkednek el mind a hisztidinekhez, mind a terminális aminocsoporthoz. Emiatt ezen peptid fémmegekötő szakaszának a modellezésére sokkal körültekintőbben kellett megválasztani az alkalmas modellpeptideket, mint az előző, prion proteinnel kapcsolatos vizsgálatoknál. Az általunk vizsgált szekvenciák a következők voltak: A β 1-4, Ac-A β 1-6, A β 1-6, A β 1-16, A β 1-16PEG, A β 1-16Tyr10Ala, A β 8-16 és A β 8-16Tyr10Ala (az utóbbi kettő – az Ac-A β 1-6-hoz hasonlóan – N-terminális végén védőcsoportot tartalmazott).

3.2.1. Vizsgáltuk az amiloid- β peptid N-terminális – a fémmegekötésért felelős – végét modellező különféle méretű peptideknek a réz(II) komplexeit. Az oldhatóság növelése érdekében az A β 1-16 fragmensnél szükség volt a peptidlánc PEG polimerrel való kapcsolására (PEG-ilálás). Megállapítottuk a képződő komplexek bruttó stabilitási állandóit, illetve szerkezetüket. Kimutattuk azt is, hogy hipermetalláció esetén konformációs változás következik be a peptid szerkezetében, amely a betegség kialakulásáért is felelős lehet. (C2.1.)

A vizsgálatok azt mutatták, hogy a peptid igen nagy fémmegekötő képességű: négy réz(II)iont képes megkötni a mérhető pH-tartományban (egészen 11-es pH-ig), és

négymagvú komplexek is kialakulnak a réz(II)/A β 1-16 rendszerben. A réz(II) a számos lehetséges kötőhely közül legstabilabban a peptid N-terminális végén kötődik. A fő kötési módok között – a pH-tól függően – megtalálható az [NH₂,COO_{Asp1}] kelátszerkezet, az [NH₂,COO_{Asp1},Im_{His6}] csatolt kelát-makrokelát rendszer, az N-terminális aminocsoportot tartalmazó rendszerekre jellemző, lépcsőzetes amidnitrogén-deprotonálódással kialakuló [NH₂,3 \times N⁻] koordináció, két távoli imidazolil oldallánc koordinálódásával kialakul makrokelátos szerkezet, illetve a hisztidinekről mind horgonycsoportokról kiinduló, lépcsőzetes deprotonálódással kialakuló 4N-es koordináció is megfigyelhető a rendszerben. Ez utóbbi érdekessége, hogy (habár a peptidszekvenciában nincs prolin, ami a deprotonálódás irányát megfordítaná a kevésbé stabilis C-terminális irányba) ebben a peptidben is megfigyelhető ezen koordinációs mód négy ekvivalensnyi réz(II) hatására: ekkor ugyanis – a His13 réz(II)kötésének a következtében – a réz(II) számára ettől független His14 horgonyról kiindulva már nincs lehetőség 3 amidnitrogén deprotonálódására az N-terminális irányba, így a deprotonálódás a C-terminális vég felé játszódik le nagy pH-n, egy csatolt, (7,5,5)-tagú kelátrendszer kialakulásával párhuzamosan.

Egy másik, a közeli donorcsoportokból adódó érdekesség, hogy hipermetalláció esetében az aminocsoportról és a His6-ról induló amid-deprotonálódások számára nagy pH-n (ahol a 4N-es koordináció lenne jellemző) már nincs elegendő amid-N. Ekkor az [NH₂,3 \times N⁻] koordináció bizonyult kedvezőbbnek az [Im_{His6},3 \times N⁻] koordinációval szemben, és így az utóbbi csak [Im_{His6},2 \times N⁻]-ig képes eljutni nagy pH-n is.

Azoknál a származékoknál, ahol a 10-es helyzetben lévő tirozint alaninra cseréltük (A β 1-16Tyr10Ala és A β 8-16Tyr10Ala), nem változott a képződő komplexeknek a koordinációs módja vagy stabilitása, tehát a tirozinnak ezen peptidnél nincs hatása a komplexképződésre.

3.2.2. Vizsgáltuk az amiloid- β peptid N-terminális részének, illetve ennek kisebb modellpeptidjeinek a cink(II)komplexeit. Azt találtuk, hogy ezen peptidszakasz akár négy cink(II) kötésére is képes, illetve megállapítottuk az ezen kötőhelyek közötti kötéserősségi sorrendet a pH függvényében. Ezt azt mutatta, hogy a cink(II) nem ugyanazokat a kötőhelyeket szereti, mint a réz(II)ion. (C2.2.)

Szemben a réz(II)ionnal, mely az A β 1-16 peptid N-terminális végéhez koordinálódik legnagyobb stabilitással, a cink(II) számára a szomszédos hisztidineket tartalmazó His13-His14 szakasz az elsődleges kötőhely fiziológiás pH-n. Egy másik alapvető különbség a réz(II)ionhoz képest, hogy míg réz(II) esetén a 13-as és a 14-es hisztidin független kötőhelyként működik, cink(II)ion esetén a két szomszédos His egyetlen fémiont képes megkötni, makrokelátszerű koordinációval.

Emellett cink(II)ionnal szemben nem csak a N-donor csoportoknak, hanem az Asp és Glu aminosavak karboxilátcsoportjának is sokkal inkább meghatározó szerepe van (réz(II) esetén ezek inkább csak a stabilitást növelték, a fő koordinációs módokat nem ők határozták meg).

A koordinációs tulajdonságok ezen különbségei alapján részben értelmezni lehet az A β biológiai rendszerekben tapasztalható, réz(II)-, illetve cink(II) hatására bekövetkező különböző aggregációs mechanizmusát.

3.2.3. Vizsgáltuk az amiloid- β peptid N-terminális részének, illetve ennek kisebb modellpeptidjeinek a réz(II)- és cink(II)ionnal alkotott vegyes komplexeit. Megállapítottuk, hogy – a várakozásnak megfelelően – a vegyes fémionos rendszerekben a két fém nemigen zavarja egymás koordinációját: a réz az N-terminális végen, a cink(II) pedig a belső, szomszédos hisztidineken kötődik. Ezen eredményekhez egyrészt olyan mintákat mértünk, melyek a peptiden kívül mindkét fémiont tartalmazták, illetve itt is készültek modellszámítások a kisebb peptidekkel kapott stabilitási adatok felhasználásával.

A két fémion peptiden belüli eltérő preferenciája miatt a két fémion viszonylag széles koncentrációtartományban nem verseng egymással a kötőhelyért. A versengés csak akkor jelentős, ha kettőnél több ekvivalensnyi réz(II)ion mellett kell a cinknek koordinálnia, ekkor viszont a cink(II) kötődése egyértelműen háttérbe szorul valamennyi kötőhelyen.

