

Magyar

Kémiai Folyóirat

Kémiai Közlemények

120. ÉVFOLYAM, 2014

4

A Magyar Kémikusok Egyesülete tudományos folyóirata
A Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Osztályának közleményei
Magyar Kémiai Folyóirat 120. évfolyam, 4. szám 141-188. oldal, 2014

Útmutatás szerzőknek

A Magyar Kémiai Folyóirat fő feladata egyrészt a magyar kémiai szaknyelv folyamatos ápolása, s a kémiai tudomány fejlődéséhez, az aktuális tudományos újdonságokhoz alkalmazása, egyidejűleg a minél teljesebb körű szakmai információ-csere késedelem nélkül biztosítása, s az, hogy magas szakmai színvonalon tegye hozzáférhetővé az érdeklődők számára a hazai és külföldön élő magyar kémikusok kiemelkedő tudományos kutatási eredményeit, sikereit és mutassa be a kémiai tudományok világszerte bekövetkező fejlődését, változását, a kémia legfrissebb vívmányait, alkalmazásait, az érdeklődés gyújtópontjába kerülő területeit, másrészt, hogy segítséget nyújtson következő kémikus nemzedékeknek a kémiai tudomány anyanyelven való megismeréséhez, a kémiai ismeretek, fogalmak szakmailag helyes és pontos magyar nyelvű kifejezéseinek megtanulásához.

A Magyar Kémiai Folyóirat negyedévenként jelenik meg. Eredeti magyarnyelvű közleményeket – az alább megadott, szigorúan korlátozott terjedelemben, a nemzetközi tudományos folyóiratok átlagos színvonalát elérő munkák esetén – jelentet meg, előnybe részesítve fiatal kutatók első önálló közleményeit. Összefoglaló cikkeket közöl (felkérés alapján) hazai kiemelkedő teljesítményű kutatóműhelyek hosszabb idő alatt elért eredményeiről, hazai nemzetközi konferenciákról, a nemzetközi érdeklődés gyújtópontjába került kutatási területekről, bemutatta a friss eredményeket, fejlődési irányokat, s ha van, a hazai hozzájárulást, külföldön élő, sikeres magyar származású vegyész-kutatók munkájáról, a szomszédos országokban, határainkon kívül működő magyar kémikusok közzétételre érdemes tudományos eredményeiről. Helyet kapnak a folyóiratban könyvismertetések, kémiai és rokontárgyú kiadványokról. Külön rovatként közli a korábban már a Magyar Kémiai Folyóirat-ba beolvasztott Kémiai Közlemények profiljából átvéve akadémiai székfoglalók, MTA doktora címért megvédett értekezések és PhD-dolgozatok összefoglalóit és akadémiai fórumokon elhangzott egyes előadások rövidített változatát. Idegen nyelven már közzétett cikkek másod-közlését a folyóirat nem vállalja. Terjedelem túllépést csak a szerkesztőbizottság hozzájárulásával, a többlet terjedelem megváltása ellenében fogad el.

Az egyes közlemény-fajták térítésmentesen, szerkesztőbizottsági hozzájárulás nélkül kitölthető terjedelme (nyomtatott oldalak):

1. Összefoglaló közlemények a) jelentős, aktuális kutatási terület legújabb nemzetközi eredményeiről: max. 8 + 1 oldal angol nyelvű kivonat, b) kiemelkedő hazai kutatóhelyek újabb eredményeiről, ill. c) külföldön alkotó magyar származású kiemelkedő elismertségű kutatók munkásságáról: max. 6 + 1 oldal angol nyelvű kivonat.

2. Eredeti közlemények: új tudományos eredményeket bemutató, lektorált magyar nyelvű közlemények: max. 4 + 1 oldal angol nyelvű kivonat. Előnyt élveznek fiatal kutatók (pl. kiemelkedő PhD értekezések összefoglalója) és határon túli magyar kutatók munkái.

3. A "Kémiai Közlemények" rovatban a) Akadémiai székfoglaló előadások rövidítve és b) MTA Doktora védések anyagának összefoglalói: max. 4-4, továbbá c) a Szerk. Bizottság, vagy az MTA Kémiai Tud. Osztálya által kiválasztott és az Osztály szervezésében elhangzott előadás összefoglalója: max. 2 oldal + féloldalas angol nyelvű kivonat.

4. Könyvismertetés: max. fél oldal.

A megadott maximális terjedelem túllépéséhez esetenként a Szerkesztő Bizottság – a költség-többlet szerző általi megtérítése ellenében – hozzájárulhat.

