

## A kutatás célja, célkitűzései

A **hidrogénkötéseknek** fontos szerepe van a fehérjékben és peptidekben előforduló másodlagos szerkezetek (periodikus szerkezetek: hélix,  $\beta$ -réteg, poli-prolinhélix, valamint az aperiodikus kanyarszerkezetek:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -kanyar illetve turn szerkezetek) stabilizálásában és a fehérjék harmadlagos szerkezetének kialakításában. A kanyarszerkezetek (turn) szorosan kapcsolódnak a peptidek, fehérjék biológiai funkciójához, fontos szerepet játszanak a poszttranszlációs átalakulásokban, a fehérjelánc felcsavarodásában (folding), és a különböző felismerési folyamatokban. A modellvegyületek szintézise és teljeskörű vizsgálata növeli konformációvizsgálat megbízhatóságát és megkönnyíti a részletes analízisek (spektroszkópiai mérések) elvégzését.

Gyakran fordulnak elő oligopeptidekben különböző kanyarszerkezetek, melyeknek két fő típusa ismeretes:

- **$\beta$ -kanyarok:** a négy aminosavegységet tartalmaznak tíztagú ( $C_{10}$ )  $1 \leftarrow 4$  H-kötéssel. Bizonyos  $\alpha$ -aminosavak  $\beta$ -turn szerkezeteket stabilizálnak (Pro, Gly).
- **$\gamma$ -kanyarok:** a három aminosavegység által kialakított héttagú ( $C_7$ )  $1 \leftarrow 3$  H-kötéssel stabilizálódnak

E kanyarszerkezetek gerinckonformációik alapján több osztályba ( $\beta I$ –VIII,  $\gamma^{eq}$ ,  $\gamma^{ax}$ ) sorolhatók: a leggyakrabban előforduló kanyarszerkezetek a  $\beta I$ - és  $\beta II$ -, inverz  $\gamma$ -, illetve klasszikus  $\gamma$ -kanyar.

A  $\beta$ -aminosavak ritkán fordulnak elő a természetben, de az élettanilag jelentős peptidekben<sup>1</sup> (depszipeptidek, peptidantibiotikumok, stb.) gyakoriak. A  $\beta$ -aminosavak peptidekbe, főként ciklopeptidekbe történő beépítésével a peptidgerinc flexibilisebb lesz (a konformációs szabadságifok megnőtt), a peptidgerinc nézve a különféle szubsztitúciók (pl. nagy térigényű csoportok) kedvezőbbek. Ugyanakkor tisztán kell látnunk a  $\beta$ -aminosavak másodlagos szerkezetre gyakorolt hatását is. Az irodalomban főleg a  $\beta$ -alanin<sup>2</sup>, valamint a  $\beta$ -aminosavak oligomerjeinek széleskörű vizsgálata található, mely szerint ezen oligopeptidek olyan peptidszármazékok, ahol reprodukálható, szabályszerű (periodikus) másodlagos szerkezet alakul ki (mint pl. helikális szerkezet)<sup>3,4</sup>.

A  $\beta$ -homo-aminosav<sup>5</sup> úgy definiálható, hogy egy  $C1$ -egység beékelődött az  $\alpha$ -aminosavba; azaz két szénatom van az amino- és karboxilcsoport között. A vegyületek e családja így két csoportra bontható:  $\beta^2$ - és  $\beta^3$ - homo-aminosavakra, attól függően, hogy  $C^\alpha$  vagy  $C^\beta$  helyzetbe kapcsolódik az oldallánc.

---

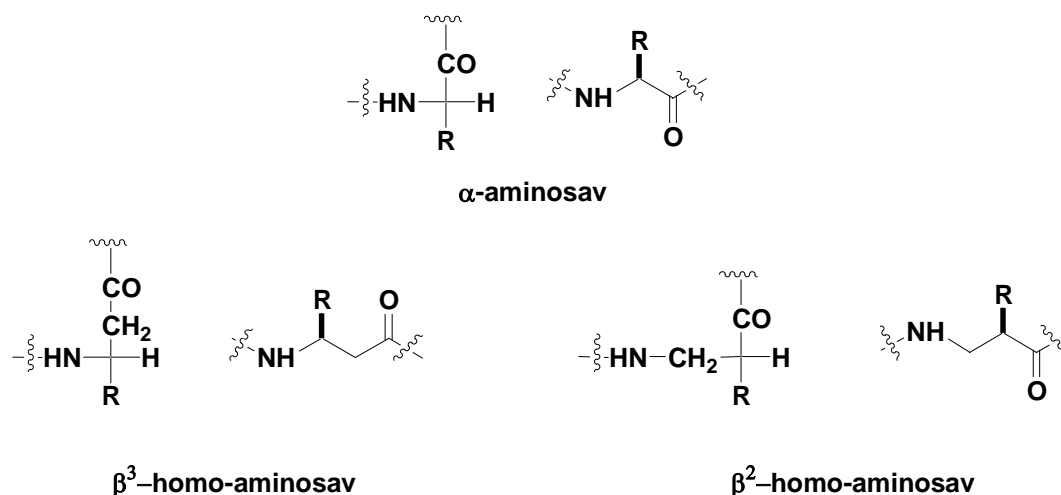
<sup>1</sup> Drey C.M. The chemistry and Biochemistry of  $\beta$ -Amino Acids in B. Weinstein (Ed.) **1977**, 241-299

<sup>2</sup> Lombardi, A., Saviano, M., Natri, F., Maglio, O., Mazzeo, M., Isernia, C., Paolillo, L., Pavone, V. *Biopolymers* **38**, (1996), 693-703

<sup>3</sup> Borman, S., *Chem. Eng. News*, **1997**, 75(24), 32; Lopez-Carrasquero, F., Garcia-Alvarez, M., Navas, J.J., Alemán, C., Munoz-Guerra, S. *Macromolecules* **1996**, 29, 8449

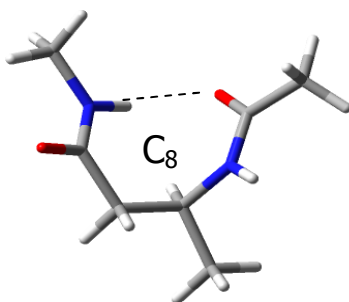
<sup>4</sup> Appela, D.H., Christianson, L.A., Klein, D.A., Powell, D.R., Huang, X., Barchi, J.J.Jr., Gellman, S.H., *Nature* **1997**, 387, 381;

<sup>5</sup> Seebach, D., Matthews, J.L.: *Chem. Commun.* **1997**, 2015



Peptid modelleinkben mi csak a  $\beta^3$ -homo-aminosavakat építettünk be, ezért az egyszerűség kedvéért ezt a szerkezeti-variánst nevezzük,  $\beta$ -homo-aminosavnak: a szekvenciában pedig  $\beta$ -homo-X,  $\beta$ -hX a rövidítése. Modelleinkben  $\beta$ -alanint is használtunk, amely a fenti elnevezés szerint azonos a  $\beta$ -homo-glicinnel.

A  $\beta$ -homo-aminosav beépítésével nem csak a hagyományos gyűrűméretű kanyarszerkezetek ( $C_{10}$  –  $\beta$ , illetve  $C_7$  –  $\gamma$ ) jöhetnek létre, hanem hattagú- ( $C_6$ ), nyolctagú ( $C_8$ ) ez a pszeudo- $\gamma$ -kanyarszerkezet ( $\Psi\gamma$ -turn)<sup>6</sup>, valamint tizenegytagú ( $C_{11}$ ), ez a pszeudo- $\beta$ -kanyarszerkezet is (1. ábra)



1. ábra Pszeudo- $\gamma$ -kanyar

### Eredeti célkitűzések és ezzel kapcsolatos újabb témák:

1. Fő célkitűzésünk volt, hogy  $\beta$ -homo-aminosavat tartalmazó, megtervezett modelleken (ciklopeptidek) vizsgáljuk a  $\beta$ -homo-aminosav konformációra gyakorolt hatását. Olyan kisebb ciklusos peptideket terveztünk, amelyekben várhatóan nagyobb valószínűséggel alakulnak ki  $\gamma$ -kanyarok, mint  $\beta$ -kanyar-szerkezetek.
2. A hidrogénkötéssel stabilizált peptidek spektroszkópiai vizsgálatai révén közelebb jussunk a kanyarszerkezetek spektroszkópiai leírásához: cirkuláris dikroizmus- (CD) és infravörös (IR) spektroszkópia, illetve mágneses magrezonancia (NMR) együttes alkalmazásával, akár nagyobb szerkezeti egységekben is. Kisebb egységek (diamid-rendszerek<sup>7</sup>) azonosítására e komplex spektroszkópiai vizsgálat alkalmasnak bizonyult korábbi vizsgálatok alapján.