Emellett az egyszerre többféle fémet tartalmazó rendszerekben végzett titrálások azt mutatták, hogy a törzskomplexek mellett két- és hárommagvú, vegyes fémionos komplexek (CuZnLH_q , Cu_2ZnLH_q és CuZn_2LH_q) is képződnek pH 5 felett.

3.2.4. Részletesen vizsgáltuk az amiloid- β peptid N-terminális részének, illetve ennek kisebb modellpeptidjeinek a nikkel(II) törzskomplexeit, valamint a nikkel(II)-réz(II)- és nikkel(II)-réz(II)-cink(II) vegyes fémionos komplexeit. Megállapítottuk, hogy – habár a réz(II) kötődése a legstabilabb a peptidhez – mind a nikkel(II), mind a cink(II) képes jelentősen megváltoztatni a réz(II) különböző kötőhelyek közötti eloszlását. (C2.3.)

Az N-terminális vég (A β 1-6 és kisebb származékai) Ni(II)-komplexeinek vizsgálatával sikerült igazolni, hogy az amidnitrogén deprotonálódása mind az amino-, mind a 6-os helyzetben lévő His imidazolról kezdődően végbemehet, azonban – a réz(II)ionhoz hasonlóan – az előbbi sokkal nagyobb stabilitású, így a natív peptidben az $[\text{NH}_2, 3 \times \text{N}^-]$ koordináció valósul meg kooperatív módon.

Az A β 1-16 szekvencia akár két nikkell(II)ion megkötésére és oldatban tartására képes. Az első fémion az amino-terminális véghez kötődik, míg fémfelesleg esetében a második nikkell(II) a szomszédos (His13-His14) hisztidineket tartalmazó részhez koordinálódik valamivel gyengébben, de még így is megakadályozva azt, hogy a szabad Ni(II) nagyobb pH-nál hidrolizáljon. Mind a modellszámítások, mind a CD-spektroszkópiás mérések azt mutatták, hogy ligandumfelesleg esetében (azaz olyan körülmények között, amelyek jól modellezik az emberi szervezetben lévő koncentrációviszonyokat) a nikkell(II)ion mindössze 20%-a kötődik a szomszédos hisztidinekhez, a többi pedig az amino-véghez.

A Cu(II)/Ni(II)/A β 1-16 rendszerben azt találtuk, hogy – a cink(II)ionnal szemben – a nikkell(II) már képes lényegesen befolyásolni a réz(II) kötőhelyek közötti eloszlását, versengeni azonban nem tud a rézzel az N-terminális kötőhelyért. A nikkell(II) kötődése következtében a réz(II) még nagyobb hányadban koordinálódik az N-terminális részre, ahol a második fémion számára már nincs elég amid-nitrogén a 4N koordinációhoz.

Végeztünk olyan méréseket is, ahol nemcsak réz(II) és nikkell(II), hanem cink(II) is volt a ligandum mellett az oldatban. A ligandum ily módon is képes volt egy-egy ekvivalensnyit megkötni a háromféle fémionból a teljes mérhető pH tartományban. A nikkell(II) és cink(II) együttes jelenléte a réz(II) koordinációját még inkább az N-terminális részre kényszeríti. A cink(II) ezen hatása kiemelkedő jelentőségű abból a szempontból, hogy termodinamikai stabilitása ugyan alul marad a réz(II) és a nikkell(II) mellett, de nagy affinitással bír az A β 1-16 szomszédos hisztidineket tartalmazó része felé. Ezért a koordinációs helyért képes eredményesen versengeni az általában N-donorokkal stabilabbnak tartott nikkellel, és részben kiszorítani azt. A nikkell(II), amely – a másik két fémmel szemben – a ligandum mindkét végével csak egymagvú komplexet képes létrehozni, részben az N-terminális, részben pedig a belső hisztidineket tartalmazó kötőhelyen kénytelen koordinálódni.

3.3. Protonálódási és komplexképződési mikrofolyamatok tanulmányozása

3.3.1. *Új módszert dolgoztunk ki kisméretű, bisz(imidazol-2-il)-metilcsoportot tartalmazó aminosav- és peptidszármazék molekulák átfedő protonálódási mikrofolyamatainak a kezelésére. A módszer NMR spektroszkópiás méréseken alapszik, és képes olyan rendszerek egyensúlyi kezelésére is, amelyekben az egyes funkciós csoportok nem követhetők szelektíven egy-egy NMR jelen keresztül. (C3.1.)*

Oldategyensúlyi szempontból részletesen vizsgáltunk olyan kisméretű vegyületeket (bisz(imidazol-2-il)-propionsav, bisz(imidazol-2-il)-metil-amin (BIMA), N-glicil-bisz(imidazol-2-il)-metil-amin (Gly-BIMA), α -Glu-BIMA, γ -Glu-BIMA, His-BIMA, Phe-His-BIMA), amelyek több hisztidines koordinációjú metallopeptidek aktív helyét modellezik. Azonban – a natív peptiddel szemben – itt az imidazolil oldalláncok egymáshoz térben közel helyezkedtek el, ami a többnitrogénes fémmegkötés szempontjából rendkívül előnyös volt, azonban a ligandumok protonálódási mikrofolyamatainak a követését ugyanez nehezítette: a molekula olyan kis méretű, hogy gyakorlatilag valamennyi NMR-aktív mag érzi valamennyi helyen történő protonálódásnak a hatását – kisebb-nagyobb mértékben. Emiatt az egyes, protonálódásra hajlamos csoportok mikroszkopikus pK értékeinek a számolására egy olyan módszert dolgoztunk ki, ahol ezeket a kisebb-nagyobb hatásokat figyelembe vettük, de – a korábbi módszerekkel szemben – nem modellvegyületeken keresztül (amely modellvegyületek természetesen soha nem lehetnek tökéletes modellek), hanem közvetlenül a vizsgálandó származékokra meghatározva a mért adatokból. A matematikai modellt azzal a feltételezéssel állítottuk fel, miszerint egy adott NMR-aktív magra a pH hatása úgy írható le, mint az egyes helyeken végbemenő protonálódási lépésekhez tartozó hatások összege. Ezeket a hatásokat, illetve az egyes helyekre jellemző egyedi pK értékeket egyszerre lehet számolni egy olyan mátrixegyenletről, amelyben az NMR kémiai eltolódásokból az egyes makrorészecskékre számolt normalizált kémiai eltolódás értékeket egyenlővé tesszük két mátrix szorzatával. Ezek közül az egyik megadja az egyes kötési helyeken végbemenő protonálódási folyamatoknak az egyes NMR-aktív magokra gyakorolt hatását, a másik pedig egy ún. proton frakció mátrix, amely megadja, hogy egy adott csoport milyen mértékben protonált vagy deprotonált egy adott protonáltsági fokú makrorészecske esetében.