A kézirat elkészítését segítő mintafájl, valamint a részletes formai követelményeket a folyóirat honlapján találja meg:

<http://www.mkf.mke.org.hu>

Magyar Kémiai Folyóirat
HUNGARIAN JOURNAL OF CHEMISTRY
és
MTA Kémiai Közlemények

A Magyar Kémikusok Egyesületének lapja
Megindította Than Károly 1895-ben

Főszerkesztő: Sohár Pál

A szerkesztőbizottság tagjai:
Baranyai András, Felinger Attila, Gelencsér András,
Keglevich György, Szilágyi László, Wölfling János

Szerkesztő: Huszthy Péter

Technikai szerkesztő: Nagy Tibor Zsigmond

TARTALOMJEGYZÉK

A főszerkesztő előszava 142
Előszó (Náray-Szabó Gábor) 143

ELŐADÁSOK

Huszthy Péter: Optikailag aktív koronaéterek
szintézise, enantiomerfelismerő-képessége és
alkalmazása 144
Harmat Veronika: Önszerveződés és hajlékonyság:
szubsztrát szelekciós stratégiák oligopeptidázokban
..... 155
Nyitray László: Egy szimmetrikus homodimer
Ca²⁺-kötő fehérje, az S100A4 aszimmetrikus
kölesönhatásai 159
Kálmán Alajos: Egy kísérlet amely megváltoztatta a
természettudományok fejlődését 167
Bombicz Petra: Kémiai kristallográfia: kristály
építéset 171
Vértessy G. Beáta: A preventív DNS-hibajavítás
szerkezeti biológiája 176

A MÚLT KIEMELKEDŐ MAGYAR KÉMIKUSAI

Kónya József, M. Nagy Noémi: Imre Lajos (1900 -
1974) 178

CONTENTS

Foreword from the editor-in-chief 142
Foreword (Gábor Náray-Szabó) 143

LECTURES

Péter Huszthy: Synthesis, enantiomeric recognition
ability and applications of optically active crown
ethers 144
Veronika Harmat: Self-assembly and flexibility:
substrate selection strategies in oligopeptidases 155
László Nyitray: Asymmetric interactions of the
symmetric homodimer S100A4 Ca²⁺-binding protein
..... 159
Alajos Kálmán: An experiment which changed the
evolution of natural sciences 167
Petra Bombicz: Chemical crystallography: crystal
architecture 171
Beáta Vértessy G.: Structural Biology of Preventive
DNA repair 176

**EMINENT HUNGARIAN CHEMISTS IN THE
PAST**

József Kónya, Noémi M. Nagy: Imre Lajos (1900 -
1974) 178

Tisztelt Előfizetők és Olvasók!

Elkészült a *Magyar Kémiai Folyóirat* 120. kötete és ezzel a 2004-ben elindított új folyamnak tucatnyi kötete látott napvilágot. A tíz éve megszűnéssel fenyegető viharfelhők feloszlottak a lap fölül, és joggal remélhetjük, hogy továbbra is fennmarad a kémiai tudományok eme több, mint százéves múltú egyetlen hazai magyar nyelvű szakfolyóirata.

A szerkesztőség céljai változatlanul a magas tudományos színvonal őrzése, a magyar korszerű kémiai szaknyelv ápolása és megismertetése a szakmai utánpótlás, és hangsúlyozottan, a tudományt magyar nyelven művelő határainkon kívül élő magyar kémikusok számára, akik más nyelven tanulták a kémiát és olvassák a szakirodalmat, más nyelvet használnak mindennapi szakmai tevékenységükben.

Továbbra is folytattuk a megújult lapban elindított sorozatainkat. Az akadémiai székhelyű sorában Huszthy Péter levelező tag, a Folyóirat szerkesztőjének előadása került sorra a 120. kötet negyedik számában. Megemlékeztünk negyedszázada fiatalon elhunyt kiváló kollegánkról, Ruff Imre professzorról, a fizikai-kémia, s ezen belül a statisztikus mechanika kiemelkedő szaktekintélyéről, aki a számítógépes szimulációk elméleti kémiabeli alkalmazásának egyik hazai úttörője volt. E sorozatunk másik, a 2014/4 számban napvilágot látott tagja a rádiókémia magyar „nagyemlékének”, nemzetközi tekintélyű professzorának, Imre Lajos életútjának legfontosabb momentumait összefoglaló írás. A legjelentősebb hazai kutatóműhelyek eredményeit bemutató sorozatunkban a Szegedi Tudományegyetemen a kémiai intézetekben és a kémiai doktori iskolában az utóbbi években folytatott kutatásokról nyerhet áttekintést az olvasó a 2014/2-3 füzetben. A kettős szám vendégszerkesztője Wölfling János professzor, akinek előkészítő munkájáért itt is szeretnénk köszönetet mondani. A Magyar Tudományos Akadémia tavaszi közgyűléséhez csatlakozó és a Kémiai Tudományok Osztálya szervezte előadóülés programjának négy kristallográfiai tárgyú előadása a 2014/4 számban olvasható.