<sup>6</sup> Schumann, F.; Müller, A.; Kokschi, M.; Müller, G.; Sewald, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12009

<sup>7</sup> E. Vass, J. Samu, M. Hollósi, „FTIR spectroscopic studies on diamide models of  $\gamma$ -turn structures”, *3rd European Biophysics Congress*, München, Germany, 2000.

3. Hidrogénhíddal stabilizált oligopeptidek teljeskörű spektroszkópai vizsgálata.
4. Akrilamid keletkezésének vizsgálata tri- és tetrapeptidekből termolízis hatására. (Új kutatás)

## A kutatás eredményeinek ismertetése

Várhatóan  $\gamma$  –kanyarszerkezetet tartalmazó modellek szintézise és spektroszkópai vizsgálata. Az egyes csoportok ismertetésénél jelzem, hogy melyik csoport végezte el a szintetikus munkát, mivel a vegyületek előállítása és izolálása nem volt egyszerű feladat.

### 1. Ciklotetrapeptid modellek (szintézis: Majer Zsuzsa)

#### Publikáció:

- *Poszter bemutatás:* 28th EPS  
E. Vass, K. Köhalmi, M. Hollósi and Zs. Majer:

„Spectroscopic investigations on model cyclic peptides containing  $\beta$ -amino acids”

*Journal of Peptide Science* **10** (Supl.), p275 (2004)

- A publikáció megírás alatt van.
- 

A modellek kiválasztásánál<sup>8</sup> figyelembe vettük, hogy a választott kis ciklusoknál a  $\gamma$  –kanyarszerkezetet létrejöttének valószínűsége szterikus kényszerből adódóan nagy, és nem alakulnak ki könnyebben a  $\beta$ -kanyar-szerkezetek. A kiválasztott vegyületek közül a ciklo(Pro-Ala-Pro-Gly), ciklo( $\beta$ -Ala-Ala- $\beta$ -Ala-Pro), ciklo( $\beta$ -Ala-Pro- $\beta$ -Ala-Pro) spektroszkópai vizsgálata teljes mértékben befejeződött, a konformációs viszonyok jellemezése *ab initio* módszerrel történt.

A ciklo( $\beta$ -Ala-Ala- $\beta$ -Ala-Ala) modellvegyület szintézise és tisztítása azonban víz oldékonysága miatt nem volt egyszerű: de 2005-ben sikerült elegendő mennyiségben előállítanom a spektroszkópai vizsgálatok befejezéséhez. A korábbi CD és FTIR vizsgálatok kibővültek vibrációs cirkuláris dikroizmus (VCD: Vass Elemér munkája) méréssel. Dimetil-szulfoxidban (DMSO) a vegyület erős koncentráció függést mutatott: hígabb koncentrációnál ( $c \leq 4\text{mg/cm}^3$ ) megegyezett a már korábban, TFE oldószerben talált nyújtott szerkezetű konformerrel (két Ala-részlet körül inverz  $\gamma$ -kanyar található). A magasabb koncentrációknál inkább egy szendvicsszerű, intermolekuláris asszociáció jött létre, így a mért spektrum nem egyezett meg az önálló molekula konformereinek számított spektrumaival. Az NMR vizsgálatok nem hoztak értékelhető eredményt.

#### Eredmények:

- A modell választás sikeres, hiszen az elméletileg „jósolt” szerkezetet az eddigi spektroszkópai vizsgálatok és az elméleti számított frekvenciák is alátámasztották. A ciklo( $\beta$ -Ala-Ala- $\beta$ -Ala-Pro), amely tartalmaz két inverz  $\gamma$ -kanyart a Pro és Ala részlet körül a fő konformerben.

A spektroszkópai adatok inverz  $\gamma$ -kanyar-szerkezetre egyben „standard”, referencia adatoknak is tekinthetők a CD) és FTIR (táblázat) spektroszkópiában!

| Peptid                                     | Oldószer           | Jellemző szerkezet                                     | amid I hullámszám ( $\text{cm}^{-1}$ )   |
|--|--------------------|--|--|
| ciklo( $\beta$ -Ala-Ala- $\beta$ -Ala-Pro) | TFE                | Két inverz $\gamma$ -kanyar a Pro és Ala részlet körül | 1672e, 1644e, 1604k <sup>a</sup>         |
|  | CH <sub>3</sub> CN |  | 1679e, 1660k, 1642gy, 1624k <sup>a</sup> |

<sup>8</sup> Vass Elemér OTKA F026632

|  |                                 |                        |  |
|--|---------------------------------|------------------------|--|
|  | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | Ala részlet körül a fő | 1678e, 1663k, 1624k <sup>a</sup>         |
|  | DMSO                            | konformerben           | 1676e, 1656k, 1623k <sup>a</sup>         |
|  | D <sub>2</sub> O                |                        | 1673gy, 1649e, 1632k, 1615k <sup>a</sup> |

<sup>a</sup>H-kötéses  $\gamma$ -kanyarhoz (C<sub>7</sub>) rendelt sávok; a protikus oldószerekben mért alacsony hullámszámok erős szolvatációra utalnak. Rövidítések: e – erős, k – közepes, gy –gyenge.

| Vegyület  | oldószer                | $\lambda$ ( $\Delta\epsilon$ ) <sup>a</sup>     |
|---|-------------------------|---|
| <b>ciklo (<math>\beta</math>-Ala-Ala-<math>\beta</math>-Ala-Pro)</b><br><b>referencia</b> | <b>CH<sub>3</sub>CN</b> | <b>197.8(+20.15), 228(-31.65)</b>               |
|   | <b>TFE</b>              | <b>1912(+31.0), 222(-28.25)</b>                 |
|   | <b>H<sub>2</sub>O</b>   | <b>193(+12.2), 205(-15.0)váll, 229.4(-23.8)</b> |

<sup>a</sup>  $\lambda$  nm –ben, míg a  $\Delta\epsilon$  érték dm<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>

- **Probléma:** A modellek könnyen aggregálódnak magas koncentrációnál történő mérésnél, pl. VCD. Így bizonyos esetekben a különböző technikákkal kapott spektrális adatok nem hasonlíthatók össze! A CD viszonylag híg oldatokat igényel (1mg/cm<sup>3</sup>), így főleg a a hígabb FTIR adatokkal, míg a töményebb oldatokat használó VCD az NMR-rel hasonlítható össze.

## 2. Prolin és $\beta$ -homo-prolin tartalmú kisméretű ciklopeptidek spektroszkópiai vizsgálata

### Publikáció:

- *Poszter* E. Vass, Zs. Majer, N. Sewald, M. Hollósi, “Spectroscopic investigations on  $\gamma$ -turn model cyclic peptides containing  $\beta$ -amino acids”, *XXVI European Congress on Molecular Spectroscopy*, Villeneuve d’Ascq, France, September 1-6, 2002, P1.7.