A módszer felhasználásával sikerült megadni a vizsgált, több imidazolil tartalmazó ligandumok esetében az egyes koordinációs helyekhez tartozó pK értékeket, illetve arról is szemléletes képet kaptunk, hogy ezek a protonálódási folyamatok hogyan befolyásolják egymást.

3.3.2. Vizsgáltuk különféle, két vagy három hisztidint tartalmazó tri-, tetra- és pentapeptidek protonálódási mikrofolyamatait, valamint cink(II)ionnal való komplexképződésének mikroszkopikus folyamatait NMR spektroszkópia segítségével. Sikerült az egyes hisztidineken bekövetkező hidrogén- vagy cink(II)koordinációt is elkülöníteni egymástól. Emellett vizsgáltuk további, több aminosavat tartalmazó prion- és amiloid-modell peptidek pH-függő oldatbeli folyamatait is. (C3.2.)

A tanulmányozott peptidek (Ac-HGH, Ac-HGH-NHMe, Ac-HHGH, Ac-HHGH-NHMe, Ac-HVGDH-NH₂, Ac-HHVGD-NH₂, Ac-HVHAH-NH₂, Ac-HAHVH-NH₂, Ac-HPHAH-NH₂, Ac-HAHPH-NH₂, HuPrP84-114, A β 1-16PEG) egyrészt a Cu,Zn-szuperoxid-diszmutáz enzim aktív centrumát, valamint a humán prion proteint és az amiloid- β peptidet modellező ligandumok. Az egy- és kétdimenziós NMR mérések értékelése alapján megállapítottuk, hogy a hisztidinek protonálódási mikroállandóinak az értéke jó közelítéssel minden esetben megegyezik (pK 6,4), kivéve, ha a hisztidin a peptid C-terminális végén található, és a peptid karboxilcsoportja szabad. Ez esetben a mikroállandó a nagyobb értékek felé tolódik (pK 7,0).

Cink(II)ionnal [2 \times Im] és [3 \times Im] koordinációjú, makrokelátos szerkezetek alakultak ki semleges pH-nál, és ezek stabilitása annál nagyobb, minél több hisztidin található a szekvenciában. Emellett a C-terminális karboxilátcsoport koordinációja is növeli a képződő komplexek stabilitását, azonban az aszparaginsav β -karboxilátja már ennél jóval kisebb hatással bír. A pH növelésével legtöbb esetben vegyes hidroxokomplexek képződtek, egyedül a cink(II)/Ac-HHVGD-NH₂ rendszerben – amely az A β 1-16 szekvenciához hasonlóan szomszédos hisztidineket tartalmaz – ment végbe amidnitrogén deprotonálódás 8-as pH felett.

A prion fragmenssel végzett DOSY mérések alapján, a HOD és a peptid diffúzióállandójának a mérésével meghatározható volt a prion- és az amiloid-modell peptidekhez koordinálódott vízmolekulák száma. Ez nagyon jó összhangban van a peptidnek a diffúzióállandó lapján számolt térfogatával. Megállapítottuk, hogy a HuPrP84-114 szegmens harmadlagos szerkezete pH-független.

3.3.3. Cirkuláris dikroizmus spektrometriás (CD) mérések alapján meghatároztuk különféle helyzetekben és különféle számú metionint tartalmazó di- és tripeptidek réz(II)-, nikkel(II)- és palládium(II)komplexeinek a koordinációs helyeit, koordinációs módjait, illetve a fémionok ezek közötti megoszlását. Ugyanakkor a pH-függő CD spektrumok alapján a makroszkopikus stabilitási állandókat is meghatároztuk. (C3.3.)

A vizsgált peptidek (GM, MG, GGM, GMG, MGG, MMA, MGM, MMM) egymáshoz igen hasonlóan viselkednek. A képződő komplexek sztöchiometriája és stabilitási állandói gyakorlatilag csak a fémiontól függenek, illetve hogy di- vagy tripeptiddel

történik-e a komplexképzés. A pH növelésével először egy ML komplex képződik $[\text{NH}_2, \text{CO}]$ vagy $[\text{NH}_2, \text{CO}, \text{S}_{\text{Met}1}]$ koordinációval, majd az amidnitrogének lépcsőzetes deprotonálódásával – a metionin helyzetétől függően – $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{S}_{\text{Met}2}]$ vagy $[\text{NH}_2, \text{N}^-]$ koordináción keresztül végül $[\text{NH}_2, 2 \times \text{N}^-, \text{S}_{\text{Met}3}]$ vagy $[\text{NH}_2, 2 \times \text{N}^-, \text{COO}^-]$ koordináció alakul ki. Az adott sztöchiometriához tartozó koordinációs módok a CD méréseknél különböző spektrumot adnak, és ezeket a spektrumokat nem csak a koordinálódó csoportok befolyásolják, hanem a koordinált amidnitrogén melletti, nem koordinálódó aminosav oldalláncok is. Az additivitási szabály alkalmazásával, illetve az egy metionint tartalmazó peptidek spektrumainak ismeretében különbséget lehet tenni az azonos koordinációs sajátosságú két-, ill. három metionint tartalmazó peptidek között.

A CD spektrumok alapján ugyanakkor az *axiális* (ML komplexek) és az *ekvatoriális* metionin koordináció (deprotonált amidnitrogén(ek)e)t tartalmazó komplexek) között is különbséget tudunk tenni (a vizsgált peptideknél az előbbi negatív, az utóbbi pozitív $\text{S} \rightarrow \text{Cu(II)}$ CT sávot ad 330-340 nm körül).

3.3.4. Új számolási módot dolgoztunk ki többhisztidines rendszerek réz(II)ionnal való komplexképződési mikrofolyamatainak a kezelésére. A módszer alapját cirkuláris dikroizmus spektroszkópiás mérések adják. Segítségével megállapítottuk különféle prion modellek egyes kötőhelyein a koordináció stabilitását, illetve a réz(II) eloszlását ezen helyek között a pH függvényében. (C3.4.)

A humán prion protein ezen munka során vizsgált, két, illetve három egymástól távoli hisztidint tartalmazó peptidszekvenciái a következők: HuPrP91-115, HuPrP84-114, HuPrP84-114His85Ala, HuPrP84-114His96Ala és HuPrP84-114His111Ala. A három hisztidin komplexképződési tulajdonságai nagyon hasonlóak: valamennyi esetben 1N-, 3N- és 4N koordinációs mód alakul ki a pH növelésével. Leginkább az „octarepeat” tartományban lévő hisztidin (His85) különbözik a másik kettőtől, ez előbbi esetében ugyanis réz(II) hatására az amidnitrogének deprotonálódása nem a szokásos, N-terminális, hanem C-terminális irányban indul. Azonban a három hisztidin körüli, különböző nem koordinálódó oldalláncokkal jellemezhető aminosav-sorrend miatt a CD spektroszkópia igen érzékenynek bizonyult még a két teljesen azonos koordinációjú hisztidin (His96 és His111) komplexképzésének a megkülönböztetésére is.

A pH- és réz(II)/ligandum aránytól függő CD spektrumok kiértékelésénél a rendszerre felírható valamennyi lehetséges koordinációs módot, illetve az ezekhez tartozó moláris CD spektrumokat figyelembe kell vennünk. A moláris spektrumokat – az illesztendő paraméterek számát csökkentendő – Gauss-görbék összegeként adtuk meg. Ennek a másik előnye az volt, hogy korábbi méréseink alapján ezeknek a Gauss-görbéknek a paramétereit jól tudtuk becsülni, ezért egy jó kiindulási paraméterkészlettel

tudtuk az illesztés a későbbiekben végrehajtani. A matematikai modell tartalmazta ezen kívül az lépcsőzetes komplexképződési mikroállandókat, amelyekre az egyhisztidines modellek alapján (lásd: 3.1. fejezet) szintén jó kiindulási adatunk volt. A matematikai modell felállításához az additivitási szabályt használtuk még fel.

Számításaink során nem az egyes helyekhez koordinálódó réz(II)ionnak a moltörtjét vettük figyelembe (ami réz(II)/ligandum aránnyal és a pH-val is változik), hanem az egyes kötőhelyek relatív kötéseerősségét; ez utóbbi ugyanis a réz(II)/ligandum aránytól nem, csak a pH-tól függ, ugyanakkor ismert réz(II)/ligandum arány esetén az előbbi számolható belőle.

A módszer nagy előnye, hogy a kis modellpeptidekkel képződő komplexeknek mind a moláris spektrumait, mind a komplexek egymásba való alakulását jellemző pK értékeit csak az illesztés kezdeti paramétereiként használjuk fel, a végleges értékeket pedig ténylegesen a vizsgált peptidre határozzuk meg. A különféle származékokra kapott eredmények összehasonlítása valóban azt mutatta, hogy egy ilyen nagyméretű peptid fémkomplexei esetében a mért CD spektrumok már nemcsak a koordinált fémionok számától és kötésmódjától, hanem a peptid többi részétől is függenek valamennyire (ez leginkább a moláris spektrumokat alkotó Gauss-görbék intenzitására érvényes; a félértékszélességük és a maximum helye kevésbé érzékeny). Ez alapján ilyen méretű peptidek esetében a korábbi, modellvegyületeket felhasználó számolási módszerekkel csak nagyon közelítő jellegű eredményeket kaphatnánk, szemben a mi módszerünkkel nyertekkel.

A különféle spektrális adatok (pl. CD mérések) tudományos publikációkban való megadásánál célszerűbb lenne a spektrumoknak a felbontása, és az így kapott Gauss-görbék paramétereinek a megadása a maximum helye (nm) és értéke helyett, ez utóbbi ugyanis nem jelent lényegesen több adatot (egy-egy csúcsra 2 helyett 3), ugyanakkor a spektrumok alakja sokkal jobban jellemezhető velük, mint a korábbi (általunk is számos esetben használt, pl.: C3.3.) megadási móddal.

A spektrumok ily módon való illesztése a HuPrP általunk vizsgált szakaszaira azt mutatta, hogy a His96 és His111 rézmegkötő képessége nagyobb, mint a His85-é, azonban az előbbi kettő egymáshoz viszonyított fémmegkötő képessége viszonylag nagymértékben függ a pH-tól is. Ugyanakkor az egyes CD-aktív koordinációs módok közötti átmenetet jellemző pK értékek nem változnak jelentősen azzal, hogy a hisztidinek nem kis tetra- vagy nonapeptidekben, hanem egy több mint 30 aminosavból álló fehérjében vannak.

3.4. Rénium- és ruténiumkomplexek katalitikus hatásának kinetikai vizsgálata

3.4.1. *Részletesen vizsgáltuk a piridin-N-oxidok és trifenilfoszfinok között végbemenő oxigénatom-transzfer reakció kinetikáját $\text{MeRe(S)(mtp)(PPh}_3\text{)}$ katalizátor ($\text{mtpH}_2 = \text{merkaptometil-tiofenol}$) alkalmazásával. Megállapítottuk a reakció lehetséges mechanizmusát, amely egy olyan láncmechanizmus, melyben nem szerepelnek szabad gyökök. (C4.1.)*

A fent említett reakció részletes kinetikai vizsgálata azt mutatta, hogy a sebesség elsősorban a katalizátor koncentrációjára nézve és feledrendű a piridin-N-oxid származékra (ez utóbbi tényzt széles tartományban, a piridin-N-oxid koncentrációját több mint négy nagyságrenden belül változtatva, illetve a kinetikai mérésekhez többféle követési módot (NMR és UV) alkalmazva igazoltuk). A reakció sebességi egyenletének az értelmezésére egy olyan láncmechanizmust írtunk fel, amelyben négyféle tio-rénium típusú, reaktív köztitermék jelenik meg, és ahol a láncindító-, ill. lánclezáró lépésekben egy dimer komplexen belül játszódik le az oxigénatom-transzfer lényegét jelentő átrendeződés. A mechanizmussal jó egyezésben van a folyamat során tapasztalt szubsztituens-hatás (többféle szubsztituált piridin-N-oxid származékot is vizsgáltunk, például 4-metil- és 4-nitro-piridin-N-oxidot), illetve az is, hogy a reakciót – a kis koordinációs számú intermedieren keresztül – komplexképző ligandum (pl. 2,2'-dipiridil) hozzáadásával jelentősen lassítani lehet.

Igazoltuk, hogy a tio- és az oxo-rénium komplex katalizátor esetében más-más mechanizmus szerint megy a reakció (ez utóbbi sebességi egyenlete elsősorban piridin-N-oxidra, illetve a 2,2'-dipiridilnek nincs hatása a sebességére.) A folyamat érdekes példáját adja a nem gyökös típusú láncmechanizmusoknak, ahol az egyes láncvívó komplexek megnövekedett reaktivitását mindenekelőtt a részecskék koordinációs számával lehet értelmezni.