- Közlemény: N. Sewald; M. Malesevic; Zs. Majer; E. Vass; T. Huber; U. Strijowski; M. Hollósi,

Spectroscopic Detection of Pseudo-Turns in Homodetic Cyclic Penta- and Hexapeptides Comprising  $\beta$ -Homoproline

*International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, in press, 2006

A Bielefeld-i Egyetem Szerves és Bioorganikus Kémiai Tanszékével (Dr. Norbert Sewald csoportja) együttműködve,  $\beta$ - ill.  $\gamma$ -kanyar szerkezetet kialakító, részben  $\beta$ -homo-aminosav tartalmú ciklopeptideket (1. **táblázat**) vizsgáltam meg CD-spektroszkópiával. (Szintézis és NMR vizsgálatok : Bielefeld-i csoport; FTIR: Vass Elemér)

### Következtetések, eredmények

Több ciklopeptiden végzett vizsgálat alapján az FTIR spektrumok értékelésével összhangban megállapítottuk, hogy a jelentős mértékben  $\gamma$ -kanyar-szerkezetű ciklopeptidek CD-spektrumában 230 nm körül negatív  $n\pi^*$  sáv jelentkezik, ez viszont átfedhet egyes  $\beta$ -kanyarok CD-görbéjének  $n\pi^*$  tartományával, így a mindkét kanyartípust tartalmazó peptidok esetében ezen sáv diagnosztikai értéke csökken. A  $\beta$ -homo-prolin részletet tartalmazó peptidok spektrumában 205 nm-nél megjelenő intenzív negatív sáv egy pszeudo- $\beta$ -kanyar-vagy pszeudo-  $\gamma$ -kanyarszerkezethez rendelhető. Ugyanakkor a **2** és **4** peptidok CD-spektrumának nagyobb oldószerfüggése a  $\beta$ -homo-Pro részlet flexibilitást növelő hatását támasztja alá.

Figyelembe véve az FTIR spektrumokat is, az a következtetés vonható le, hogy a  $\beta$ -homo-Pro részlet beiktatása  $\gamma$ -kanyar szerkezetek kialakulását segíti elő, ugyanakkor nem

minden esetben lehetett egyértelműen szétválasztani a  $\beta$ - és  $\gamma$ -kanyarok hozzájárulását. NMR mérések alapján kiderült, hogy a **4** modell vegyület DMSO-ban kapott nagyobb mennyiségben létező konformerében (major) egy pszeudo- $\gamma$ -kanyar alakult ki a  $\beta$ -homo-Pro körül és egy  $\beta$ II'-típusú kanyar ahol a glicin az  $i+1$  pozícióban van.

1. táblázat

| Vegyület   | oldószer                | $\lambda$ ( $\Delta\varepsilon$ ) <sup>a</sup> |
|--|-------------------------|--|
| ciklo(Leu-Ala-Val-Pro-Phe-Gly)<br><b>(1)</b>               | CH <sub>3</sub> CN      | 196(-20.8), 221(-15.9), 230(-13.5)sh           |
|  | TFE                     | 185(+), 200(-12.1), 219(-17)                   |
| ciklo(Leu-Ala-Val- $\beta$ -homoPro-Phe-Gly)<br><b>(2)</b> | CH <sub>3</sub> CN      | 192(-11.6)sh, 203(-21.1), 219(-8.93)sh         |
|  | TFE                     | 185(-), 204.5(-11.4), 215(-8.6)sh              |
| ciklo(Ala-Val-Pro-Phe-Gly)<br><b>(3)</b>                   | CH <sub>3</sub> CN      | 192(-2.49), 217(-14.9)                         |
|  | TFE                     | 185(+), 193(-2.45)sh, 210.5(-14)               |
| ciklo(Ala-Val- $\beta$ -homoPro-Phe-Gly)<br><b>(4)</b>     | CH <sub>3</sub> CN      | 193.5(-23.0)sh, 201.5(-25.9)                   |
|  | TFE                     | 185(-), 203(-11.9), 225.5(1.4)                 |
| <b>ciklo (Pro-Ala-Pro-Gly)</b>                             | <b>CH<sub>3</sub>CN</b> | <b>199.8(-20.15), 222(-9.65)</b>               |
| <b>referencia</b>  | <b>TFE</b>              | <b>198(-36.0), 220(-1.25)sh</b>                |
|  | <b>H<sub>2</sub>O</b>   | <b>199(-34.2), 229.4(1.8)</b>                  |

<sup>a</sup>  $\lambda$  nm -ben, míg a  $\Delta\varepsilon$  érték  $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$  van megadva

### 3. A ciklo(Ala-Pro-Phe-Gly) ciklotetrapeptid $\beta$ -homoaminosavakkal szubsztituált homológjainak szintézise és spektroszkópiai vizsgálata

#### Publikáció

- Poszter absztrakt: közös eredmények az **1**) alatt leírt vegyületcsaláddal

E. Vass, K. Köhalmi, M. Hollósi and Zs. Majer:

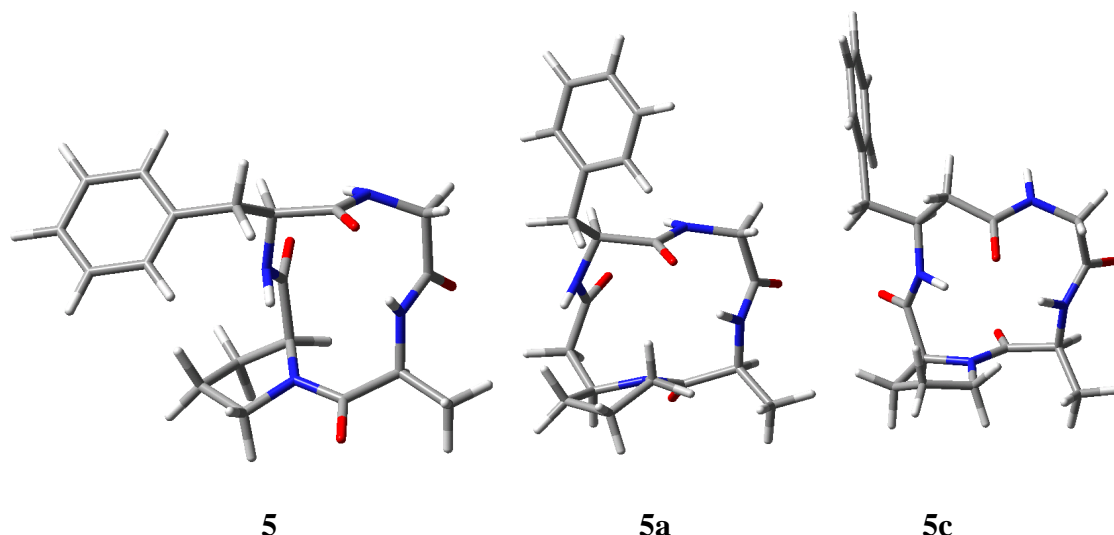
„Spectroscopic investigations on model cyclic peptides containing  $\beta$ -amino acids”

*Journal of Peptide Science* **10** (Supl.), p275 (2004), - 28th EPS

- MTA Peptidkémiai Munkabizottsági ülés, Balatonszemes, 2004
- Publikáció előkészítése van folyamatban

Olyan vegyületeket terveztünk, ahol a konformációs változásokat lehetőleg a  $\beta$ -homo-aminosav jelenléte idézett elő, azaz ugyanazon szekvenciájú ciklopeptidben szisztematikusan cseréltünk  $\alpha$ -aminosavat  $\beta$ -homo-aminosavra. Miután a gyűrű mérete a  $\beta$ -homo-aminosav beépítésével egy  $-\text{CH}_2-$  csoporttal megnőtt, a legkisebb lehetséges gyűrűméretet választottam és egy ciklotetrapeptid-sorozatot terveztem a korábbi vizsgálatokra (lásd 2.fejezet) támaszkodva (**2. táblázat**).

A ciklo(Ala-Pro-Phe-Gly) **5**, valamint  $\beta$ -homo-aminosav-részletet tartalmazó analógjai [ciklo(Ala- $\beta$ -homo-Pro-Phe-Gly) **5a** és ciklo(Ala-Pro- $\beta$ -homo-Phe-Gly) **5c** esetében részletes konformáció-analízist végeztünk a Gaussian 03 kvantumkémiai szoftvercsomag segítségével. A konformációs teret előbb molekulamechanika segítségével térképeztük fel Amber erőteret használva, az így kapott konformerek geometriáját tovább optimalizáltuk AM1 szemi-empirikus szinten, végül pedig 5-6 releváns (alacsony energiájú) konformert megtartva 6-31G\*/B3LYP DTF módszerrel is kiszámítottuk a geometriát, ill. az infravörös és VCD-spektrumok későbbi értelmezése érdekében az elméleti rezgési spektrumot. A három vegyület legvalószínűbb térszerkezetét a **2. ábra** mutatja.



2. ábra A ciklo(Ala-Pro-Phe-Gly) (**5**), ciklo(Ala- $\beta$ -homo-Pro-Phe-Gly) (**5a**) és ciklo(Ala-Pro- $\beta$ -homo-Phe-Gly) (**5c**) legvalószínűbb konformerei

A konformáció-analízis értelmében mindhárom vegyület képez  $\gamma$ -kanyar szerkezetet, és a kisméretű ciklus ellenére, elsősorban a  $\beta$ -homo-aminosav-tartalmúak, meglehetősen flexibilisek. A  $\gamma$ -kanyar leginkább a Phe és Gly aminosav-részletek körül alakul ki, az ciklo(Ala-Pro-Phe-Gly)**5** és a ciklo(Ala- $\beta$ -homo-Pro-Phe-Gly)**5a** esetében egymás mellett így akár kettő is (ld. **5-5a** szerkezeteket), a ciklo(Ala-Pro- $\beta$ -homo-Phe-Gly)**5c** esetében viszont a  $\beta$ -homo-Phe részlet körül csupán  $C_6$  intramolekuláris H-kötés jöhet létre. A ciklo(Ala-Pro-Phe-Gly)**5** már a legkisebb energiájú konformerben is tartalmaz *cisz* peptidkötést, így csökkentve a gyűrű merevségét, a másik két vegyület esetében szintén megjelennek *cisz* peptidkötések a magasabb energiájú konformerek között. A számítások szerint a ciklo(Ala-Pro-Phe-Gly)  $\beta$ -kanyar-szerkezetet is kialakíthat a Phe-Gly részlet körül.

| Vegyület   |           |
|--|-----------|
| ciklo(Ala-Pro-Phe-Gly)                               | <b>5</b>  |
| ciklo(Ala- $\beta$ -homoPro-Phe-Gly)                 | <b>5a</b> |
| ciklo( $\beta$ -homoAla-Pro-Phe-Gly)                 | <b>5b</b> |
| ciklo(Ala-Pro- $\beta$ -homo Phe-Gly)                | <b>5c</b> |
| ciklo(Ala-Pro-Phe- $\beta$ -homo-Gly)                | <b>5d</b> |
| ciklo( $\beta$ -homo-Ala-Pro-Phe- $\beta$ -homo-Gly) | <b>5e</b> |

## 2. táblázat

### A modellek szintézise:

A szintézishez szükséges  $\beta$ -homo-aminosavak ( $\beta$ -homo-alanin,  $\beta$ -homo-fenilalanin,  $\beta$ -homo-prolin) előállítása az irodalomban leírt módszerrel<sup>9</sup> történt. Arndt-Eistert lánchosszabbítással állítottuk elő a megfelelő N- védett  $\alpha$ -aminosav (terc.-butil-oxi-karbonil-aminosav, azaz Boc-aminosav; illetve fluorenil-metil-oxi-karbonil-aminosav, azaz Fmoc-aminosav) diazoketon-származékából,  $Ag^+$  katalízis és szonikálás alkalmazásával, szobahőmérsékleten lejátszódó Wolff átrendeződéssel kaptuk meg az enantiomer-tiszta  $\beta$ -homo-aminosavat. A  $\beta$ -homo-aminosavakat vékonyréteg kromatográfiával,

<sup>9</sup> Müller, A., Vogt, C., Sewald, N., *Synthesis*, **1998**, 837

nagynyomású folyadék kromatográfiával és NMR adatokkal azonosítottuk. A  $\beta$ -homo-fenilalanint csak recept módosításokkal sikerült előállítani.

A peptideket részben oldatfázisú-, részben kézi szilárd fázisú peptid szintézissel állítottam elő: Boc-technikával a szilárd fázis Merrifield gyanta (sav érzékeny) diklór-metán ill. dimetil-formamid oldószerben, **DIC<sup>1</sup>/HOBt<sup>2</sup>/DIPEA<sup>3</sup>** kapcsolószerekkel, a Boc-csoport hasítása 40% trifluoecetsav/diklormetán reagenssel történt. A peptidet a gyantáról gyökfogó jelenlétében hasítottam le HF reagenssel. Ugyancsak állítottunk elő lineáris peptid szekvenciákat Fmoc-technikával Wang-gyantán (bázis érzékeny).

A ciklopeptidek előállítása során fellépett nehézségek és a rossz kitermelés (10-30%) indokoltá tették a ciklizálási lépés körülményeinek optimalizálását (több gyűrűzárási módszer, különböző ciklizálószerek kipróbálása), de még így is csak 30%-os hatásfokot sikerült elérni. A legígéretesebb módszereknek az alábbiak látszanak:

- lineáris peptidet nagyon híg oldatban (dimetil-formamid,  $c \sim 0.1$  mmól/L) **HATU<sup>4</sup>/DIPEA<sup>3</sup>** reagenssel ciklizáltam szobahőmérsékleten, kb. 3-24 órás reakcióidővel
- lineáris peptidet nagyon híg oldatban (dimetil-formamid,  $c \sim 0.1$  mmól/L) **peptid/BOP<sup>5</sup>/HOBt<sup>2</sup> TEA<sup>6</sup> =1:1:1:2** illetve a **TEA** arányát növeltük **4**-ig, szintén szobahőmérsékleten, 2-4 napig.

*Rövidítések:*

<sup>1</sup>DIC diizopropil-karbo-diimid; <sup>2</sup>HOBt 1-hidroxi-benzotriazol; <sup>3</sup>DIPEA diizopropil-etil-amin

<sup>4</sup>HATU O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,2,3,3-tetrametiluronium hexafluorofoszfát

<sup>5</sup>BOP (benzotriazol-1-il-oxi)tris (dimetilamino)foszfónium-hexafluorofoszfát

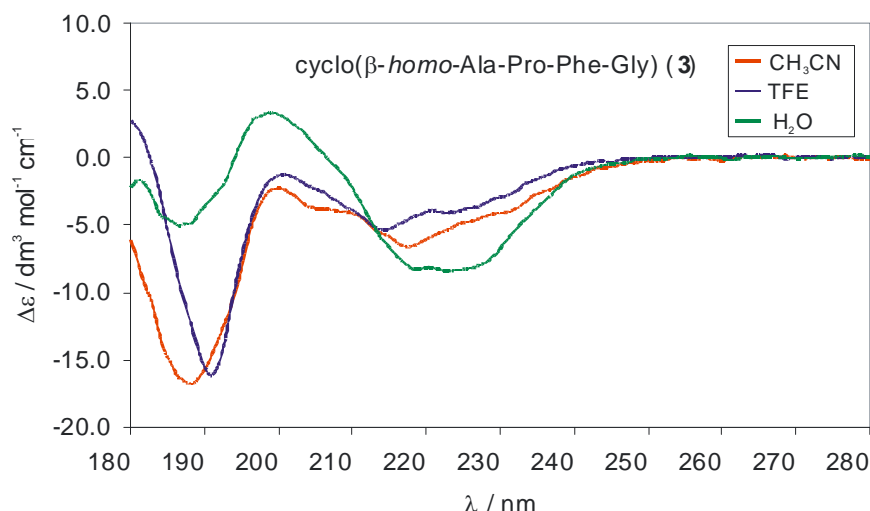
<sup>6</sup>TEA trietil-amin

*Tisztítás:* A ciklopeptideket fordított fázisú, gradiens elúciójú HPLC-vel (Jasco, Japán) tisztítottuk (acetonitril/víz/trifluoecetsav). A tisztítás során a peptidek jó oldékonysága is problémát okozott. Legjobb oszlopnak egy Alltech Alltima C18 WP (250 x 5 mm, 5  $\mu$ m, 300 Å) szilikagél alapú oszlop bizonyult: a jobb elválasztás mellett, az anyagok oszlopról való elúciója is jobb volt. A ciklopeptidek azonosítása kromatográfiával és FAB- és ESI-tömegspektrometriával történt.