3.4.2. *Vizsgáltuk allilalkoholok redoxiizomerizációs reakcióját különböző Ru(Cp)(mPTA)X katalizátorokkal ($\text{Cp} = \text{ciklopentadienil}$, $\text{mPTA} = \text{N-metil-1,3,5-triaza-7-foszfoadamantán}$, $\text{X} = \text{Cl}^-$ vagy H_2O , a töltést nem tüntettem fel). A pufferként használt foszfát és a katalizátor kölcsönhatásával értelmeztük a reakció rendhagyó, éles maximumot mutató pH-függését. (C4.2.)*

A címben említett katalizátorokat főképp okt-1-én-3-ol, illetve egyéb allil-alkohol származékok homogén és heterogén izomerizációs reakcióinál alkalmazhatjuk. Az allil-

alkohol $[\text{Ru}(\text{Cp})\text{Cl}(\text{mPTA})_2]^{2+}$ katalizátorral végrehajtott kétfázisú izomerizációs reakciójánál a sebesség katalizátorkoncentrációtól, illetve a szubsztrátkoncentrációtól való függése jól értelmezhető a korábban hasonló komplexeknél feltételezett mechanizmusok alapján. Azonban a katalizátort foszfátpuffert tartalmazó közegben alkalmazva, 4,75-ös pH-nál egy éles maximum figyelhető meg a konverzióban, amit nem a reaktáns és/vagy a katalizátor deprotonálódása okoz, bár potenciometriás és UV-Vis mérésekkel, nagyobb pH-értékeknél a katalizátor négy újabb formájának a megjelenése mutatható ki (ezekben részben a mPTA ligandum felnyílása látható). A katalizátorban koordinált kloridion vízzel való cseréjét, majd a koordinált víz deprotonálódását is sikerült kizárni a lehetséges végbemenő folyamatok közül.

A puffert és a katalizátort együtt tartalmazó minták ^{31}P -NMR vizsgálata alapján azt lehet valószínűsíteni, hogy ezen két, partner között valamilyen kölcsönhatás alakul ki. Ezt egyrészt egy új, kis intenzitású NMR-jel kialakulása mutatja, másrészt az a tény, hogy egyéb puffer (pl. citrát) alkalmazásánál nincs éles pH-maximum a konverzióban ugyanezen pH-nál.

4. Az eredmények várható alkalmazási lehetőségei

Neurodegeneratív betegségek biokémia hátterének a vizsgálata, protonálódási és komplexképződési makro- és mikrofolyamatok jellemzése

A különböző biokémiai folyamatokban és biológiai rendszerekben számos kismolekulával, peptiddel és fehérjével találkozhatunk, amelyek közül többnek a működése különféle, a szervezetben előforduló fémionokhoz kötődik (ebbe a csoportba tartoznak a metalloproteinek). Ezen koordináció megértése közelebb visz az enzim működésének a megértéséhez, ezen keresztül pedig az enzimet gátló vagy aktiváló gyógyszerek tervezéséhez. A 3.3. fejezetben bemutatott BIMA származékok is metalloenzimek, a SOD és a tirozináz enzim modellezésére, illetve több aminosavat tartalmazó származékai a kollagenáz enzim gátlására készültek.

Ezen egyensúlyi rendszerek tanulmányozásakor nemcsak a megkötött fémionok számát és a komplexek stabilitását, hanem azoknak a koordinációs helyét és módját, valamint az ezek közötti megoszlást – azaz a komplexképződési mikrofolyamatokat, mikroszkopikus állandókat – is részletesen vizsgálni kell. A mikroállandók megállapítása egyrészt információt ad a protonálódás vagy fémmegkötés során fellépő esetleges kooperativitásról (azaz hogy az egyik fémion koordinációja gátolja, netán elősegíti a következő fémion kötődését), illetve arról is, hogy az egyes fémionok a molekulának vagy peptidnek melyik kötőhelyét részesítik előnyben, hogyan versengenek egymással az egyes kötőhelyekért. Peptidek esetében a fémionok koordinációja gyakran megváltoztatja a harmadlagos szerkezetet, ami közvetlenül összefüggésben állhat pl. a neurodegeneratív betegségek kialakulásával. Reményeink szerint tehát ezen vizsgálatokkal közelebb kerülhetünk bizonyos, fémionokkal összefüggésben lévő betegség okának a megértéséhez, így az újabb terápiás eljárások kidolgozásához is.

Fémkomplexekkel katalizált reakciók kinetikai vizsgálata

A különféle reakció kinetikájának részletes vizsgálata segítséget nyújt abban, hogy a jövőben ezekhez az ipari szempontból is fontos folyamatokhoz még hatékonyabb katalizátorokat fejlesszenek ki. Másrészt egy reakció sebességének a megváltoztatásához (gyorsításához) részletesen ismerni kell a sebességi egyenletét, illetve az egyes lépések termodinamikai adatait.

Az ipari folyamatok esetében a másik probléma, hogy a – rendszerint nemesfémeket tartalmazó, azaz meglehetősen drága – katalizátorok folyamat közbeni elvesztésével a technológia költséghatékonysága lényegesen leromlik. Ezt a problémát lehet kiküszöbölni a heterogén katalitikus eljárások fejlesztésével és alkalmazásával, ahol a katalizátor a reakció végén gyakorlatilag 100%-ban visszanyerhető. Az általam végzett vizsgálatok egy részében sikerül is teljesen kiküszöbölni a szerves oldószer használatát (ilyenkor maga a szubsztrátum, illetve a termék volt a szerves fázis), ezáltal téve a környezet számára kevésbé megterhelővé az ipar számára nélkülözhetetlen szintetikus folyamatokat.

5. Publikációk

5.1. A habilitációs tézisekben összefoglalt tudományos közlemények (C)

C1.1. Imre Sóvágó, Katalin Ósz

Metal ion selectivity of oligopeptides

Dalton Transactions, 2006, 3841-3854 (PERSPECTIVE).

C1.2. Katalin Ósz, Zoltán Nagy, Giuseppe Pappalardo, Giuseppe Di Natale, Daniele Sanna, Giovanni Micera, Enrico Rizzarelli, Imre Sóvágó

Copper(II) interaction with prion peptide fragments encompassing histidine residues within and outside the octarepeat domain: Speciation, stability constants and binding details

Chemistry – A European Journal, 2007, **13**, 7129-7143.

C1.3. Giuseppe Di Natale, Katalin Ósz, Zoltán Nagy, Daniele Sanna, Giovanni Micera, Giuseppe Pappalardo, Imre Sóvágó, Enrico Rizzarelli

Interaction of copper(II) with the prion peptide fragment HuPrP(76-114) encompassing four histidyl residues within and outside the octarepeat domain

Inorganic Chemistry, 2009, **48**, 4239-4250.