### Spektroszkópiai vizsgálatok:

A sorozat vegyületeinek CD és FTIR spektroszkópiai vizsgálata befejeződött. A modellek közül a ciklo( $\beta$ -homo-Ala-Pro-Phe-Gly) **5b** vegyület komplex spektroszkópiai vizsgálata (CD/FTIR) eredményesen zárult, sőt kibővült VCD méréssel is. A ciklo(Ala- $\beta$ -homo-Pro-Phe-Gly) (**5a**) VCD-spektruma nem szolgáltatott ugyan egyértelmű megoldást a térszerkezetre vonatkozóan, a kvantumkémiai számítások, valamint az elektronikus CD-spektrum jellege viszont arra utal, hogy *cisz*-peptidkötés alakul ki az Ala és  $\beta$ -homo-Pro aminosavrézletek között, így a várttal ellentétben nem jön létre C<sub>8</sub> H-kötéses pszeudo- $\gamma$ -kanyar szerkezet.

A ciklo( $\beta$ -homo-Ala-Pro-Phe-Gly) **5b** vegyület CD spektrumát (**3.ábra**) vízben, acetonitrilben (ACN) és trifluoetanolban (TFE) vettem fel. Vízben kevésbé jellegzetes görbék kaptam: gyenge intenzitású negatív sáv 188nm körül, szintén kis intenzitású pozitív sáv ~198 nm körül és egy negatív  $\pi\pi^*$  sáv 222-228 nm környékén. A spektrumok ACN és TFE oldószerekben hasonlóak voltak: negatív  $\pi\pi^*$  sáv ~190 nm körül és egy kis intenzitású negatív  $\pi\pi^*$  sáv 222-225 nm környékén. Ez utóbbi klasszikus  $\gamma$ -kanyar jelenlétére utal, amely a Gly körül alakult ki az uralkodó konformerben.



**3. ábra** 5b vegyület CD spektruma

A fenti (**5b**) vegyület CD- és FTIR-vizsgálatai mellett a VCD spektroszkópiai vizsgálat és legalacsonyabb energiájú konformeré(i)nek keresése (Gaussian 03 kvantumkémiai szoftvercsomag) is megtörtént. A mért és számított FTIR és VCD spektrumok jól egyeznek a legalacsonyabb energiájú konformer esetében. Aprotikus oldószerben az fő konformerben a VCD spektrum is klaszikus  $\gamma$ -turn jelenlétét erősíti meg a Gly körül, amelyet egy bifurkált ( $C_7+C_5$ ) intramolekuláris H-híd stabilizál. A vegyület másik (minor) konformerjeiben is van  $\gamma$ -turn, amely a Pro, illetve Phe körül alakul ki.

Folyamatban van a két  $\beta$ -homo-aminosavat tartalmazó modell **5e** vizsgálata. Spektrumok felvétele megtörtént, de nem egyeznek az elméleti számítások szerint várt VCD-adatokkal. Így a modellek konformer-kereséséhez újabb megközelítés(ek) szükséges. A többi vegyület VCD vizsgálata is folyamatban van.

#### Összegezve:

- a különböző spektroszkópiák eredménye jó egyezést mutat a ciklo( $\beta$ -homo-Ala-Pro-Phe-Gly) **5b** vegyület esetében a számított spektrumokkal, illetve a konformációs analízis eredményével.
- kis ciklusnál, ami egy feszült rendszert képez, a  $\beta$ -homo-aminosav beépítése nagyobb flexibilitást ad a peptidgerincnek
- $\beta$ -homo-aminosav beépítése  $\gamma$ -kanyar kialakulását indukálja

#### Problémák:

- ciklo(Ala-Pro-Phe-Gly) **5** modell vegyület ciklizációjakor a dimer-képződés a kedvezményezettebb, így csak igen kis mennyiségben kaptuk a monomer vegyületet. Több gyűrűzárást kipróbáltam de egyik sem hozott jobb eredményt – valószínűleg a kialakuló gyűrű túl feszült lenne.
- Jó oldékonyságuk megnehezítette az izolálásukat.
- A mért VCD-spektroszkópiai eredmények nem egyeznek meg az elméletileg kiszámolt spektrummal. Így szükséges még egyszer átgondolni az alkalmazott konformer-keresést, kvantumkémiai számításokat.

#### 4.) Ciklopenta- és ciklohexapeptidek prolin-rész nélkül

**Publikáció:** előkészületben



A prolin-rész konformáció-módosító befolyását akartam kiszűrni a **3. táblázat**ban felsorolt modellekkel. A vegyületek szintézise sem egyszerű feladat, de a spektroszkópiai vizsgálat sem hozta meg még az egyértelmű eredményeket – további vizsgálatok szükségesek.

A ciklopeptidek előállítás és ciklizálása szintén szilárd fázison történt, a **3. pont**ban leírt eljárás szerint. A szintézis során kiderült, hogy az összehasonlító, csak  $\alpha$ -aminosavakból álló alanin-tartalmú ciklopeptidek szinte oldhatatlanok. A  $\beta$ -homo-alanin tartalmú peptid oldékonysága már jobb, de még ezek is nagyon nehezen oldhatók; így tisztításuk nehézkes. A tervezett szerin tartalmú ciklopeptidek oldékonysága jobb, bár ciklizálásuk bonyolultabb. A szerin tartalmú ciklopeptidekre végzett kvalitatív molekula dinamikai számítások (HyperChem 6.0 programcsomag és AMBER erőter alkalmazása) szerint a gyűrű konformációja nem változik meg az Ala  $\rightarrow$  Ser csere révén, ezért elkészítettem egy modellsorozatot a szerin, illetve a  $\beta$ -homo-szerin tartalmú ciklopeptidekből is.

### 3. táblázat

| Vegyület   |           | oldószer           | $\lambda$ ( $\Delta\epsilon$ ) <sup>a</sup>                        |
|--|-----------|--------------------|--|
| c(Leu- $\beta$ -homoAla-Phe-Leu-Ile)                   | <b>6</b>  | TFE                | 182.6 (-18.8), 194.6 (15.4), 204.8 (-1.9), 210 (2.2), 223.2 (-2.7) |
| c(Val- $\beta$ -homoAla-Phe-Leu-Ile)                   | <b>7</b>  | CH <sub>3</sub> CN | 185 (-11.58), 198.2 (10.6), 226 (2.9)                              |
|  |           | TFE                | 185 (-10.2), 194.2 (8.3), 205 (-7.9), 225 (-3.8)                   |
| c(Met-Leu- $\beta$ -homoAla-Phe-Leu-Ile)               | <b>8</b>  | TFE                | 185 (-), 194.2 (1.4), 203 (-4.16), széles sáv 224 (3.5)            |
| c(Leu-Ser-Phe-Leu-Ile)                                 | <b>9</b>  | TFE                | 183 (+), széles sáv 203 (-12.5), 224.5 (-6.1) váll                 |
| c(Met-Val-Ser-Phe-Leu-Ile)                             | <b>10</b> | TFE                | 183 (+), széles sáv 200 (-8.3), széles sáv 230 (3.6)               |
| c(Val-Ser-Phe-Leu Ile)                                 | <b>11</b> | TFE                | 183 (+), széles sáv 203 (-10.5), 224.5 (-4.1) váll                 |
| c(Leu- $\beta$ -homoSer-Phe-Leu-Ile)                   | <b>12</b> | TFE                | 183 (-15.1), 194 (17.4), 203 (-0.9), 210 (2.2), 223.2 (-1.7)       |
| c(Leu-Ile-Met- $\beta$ -homoVal- $\beta$ -homoSer-Phe) | <b>13</b> | TFE                | 185 (-), 200 (-11.26), széles sáv 221 (4.8)                        |

<sup>a</sup>  $\lambda$  nm –ben, míg a  $\Delta\epsilon$  érték  $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$  van megadva

Az előállított ciklopeptidek közül a ciklo(Leu<sup>4</sup>- $\beta$ -homo-Ala<sup>5</sup>-Phe<sup>1</sup>-Leu<sup>2</sup>-Ile<sup>3</sup>) **6** és a ciklo(Val- $\beta$ -homo-Ala-Phe-Leu-Ile) **7** vegyület molekula dinamikai (MD) számításai szerint várható egy  $\Psi\gamma$ -kanyar a  $\beta$ -homo-alanin körül; egy axiális helyzetű  $\gamma$ -turn helyezkedik el a 4-Leu (illetve Val) körül; egy  $\beta$ -turn a 2-Leu és 3-izo-Leu (Ile) körül (számozást **6** modellben a piros felső indexek mutatják). E vegyületek CD és FTIR spektroszkópiai adatai nem mutattak lényeges különbséget, ami jelentheti azt is, hogy a Leu és Val különböző oldallánc-igénye nem befolyásolja lényegesen a kialakuló H-hidas szerkezetet.