C1.4. Imre Sóvágó, Katalin Ósz, Zoltán Nagy, Viktória Rigó, Daniele Sanna, Diego La Mendola, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli

Transition metal complexes of peptide fragments of prion proteins

Advances in Coordination, Bioinorganic and Inorganic Chemistry (Monograph Series of the International Conferences on Coordination Chemistry held periodically at Smolenice in Slovakia), 2005, 363-376.

C1.5. Giuseppe Di Natale, Giulia Grasso, Giuseppe Impellizzeri, Diego La Mendola, Giovanni Micera, Nikoletta Mihala, Zoltán Nagy, Katalin Ósz, Giuseppe Pappalardo, Viktória Rigó, Enrico Rizzarelli, Daniele Sanna, Imre Sóvágó

Copper(II) Interaction with Unstructured Prion Domain Outside the Octarepeat Region. Speciation, Stability and Binding Details of Copper(II) Complexes with PrP106-126 Peptides

Inorganic Chemistry, 2005, **44**, 7214-7225.

C1.6. Imre Sóvágó, Viktória Józsa, Zoltán Nagy, Katalin Ósz, Daniele Sanna, Giuseppe Di Natale, Giulia Grasso, Giuseppe Impellizzeri, Diego La Mendola, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli

Transition metal complexes of terminally protected peptides containing histidyl residues

Journal of Inorganic Biochemistry, 2006, **100**, 1399-1409.

C1.7. Domenico Grasso, Giulia Grasso, Valeria Guantieri, Giuseppe Impellizzeri, Carmelo La Rosa, Danilo Milardi, Giovanni Micera, Katalin Ósz, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli, Daniele Sanna, Imre Sóvágó

Environmental effects on prion's helix II domain: Copper(II) and membrane interactions with PrP180-193 and its analogues.

Chemistry – A European Journal, 2006, **12**, 537-547.

C2.1. Chiara A. Damante, Katalin Ósz, Zoltán Nagy, Giuseppe Pappalardo, Giulia Grasso, Giuseppe Impellizzeri, Enrico Rizzarelli, Imre Sóvágó

The Metal Loading Ability of β -Amyloid N-Terminus: A Combined Potentiometric and Spectroscopic Study of Copper(II) Complexes with β -Amyloid(1–16), Its Short or Mutated Peptide Fragments, and Its Polyethylene Glycol (PEG)-ylated Analogue

Inorganic Chemistry, 2008, **47**, 9669-9683.

C2.2. Chiara A. Damante, Katalin Ósz, Zoltán Nagy, Giuseppe Pappalardo, Giulia Grasso, Giuseppe Impellizzeri, Enrico Rizzarelli, Imre Sóvágó

Metal loading capacity of $a\beta$ N-terminus: A combined potentiometric and spectroscopic study of zinc(II) complexes with $A\beta$ (1-16), its short or mutated peptide fragments and its polyethylene glycol-ylated analogue

Inorganic Chemistry, 2009, **48**, 10405-10415.

C2.3. Éva Józsa, Katalin Ósz, Csilla Kállay, Imre Sóvágó, Paolo de Bona, Chiara A. Damante, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli

Nickel(II) and mixed metal complexes of amyloid- β N-terminus

Dalton Transactions, 2010, 7046-7053.

C3.1. Katalin Ösz, Gábor Lente, Csilla Kállay

New protonation microequilibrium treatment in the case of some amino acid and peptide derivatives containing bis(imidazolyl)methyl group

Journal of Physical Chemistry B, 2005, **109**, 1039-1047.

C3.2. Csilla Kállay, Katalin Ösz, Adrienn Dávid, Zita Valastyán, Gerasimos Malandrinos, Nick Hadjiliadis, Imre Sóvágó

Zinc(II) binding ability of tri-, tetra- and penta-peptides containing two or three histidyl residues

Dalton Transactions, 2007, 4040-4047.

C3.3. Katalin Ösz, Beáta Bóka, Katalin Várnagy, Imre Sóvágó, Tibor Kurtán, Sándor Antus

The application of circular dichroism spectroscopy for the determination of metal ion speciation and coordination modes of peptide complexes

Polyhedron, 2002, **21**, 2149-2159.

C3.4. Katalin Ösz

A new, model-free calculation method to determine the coordination modes and distribution of copper(II) among the metal binding sites of multihistidine peptides using circular dichroism spectroscopy

Journal of Inorganic Biochemistry, 2008, **102**, 2184-2195.

C4.1. Katalin Ösz, James H. Espenson

A Non-Radical Chain Mechanism for Oxygen Atom Transfer with a Thiorhenium(V) Catalyst

Inorganic Chemistry, 2003, **42**, 8122-8124.

C4.2. Beatriz González, Pablo Lorenzo-Luis, Manuel Serrano-Ruiz, Éva Papp, Marianna Fekete, Klára Csépké, Katalin Ösz, Ágnes Kathó, Ferenc Joó, Antonio Romerosa

Catalysis of redox isomerization of allylic alcohols by [RuCl(Cp)(mPTA)₂](OSO₂CF₃)₂ and [RuCp(mPTA)₂(OH₂-κO)]-(OSO₂CF₃)₃·(H₂O)(C₄H₁₀O)_{0.5}. Unusual influence of the pH and interaction of phosphate with catalyst on the reaction rate

Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2010, **326**, 15-20.