### Eredmények, következtetések:

**I.** A **6, 7** vegyületre elvégzett MD számítások jó egyezésben vannak a vizsgált ciklopeptidek esetében a CD és FTIR spektrumok alapján levonható következtetéssel. Az FTIR trifluor-etanolban mért spektrumban az amid I sáv megjelenése  $1626 \text{ cm}^{-1}$

tartományban egy  $\gamma$ -/ $\Psi\gamma$ -turn szerkezetre utal, míg  $1651\text{ cm}^{-1}$  sáv egy  $\beta$ II-turn jelenlétét sugallja. Az  $1672\text{ cm}^{-1}$  sáv pedig a szabad, ill. torzult amidhoz rendelhető. Bár a CD spektrum konformer elegy jelenlétére utal, a negatív  $n\pi^*$  sáv  $225\text{ nm}$ -nél utalhat  $\gamma$ -turn jelenlétére.

Elkészült a **7** vegyület NMR spektruma is, TFE-D<sub>2</sub> és DMSO-D oldószerekben (Eckhart Guthöhrlein PhD Thesis, Univ.Bielefeld)<sup>10</sup>.

A TFE-D<sub>2</sub> mérés eredményei a következők:

- **pszeudo-  $\gamma$ -kanyar** ( $\Psi\gamma$ -turn) szerkezet a  $\beta$ homo-Ala körül, a H-híd Phe aminosavrész –NH- és a Val aminosavrész O-atomja (–CO-csoport) között alakult ki (64%)
- **$\gamma$ -kanyar** ( $\gamma$ -turn) szerkezet a Leu körül alakult ki, H-híd pedig az Ile –HN- és a Phe –O-(–CO-csoport) között alakult ki (85%)
- **$\beta$ -kanyar** jelenlétét a torziós szögek nem indokolják.

Bár a **6, 7** vegyületek a CD és FTIR spektroszkópiai adatai nem mutattak lényeges különbséget, ami jelentheti azt is, hogy a Leu és Val különböző oldallánc-igénye nem befolyásolja a kialakuló H-hidas szerkezetet, az NMR vizsgálatok szerint ez csak részben igaz. AZ NMR adatokat figyelembe véve elmondhatom, hogy a **6** vegyület CD-spektrumának „szabdaltsága” jelentheti a  $\beta$ -kanyar jelenlétét is, ellentétben a **7** vegyület egyszerűbb CD-spektrumával.

II. A CD- és FTIR spektrumok alapján nincs különbség a **6** és a **12** ( $-\beta$ -homo-Ala illetve  $-\beta$ -homo-Ser) vegyületek között.

III. A ciklo(-Met-Leu- $\beta$ -homo-Ala-Phe-Leu-Ile-) peptid gyenge intenzitású görbét adott mind TFE, mind CH<sub>3</sub>CN oldószerekben. Ez konformer elegy jelenlétére utal, amit a gyűrű nagy tagszáma indokol is (nagy flexibilitás).

IV. A Met-tartalmú vegyületeknél a CD-spektrumban  $225\text{ nm}$ -nél megjelenő pozitív sáv a kén jelenlétére utal és ellentétes hozzájárulása révén zavarja a CD-spektrumok kiértékelését. Ugyanakkor a Met-tartalmú peptidek előállításánál fellépett az oxidáció is, ami külön problémát jelentett a tisztításnál.

V. A ciklohexa peptidek, sőt a  $\beta$ -homo-aminosav tartalmú ciklohexapeptidek nem ideális modellek: a gyűrűméret viszonylagos nagy flexibilitása miatt több konformáció valósulhat meg, az analízis nem egyszerű feladat.

VI. Megállapítottam, hogy a  **$\gamma$ -kanyar** és/illetve  **$\Psi\gamma$ -kanyar** a nem-prolin tartalmú ciklopeptid modellek CD-spektrumában a következő jellegzetességet mutatja: egy intenzív pozitív sáv  $194\text{ nm}$  körül,  $205\text{ nm}$  környékén egy közepesen gyenge negatív és  $225\text{ nm}$  környékén pedig egy gyenge negatív sáv jelenik meg.

VII. További NMR-VCD vizsgálatok szükségesek az eddigi modellek felhasználásával.

### 3) $\beta$ -Alanin – linker - használata modell ciklopeptidek előállításánál. H-hidas szerkezetek vizsgálata

#### Publikáció:

- Farkas, V., Vass, E., Hanssens, I., Majer\*, Zs., Hollósi, M.  
Cyclic peptide models of the Ca<sup>2+</sup>-binding loop of  $\alpha$ -lactalbumin  
*Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **13**, 5310-5320 (2005)

<sup>10</sup> Készülék: Bruker Avance 600

NOE- és NOESY technika, távolság-geometria XPLOR-program, GROMOS-program

- Több poszter 27th EPS (2002), 29th EPS(2004), Peptid- és Fehérje Munkabizottsági (2003, 2004) ülésén bemutatott előadás, Vegyészkonferencia 2003,

Az  $\alpha$ -laktalbumin  $\text{Ca}^{2+}$ -kötő helyének (loop: -KLFDDDLTDD-) modellezésére egy sorozat ciklusos modellpeptidet állítottunk elő. A szilárd fázisú peptid szintézis során alkalmaztunk  $\beta$ -Ala aminosavat; amely egyrészt a gyantához való kötést és így a ciklust biztosító szekvencia optimális távolságát biztosította a gyantától; másrészt a modellezett gyűrű változó méretének kialakítását biztosította. CD és FTIR spektroszkópiával megállapítottuk, hogy a Lys aminosav jelenléte a  $\text{Ca}$ -kötődést elősegíti és az aggregáció kialakulását gátolja. A szintézist, a  $\text{Ca}^{2+}$ -ionok hatására bekövetkező térszerkezet-változást, a kalciumkötő hely aminosavösszetétel – kalcium-kötés közötti összefüggést tartalmazó közlemény már megjelent: *Bioorganic and Medicinal Chemistry* c. (2005) folyóiratban

#### 4) $\beta$ -aminosav tartalmú peptidek szerkezetvizsgálata (együttműködés):

A Bielefeldi Egyetem Szerves- és Bioorganikus Kémiai Tanszékén Norbert Sewald csoportjával való együttműködés keretében szintetizált modell vegyületek témakörében is történt előrelépés.

- a) Fémionok konformációra gyakorolt hatását végeztük el  $\beta$ homo-aminosavat tartalmazó ciklopenta- (4) és cikloheptapeptidekkel (2).  $\text{Ca}^{2+}$  és  $\text{Cd}^{2+}$  ionokkal végeztem részletes CD- titrálást, amely adatok szerint főleg az 1:1 sztöchiometriájú komplex képződik és az NMR vizsgálatokban mindkét kation használható mérésekre. Eredményeimet az FTIR vizsgálatok is alátámasztották. A mérések kiértékelése folyamatban van.
- b) Az **efrapeptinek** a peptid-antibiotikumok egyik osztályába tartoznak, a *Tolypocladium niveum* gomba termeli, inhibitorai az  $\text{F}_1$ -ATP-áznak és hatásos a malária ellen is. A vegyületben több  $\alpha,\alpha$ -dialkilezett aminosav-,  $\beta$ -alanin- és több pipekolinsavrész található. Az *efrapeptin C* oldatbeli konformációja nem ismert, csak  $\text{F}_1$ -ATP-ázzal alkotott komplexének kristályszerkezete. Norbert Sewald csoportjában efrapeptin analógokat szintetizáltak, hogy a szerkezet-hatás közötti összefüggést tisztázzák. A kristályszerkezetből ismert volt már, hogy a molekula 2 helikális részt tartalmaz, amelyeket a -Leu- $\beta$ Ala-Gly- részlet választ el. Ebben a szerkezeti részletben különböző helyekre építették be a  $\beta$ -aminosavat:
  - a. -Leu-Aib-Gly-
  - b. - $\beta$ Ala-Leu-Gly-
  - c. -Leu-Gly- $\beta$ Ala-
  - d. -Leu- $\beta$ homoPhe-Gly-

A sorozatot CD és FTIR spektroszkópiával vizsgáltuk.. A spektrumok tükrözték helikális részeket ( $3_{10}$  hélixek, ezek jellemzők az  $\alpha,\alpha$ -dialkilezett aminosavakat tartalmazó peptidekre), de a konformációs viszonyokban jelentős különbséget a CD nem mutatott. Feltételezésem szerint, a két helikális régiót  $\beta$  –szerkezeti részlet(ek) köti össze, ami lehet hajtűszerkezet ( $\beta$ -bend) vagy  $\beta$ -kanyar is. A VCD mérések is hasonló eredményekkel záródtak.

A vegyületek NMR spektroszkópiai vizsgálata folyamatban van (Bielefeld).

#### Publikáció:

Poszterek: E témakörből 3 konferencián poszterrel vettünk részt.

- 27th European Peptide Symposium, 2002.  
In Peptides 2002, Ettore Benedetti and Carlo Pedone (Eds.), Edizioni Ziino, pp. 154-5, (2002)
- Deutsches Peptidsymposium 23. -26. März 2003, Berlin (Germany) poster
- 28th European Peptide Symposium, 2004.  
In Peptides 2004, M.Flegel, M.Fridkin, C.Gilon, J.Slaninova (Eds.) Kenes International, pp. 387-8 (2004)

c) Ciklusos hexapeptidek sorozatának, amely *cisz*- illetve *transz*-2-amino-ciklohexán-(ACHA) és -ciklopentán-karbonsav (ACPA) részleteket tartalmaz, CD-spektroszkópiai vizsgálatát végeztem. E vegyületek NMR és FTIR vizsgálata  $\gamma$ -kanyar szerkezet mellett elsősorban C<sub>10</sub> H-kötéses  $\beta$ - és C<sub>11</sub> H-kötéses pszeudo- $\beta$ -kanyar létrejötte valószínűsíthető. A CD vizsgálatok alapján határozott különbség van a *cisz*- és *transz*-izomert tartalmazó ciklopeptidek között. A kapott kis mennyiségekből nem lehetett oldószerfüggést végezni némelyek vegyület rossz oldékonysága, illetve kis mennyisége miatt; így a szintéziseket meg kell ismételni. Ugyanakkor kívánatos a gyűrűbe épített nem-természetes aminosavak (ACHA és ACPA) spektroszkópiai jellemzéséhez egyszerűbb modellek előállítására. A vizsgálatok még folyamatban vannak, de a VCD elméleti eredményeihez szükséges konformer-keresés / optimalizálás, határt szab a számítástechnikai háttér: úgy tűnik ezek már nagy molekulák a jelenlegi számítási kapacitásunknak.

5) Az  $\alpha$ -aminosavak ródium, molibdén és ruténium komplexeinek kiroptikai viselkedéséről már több publikáció született<sup>11</sup>. A Lengyel Tudományos Akadémia Szerves Kémiai Tanszékével, Dr. Jadwiga Frelek, együttműködve védett  $\beta$ homo-aminosavak átmeneti fém-komplexeinek előállítása (Rh, Ru), spektroszkópiai vizsgálata is megindult. Az eredmények kiértékelése és az adatok összehasonlítása folyamatban van, publikáció előkészületben.

6) Képződhet akrilamid peptidekből? (2005)

**Publikáció:** közlésre elfogadva

• J. Buhlert, R. Carle, Zs.Majer, D. Spitzner "Kann Acrylamid aus Peptiden entstehen? Eine Modellstudie" Letter in Organic chemistry", 2006.  
Erre a kérdésre kerestük a választ modell vegyületek szintézisével, pirolízisének vizsgálata tömegspektrometriával. (Újabb téma, együttműködés Dr. Dietrich Spitzner professzor, Institute of Chemistry, Hohenheim University, Stuttgart).

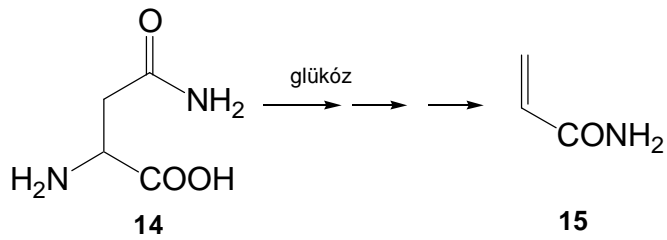
Az elmúlt években több publikáció szerint élelmiszerek, főleg péksütemények akrilamid-tartalma<sup>12</sup> magasabb a megengedettnél. Mint ismert, az akrilamid a rákkeltő (carcinogén) anyagok listáján szerepel. A Hohenheim-i Egyetem több kutatócsoportja foglalkozik ezzel a témával, kutatásaik során felmerült egy hipotézis, melynek eldöntéséhez peptidekre volt szükségük. Izotópjelzést használva bebizonyosodott<sup>13</sup>, hogy 250-350 °C-on akrilamid (**15**) keletkezik többlépéses reakcióban, aszparaginból (**14**) és cukorból, pl glükózból.

**Hipotézis:** A fehérjék hőkezelése során (részleges) bomlást szenvedhetnek, s a keletkező peptidek- illetve aminosavak pirolízisekor keletkezhet akrilamid. Tojásfehérje hőkezelésekor alanint és  $\beta$ -alanint találtak, majd ezen aminosavak termolízisét LC/MS alkalmazásával vizsgálták.

<sup>11</sup> J. Frelek, A. Klimek, P. Ruškowska *Curr. Org. Chem.* **2003**, *7*, 1081-1104

<sup>12</sup> E.Tarke, P.Rydberg, P.Karlson, S.Eriksson, M.Törnqvist: *Chem.Res.Toxicol.*, **2000**, *13*, 517-522