5.2. A habilitációs tézisek témájához kapcsolódó konferenciaanyagok (K)

- K1.1. Sóvágó Imre, Ősz Katalin, Nagy Zoltán, Rigó Viktória
A prion protein peptidfragmenseinek komplexképződési folyamatai (előadás)
XXXIX. Komplexkémiái Kollokvium, május 26-28, 2004, Gárdony.
- K1.2. Zoltán Nagy, Katalin Ősz, Imre Sóvágó, Daniele Sanna, Giovanni Micera, Diego La Mendola, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
Copper(II) Complexes of Prion Protein Fragments; HuPrP(106-114), ChPrP(106-114) and related peptides (poszter)
7th European Biological Inorganic Chemistry Conference (EUROBIC-7), augusztus 29-szeptember 2, 2004, Garmisch-Partenkirchen, Németország.
- K1.3. Imre Sóvágó, Katalin Ősz, Zoltán Nagy, Csilla Kállay, Viktória Rigó, Daniele Sanna, Giovanni Micera, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
Copper(II) complexes of peptides of histidine. Models of the binding sites of the enzyme CuZn-SOD and prion proteins (előadás)
7th European Biological Inorganic Chemistry Conference (EUROBIC-7), augusztus 29-szeptember 2, 2004, Garmisch-Partenkirchen, Németország.
- K1.4. Giuseppe Pappalardo, Giuseppe Di Natale, Giulia Grasso, Giuseppe Impellizzeri, Diego La Mendola, Giovanni Micera, Zoltán Nagy, Katalin Ősz, Enrico Rizzarelli, Daniele Sanna, Imre Sóvágó
Synthesis of Prion Protein's Peptides Homologous to the 106-126 Amino Acid Sequence and Related Peptide Fragments: Studies on the Conformational Properties and Copper(II) Complex Formation (előadás)
4th Symposium on Pharmaco-Bio-Metallics, október 29-31, 2004, Lecce, Olaszország.
- K1.5. Sóvágó Imre, Ősz Katalin, Nagy Zoltán
A fémionok szerepe a neurodegeneratív elváltozások kifejlődésében. A réz(II)ionok kölcsönhatása a prion proteinek peptidfragmenseivel (előadás)
X. Nemzetközi Vegyészkonferencia (10th International Conference of Chemistry), november 12-14, 2004, Kolozsvár (Cluj), Románia.
- K1.6. Katalin Ősz, Zoltán Nagy, Imre Sóvágó, Daniele Sanna, Giovanni Micera, Diego La Mendola, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
A Possible Mechanism for Formation of Prion Diseases: Copper(II) Coordination to Prion Protein Fragments Containing Histidines (poszter)
Gordon Research Conferences, Inorganic Reaction Mechanisms, február 13-18, 2005, Ventura, CA, USA.

- K1.7. Rigó Viktória, Ősz Katalin, Nagy Zoltán, Sóvágó Imre
A prion protein peptidfragmenseinek átmenetifém komplexei (előadás)
XL. Komplexkémiái Kollokvium, május 18-20, 2005, Dobogókő.
- K1.8. Viktória Józai, Zoltán Nagy, Katalin Ősz, Imre Sóvágó, Daniele Sanna, Giovanni Micera, Giuseppe Pappalardo, Diego La Mendola, Giuseppe Di Natale, Enrico Rizzarelli
Transition metal complexes of peptide fragments of prion protein outside the octarepeat region (poszter)
29th International Conference on Solution Chemistry, augusztus 21-25, 2005, Portoroz, Szlovénia.
- K1.9. Viktória Józai, Zoltán Nagy, Katalin Ősz, Imre Sóvágó, Daniele Sanna, Giovanni Micera, Giuseppe Pappalardo, Diego La Mendola, Giuseppe Di Natale, Enrico Rizzarelli
Transition metal complexes of peptide fragments of prion protein outside the octarepeat region (poszter)
X International Symposium on Bioinorganic Chemistry – Challenge for new generation, szeptember 20-25, 2005, Szklarska Poreba, Lengyelország.
- K1.10. Katalin Ősz, Zoltán Nagy, Viktória Józai, Imre Sóvágó, Daniele Sanna, Giovanni Micera, Diego La Mendola, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
Protonation and coordination equilibria in the copper(II) – Human Prion Protein (84-114) system (poszter)
X International Symposium on Bioinorganic Chemistry – Challenge for new generation, szeptember 20-25, 2005, Szklarska Poreba, Lengyelország.
- K1.11. Imre Sóvágó, Katalin Ősz, Zoltán Nagy, Viktória Józai, Daniele Sanna, Giovanni Micera, Diego La Mendola, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
Copper(II) Complexes of the (84-114) Peptide Fragment of Human Prion Protein (előadás)
X International Symposium on Bioinorganic Chemistry – Challenge for new generation, szeptember 20-25, 2005, Szklarska Poreba, Lengyelország.

- K1.12. Imre Sóvágó, Katalin Ósz, Zoltán Nagy, Giuseppe Pappalardo, Giuseppe Di Natale, Diego La Mendola, Daniele Sanna, Enrico Rizzarelli
Studies on the metal binding affinity of histidyl residues inside and outside the octarepeat domain of prion protein (előadás)
9th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC 9), december 2-5, 2006, Nápoly, Olaszország.
- K1.13. Viktória Józai, Ildikó Turi, Csilla Kállay, Dorina Szikszai, Katalin Ósz, Imre Sóvágó, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
Metal Binding Selectivity of the Peptide Fragments of Prion Protein (poszter)
10th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC 10), szeptember 25-28, 2009, Debrecen.
- K1.14. Csilla Kállay, Ildikó Turi, Viktória Józai, Katalin Ósz, Imre Sóvágó, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
Metal binding selectivity of the peptide fragments of prion protein (poszter)
10th European Biological Inorganic Chemistry Conference (EUROBIC-10), június 22-26, 2010, Thessaloniki, Görögország.
- K2.1. Nagy Zoltán, Ósz Katalin, Sóvágó Imre, Chiara Damante, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
Az amiloid- β peptidfragmenseinek és vízoldható PEG-származékainak réz(II) és cink(II) komplexei (előadás)
42. Komplexkémiái Kollokvium, május 31-június 2, 2006, Mátrafüred.
- K2.2. Zoltán Nagy, Katalin Ósz, Imre Sóvágó, Chiara Damante, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
Copper(II) and zinc(II) complexes of β -amyloid peptide fragments and their soluble PEG-conjugated analogues (poszter)
8th European Biological Inorganic Chemistry Conference (EUROBIC-8), július 2-6, 2006, Aveiro, Portugália.
- K2.3. Chiara Damante, Katalin Ósz, Giuseppe Pappalardo, Imre Sóvágó, Giulia Grasso, Giuseppe Impellizzeri, Enrico Rizzarelli
Zinc(II) interaction with peptide fragments of β -amyloid (poszter)
9th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC 9), december 2-5, 2006, Nápoly, Olaszország.

- K2.4. Ősz Katalin, Nagy Zoltán, Chiara Damante, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli, Sóvágó Imre
Az Alzheimer-kór amiloid- β peptidjének réz(II)-, cink(II)- és vegyes komplexei (előadás)
XLII. Komplexkémiai Kollokvium, május 23-25, 2007, Mátrafüred.
- K2.5. Chiara Damante, Katalin Ősz, Zoltán Nagy, Giuseppe Pappalardo, Imre Sóvágó, Giulia Grasso, Giuseppe Impellizzeri, Enrico Rizzarelli
Neurometals: Cu(II) and Zn(II) interactions with β -amyloid peptide fragments and their soluble PEG-conjugated analogues (poszter)
7th Workshop on PharmacoBioMetallics (Biomet7), október 26-28, 2007, Palermo, Olaszország.
- K2.6. Chiara Damante, Katalin Ősz, Zoltán Nagy, Giuseppe Pappalardo, Imre Sóvágó, Giulia Grasso, Giuseppe Impellizzeri, Enrico Rizzarelli
Cu(II) and Zn(II) interactions with peptide fragments of β -amyloid (poszter)
7th Workshop on PharmacoBioMetallics (Biomet7), október 26-28, 2007, Palermo, Olaszország.
- K2.7. Paolo De Bona, Chiara Damante, Katalin Ősz, Giuseppe Pappalardo, Imre Sóvágó, Enrico Rizzarelli
Different metal ions affinity in the A β (8-16)Y10A fragment (poszter)
7th Workshop on PharmacoBioMetallics (Biomet7), október 26-28, 2007, Palermo, Olaszország.
- K2.8. Éva Józsa, Paolo De Bona, Chiara A. Damante, Katalin Ősz, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli, Imre Sóvágó
Nickel(II) and Mixed Metal Complexes of the N-terminal Fragments of β -Amyloid Peptide (poszter)
10th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC 10), szeptember 25-28, 2009, Debrecen.
- K2.9. Józsa Éva, Ősz Katalin, Kállay Csilla, Sóvágó Imre, Paolo De Bona, Chiara Damante, Enrico Rizzarelli
Az Alzheimer-kórért felelős A β (1-16) peptid nickel(II) és vegyes fémkomplexei (előadás)
45. Komplexkémiai Kollokvium, május 26-28, 2010, Mátraháza.

- K3.1. Ősz Katalin, Bóka Beáta, Várnagy Katalin, Sóvágó Imre, Kurtán Tibor, Antus Sándor
Cirkuláris Dikroizmus (CD) spektroszkópia és alkalmazása komplex vegyületek vizsgálatában (előadás)
XXXVII. Komplexkémiái Kollokvium, május 29-31, 2002, Mátraháza.
- K3.2. Ősz Katalin, Lente Gábor, Kállay Csilla
Új számolási módszer kis molekulák protonálódási mikroállandóinak a meghatározására (előadás)
XXXIX. Komplexkémiái Kollokvium, május 26-28, 2004, Gárdony.
- K3.3. Katalin Ősz, Gábor Lente, Csilla Kállay
New method of calculating protonation microequilibrium constants and its use for some bis(imidazolyl)methyl derivatives (poszter)
7th European Biological Inorganic Chemistry Conference (EUROBIC-7), augusztus 29-szeptember 2, 2004, Garmisch-Partenkirchen, Németország.
- K3.4. Ősz Katalin, Nagy Zoltán, Rigó Viktória, Sóvágó Imre
A HuPrP(84-114) protonálódási és réz(II)ionnal való komplexképződési makro- és mikrofolyamatai (előadás)
XL. Komplexkémiái Kollokvium, május 18-20, 2005, Dobogókő.
- K3.5. Imre Sóvágó, Katalin Ősz, Zoltán Nagy, Viktória Rigó, Daniele Sanna, Diego La Mendola, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
Transition Metal Complex of Peptide Fragments of Prion Proteins (előadás)
20th International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry, június 5-10, 2005, Smolenice, Szlovákia.
- K3.6. Katalin Ősz, Zoltán Nagy, Viktória Józai, Imre Sóvágó, Daniele Sanna, Giovanni Micera, Diego La Mendola, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
Protonation and coordination macro- and microscopic equilibria in the copper(II) – Human Prion Protein (84-114) system (poszter)
29th International Conference on Solution Chemistry, augusztus 21-25, 2005, Portoroz, Szlovénia.

- K3.7. Ősz Katalin, Nagy Zoltán, Jószai Viktória, Sóvágó Imre
CD spektroszkópiából nyerhető információk a réz(II)ion koordinációs módjaira és a hisztidinek közötti eloszlására a humán prion protein egy háromhisztidines szegmensében (előadás)
42. Komplexkémiai Kollokvium, május 31-június 2, 2006, Mátrafüred.
- K3.8. Katalin Ősz, Zoltán Nagy, Viktória Jószai, Imre Sóvágó, Paolo De Bona, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
The use of CD spectroscopy to determine the coordination modes and distribution of copper(II) among the three histidines of HuPrP 84-114 (poszter és előadás)
8th European Biological Inorganic Chemistry Conference (EUROBIC-8), július 2-6, 2006, Aveiro, Portugália.
- K3.9. Katalin Ősz, Zoltán Nagy, Viktória Jószai, Imre Sóvágó, Paolo De Bona, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Enrico Rizzarelli
The use of CD spectroscopy to determine the coordination modes and distribution of copper(II) among the three histidines of HuPrP 84-114 (poszter)
Gordon Research Conferences, Inorganic Reaction Mechanisms, February 18-23, 2007, Ventura, CA, USA.
- K3.10. Katalin Várnagy, Sarolta Timári, Adrienn Dávid, Csilla Kállay, Katalin Ősz, Imre Sóvágó
Transition metal complexes of small multihistidine peptides (poszter)
2nd European Conference on Chemistry for Life Sciences, szeptember 4-8, 2007, Wrocław, Lengyelország.
- K3.11. Katalin Várnagy, Dóra Kiss, Zsuzsanna Kovács, Katalin Ősz, Daniele Sanna, Eugenio Garriba
Transition metal complexes of non-proteinogenic histidine analogue amino acids and their tripeptide derivatives (poszter)
10th European Biological Inorganic Chemistry Conference (EUROBIC-10), június 22-26, 2010, Thessaloniki, Görögország.

- K4.1. Ősz Katalin, James H. Espenson
Oxigénatom-transzfer tiorénium(V) komplex katalitikus hatására: láncmechanizmus gyökök nélkül (előadás)
Magyar Tudományos Akadémia Reakciókinetikai és Fotokémiai Munkabizottságának ülése, október 25-26, 2007, Gyöngyöstarján.
- K4.2. Csépké Klára, Papp Éva, Fekete Marianna, Ősz Katalin, Joó Ferenc
Puffer vagy több annál? Néhány érdekesség a $\text{RuCl}(\text{Cp})(\text{mPTA})^{2+}$ által katalizált redoxizomerizációs reakciókban (előadás)
Magyar Tudományos Akadémia Reakciókinetikai és Fotokémiai Munkabizottságának ülése, április 29-30, 2010, Balatonalmádi.
- K4.3. Voronova Kristina, Susmit Basu, Ősz Katalin, Joó Ferenc
Vízoldható Rh- és Ni-szulfoszalén komplexek katalitikus aktivitásának vizsgálata hidrogénezési reakciókban (előadás)
45. Komplexkémiai Kollokvium, május 26-28, 2010, Mátraháza.