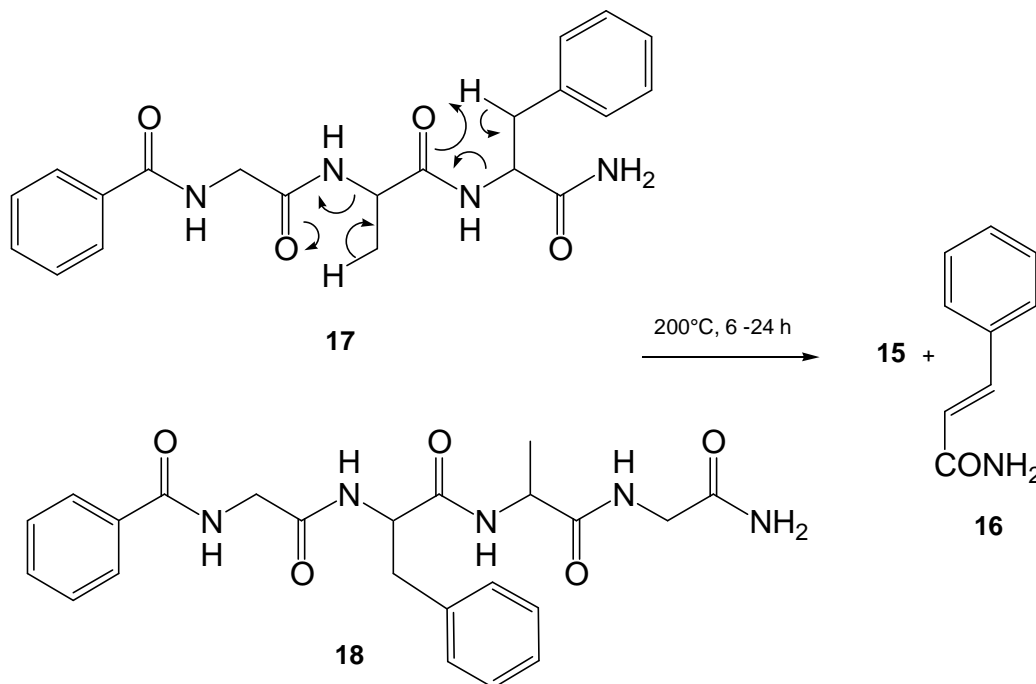
<sup>13</sup> V.A.Yaylayan, A.Wnorowski, C.P. Locas: *J.Agric.Food Chem.*, **2003**, *51*, 1753-1757



Ezen vizsgálatokhoz állítottam elő védett tri- és tetrapeptideket, illetve ezek közttermékét. A **17** és **18** peptidek vizsgálatai során kiderült, hogy a peptidek termolízisekor mind akrilamid (**15**), mind fahéjsavamid (**16**) keletkezett, ez utóbbi kb. 10x nagyobb mennyiségben (akrilamid valószínűleg polimerizált).

| Peptidek  |   |
|---|---|
| Benzoil-Gly-Ala-Phe-NH <sub>2</sub> ( <b>17</b> )     | Benzoil- Gly-Asp-Phe-NH <sub>2</sub>                                  |
| Boc-Ala-Phe-NH <sub>2</sub>                           | Ac-Gly-βAla-NH <sub>2</sub>   |
| Ac-Ala-Ala-Ala-NH <sub>2</sub>                        | Ac-Ala-Ala-Ala-OMe  |
| Ac-βAla-βAla-βAla-NH <sub>2</sub>                     | H-Gly-Asp-Asp-Gly-OH  |
| Benzoil-Gly-Phe-ALa-Gly-NH <sub>2</sub> ( <b>18</b> ) | Benzoil-Gly-Phe-ALa-Gly- <sup>15</sup> NH <sub>2</sub> ( <b>18*</b> ) |

Tri- és tetrapeptid ( **17** és **18** ) hőbomlása (elképzelhető átalakulás):



Jelenleg is folynak vizsgálatok: az aszparaginsav-tartalmú peptidekkel. Ezen vizsgálatoknak igen jelentősek az élelmiszeriparban alkalmazott technológiák engedélyeztetésénél, hiszen **egészségre káros anyagok** nem keletkezhetnek élelmiszeriparban alkalmazott technológiai folyamatokban!

## 7) Oligopeptidek szerkezetének tanulmányozása CD-spektroszkópiával

Ebben a témakörben a biológiai hatással rendelkező szintetikus oligopeptidek szerkezetvizsgálati módszerei közül a CD-spektroszkópiát használtam a szerkezet-hatás vizsgálatokban.

### Publikációk:

- Zs. Majer, Sz. Bösze, G. Mező, F. Hudecz: (poszter) 2003
- Mező, G., Majer, ZS., Vass, E., Jiminez, M.A., Andreu, D., Hudecz, F. *Biophys. Chem.* **103**, 51-65 (2002)
- Mező, G., Kalászi, A., Reményi, J., Majer, ZS., Hilbert, Á., Láng, O., Kőhidai, L., Barna, K., Gaál, R., Hudecz, F. *Biopolymers* **73**, 645-656 (2004)
- Kőhidai, L., Kun, L., Pállinger, É., Csaba, Gy., Mihala, N., Majer, Zs., Süli-Varga, H., *J. Peptide Sci.* **10**, 427-438 (2004)
- Bösze, Sz., Caccamo, N., Majer, Zs., Mező, G., Dieli, F., Hudecz, F. *Biopolymers*, **76**, 464-476, (2004)
- Shanmugam, G., Polavarapu, P. L. HallgasS, B., Majer, Zs. *Biochem., Biophys. Res. Comm.* **335**, 712-722 (2005)
- Vanhooren, A., Chedad, A., Farkas, V., Majer, Zs., Joniau, M., Van Dael, H., Hanssens, I. *PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics*, **60**, 118-130 (2005)
- Volpon, L.; Tsan, P.; Majer, Zs.; Vass, E.; Hollósi, M.; Noguéra, V.; Lancelin, J.-M.; Besson, F. *Journal of Peptide Science*, **2006.**, in press

### Összefoglalás

- A tervezett és előállított modellek többsége megfelelt a kiválasztott spektroszkópiai vizsgálatoknak.
- A szerkezetvizsgálatokban a CD-, FTIR- és NMR spektroszkópia komplex alkalmazása jó eredményekhez vezetett. *Probléma*: a méréseknél használt eltérő koncentrációk által okozott jelenségek helyes értelmezése.
- A kisméretű ciklusok szintézise bonyolult és rossz kitermeléssel valósítható meg, pl. dimerizáció kedvezőbb.
- A  $\beta$ -aminosavegységek beépítésére visszavezethető, spektroszkópiával megállapított konformációváltozások:
  - ❖ A  $\beta$ -aminosavegység flexibilissé teszi a gerinckonformációt
  - ❖ a vizsgált ciklotrapeptidekben a  $\beta$ -aminosavegységek jelenléte a szomszédos  $\alpha$ -aminosavegységek körül  $\gamma$ -kanyar létrejöttét (C7) indukálja
  - ❖ kevésbé feszült ciklopentapeptidekben, mint pl. ciklo(Ala-Val- $\beta$ -homoPro-Phe-Gly) a  $\beta$ -aminosavegység szerepelhet pszeudo- $\beta$ - (C11) és/vagy pszeudo- $\gamma$ -kanyar (C8) *i+1-es* pozíciójában
  - ❖ Az irodalomban leírt C6, C8 H-kötéses szerkezeteket nem tapasztaltuk a  $\beta$ -aminosavegységek körül => kisméretű, feszült rendszerekben a C7 kedvezőbb
- Mint új módszert, egy-két modell szerkezetvizsgálatánál, használtuk a vibrációs CD (VCD) technikát. E módszer alkalmazása az FTIR- és CD-spektroszkópia mellett, kvantumkémiai számításokkal kombinálva alkalmas kisméretű peptidok konformációjának felderítésére, a H-kötéses kanyarszerkezetek kimutatására. Ugyanakkor a kisméretű peptidok esetében a jelenleg alkalmazott konformer-keresés és kvantumkémiai számítás nem hozta az empirikus és elméleti spektrumok egyezését.

- A -peptidek kutatási palettáját gyarapítottam az Efrapeptinek vizsgálatával, valamint az akrilamid keletkezésének vizsgálatával, valamint olyan ciklopeptidek vizsgálatával, amelyek nem-természetes aminosavak  $\beta$ -származékát tartalmazzák.
- Jó eredményeket tudok felmutatni az oligopeptidek térszerkezetvizsgálatában, peptid-kation kölcsönhatás spektroszkópai vizsgálatában.
- A hőmérsékletfüggő CD-mérések körülményeinek tisztázását finomítani kell. Az alkalmazott hullámhossztartományban, mely hullámhossztartomány függvénye a fűtőegységhez tartozó küvetta vastagsága, nem találtam jellegzetes változást az  $\alpha$ - és  $\beta$ -homo-aminosavat tartalmazó peptidek között.

*Megjegyzés:*

Több szerkezetet tárgyaló ábrát törölnöm kellett, mert megnőtt a csatolandó file mérete.