Hagyományosan köszönetünket fejezzük ki a közlésre beküldött kéziratokat elbíráló valamennyi kollegánknak önzetlen és felelősségteljes munkájukért, felsorolva a 120. évfolyamban közre adott publikációk lektorait:

Bátori Sándor, Borbély János, Bölskei Hedvig, Faigl Ferenc, Fekete Jenő, Felinger Attila, Fogassy Elemér, Gáspár Attila, Hajós György, Hazai László, Hegedűs László, Hórvölgyi Zoltán, Hudecz Ferenc, Iván Béla, Jóvér Béla, Kállai Mihály, Kollár László, Lázár Károly, Lőw Miklós, Marosi György, Mező Gábor, Nagy Noémi, Náray-Szabó Gábor, Noszticzius Zoltán, Orbán Miklós, Patonay Tamás, Schay Zoltán, Simonyi Miklós, Skodáné Földes Rita, Sólyom Sándor, Sóvágó Imre, Szepes László, Torkos Kornél, Tóth János, Túri László, Wölfling János, Záray Gyula, Zrínyi Miklós.

Köszönöm a szerkesztőség nevében a Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Tudományok Osztálya anyagi támogatását, a közlemények szerzőinek és a lap előfizetőinek a *Magyar Kémiai Folyóirat* iránti bizalmukat és elkötelezettségüket. Köszönetem illeti munkatársaimat Huszthy Péter szerkesztőt és Nagy Tibor Zsigmond technikai szerkesztőt, valamint a Szerkesztőbizottság minden tagját, akiknek szakszerű és a Folyóirat iránti elkötelezettséggel végzett munkája biztosította a lapszámok jól előkészített, színvonalas tartalmú és formátumú, időben való megjelenését.

Sohár Pál
főszerkesztő

A krisztallográfia nemzetközi éve

A huszadik század elején a kémia majdnem teljes mértékben tapasztalati tudomány volt. Mengyelejev periódusos rendszere, a molekula és a kémiai kötés fogalma adott ugyan támpontot a rendkívül szerteágazó ismeretek rendezéséhez, de egy kísérlet tervezése inkább ösztönösen, mint tudatosan történt. Jelentősen változott a helyzet, amikor a kristályokon elhajló röntgensugár által egy fényérzékeny lemezen kirajzolt mintázat matematikai elemzésével meg lehetett ismerni a vizsgált rendszerek térszerkezetét. Először az egyszerű, kisebb-nagyobb gömbökből összeálló ionkristályok, majd kemény munka és a számítástechnika fejlődésének eredményeképpen a szerves molekulák térszerkezete is megismerhetővé vált. Ez tette lehetővé a molekulák valóságához közelebb álló modelljeinek megszerkesztését, a kémia alapjául szolgáló kvantummechanikai egyenletek megoldását, a folyamatok mélyebb megértését és tervezését. A biológia világában térbeli molekulamodellek nélkül nem lehet mélyre ásni, a térbeli szempontok vizsgálata a kémia meghatározó jelentőségű részévé vált. Ma a krisztallográfia aligha túlbecsülhető jelentőségű szerepet játszik a molekulák térszerkezetének felderítésében a szilárd anyagokban fennálló rend vizsgálatában. Művelői – kezdetben fizikusok, később kémikusok, ma már egyre több biológus is – a század folyamán sorra oldottak meg korábban megközelíthetetlennek ítélt problémákat. Ezt mutatja a Nobel-díjak sora, melyeket krisztallográfiai kutatások eredményeiért ítéltek oda. Nem meglepő tehát, hogy a Nemzetközi Krisztallográfiai Unió 2014-et a krisztallográfia nemzetközi évének nyilvánította. Ennek keretében a tagországok, így Magyarország is különböző rendezvényeket szenteltek a szakterületnek, melyeken felmérték a jelenlegi állapotot, a lehetőségeket és a kihívásokat. Hazánk nem áll rosszul a módszer alkalmazásában, mely nálunk viszonylag korán meghonosodott. A fejlődés a szilikátásványok szerkezetének meghatározásával kezdődött, a szerves kémiai alkalmazások után betört a hazai szerves és gyógyszerkémiaiba is, ahol mára szinte rutinná vált. A röntgen-diffrakciós szerkezet-meghatározás fontos része lett a biokémiai kutatásoknak, a fizikusok pedig több új vizsgálati és számítási módszert dolgoztak ki. A témának szentelt ankéton a téma jeles hazai művelői foglalták össze az elmúlt évek eredményeit. A fizikához közelebb álló vizsgálatokról szóló beszámolókat a *Fizikai Szemlében* olvashatjuk, míg az alábbi összeállításban két cikk a kis molekulákkal foglalkozik, további három témája pedig a fehérjék térszerkezetének vizsgálata. Íme, a magyar kémiai krisztallográfia egy lenyomata!

Náray-Szabó Gábor

Optikailag aktív koronaéterek szintézise, enantiomerfelismerő-képessége és alkalmazása

HUSZTHY Péter*

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék,
Budapest 1111, Szent Gellért tér 4.

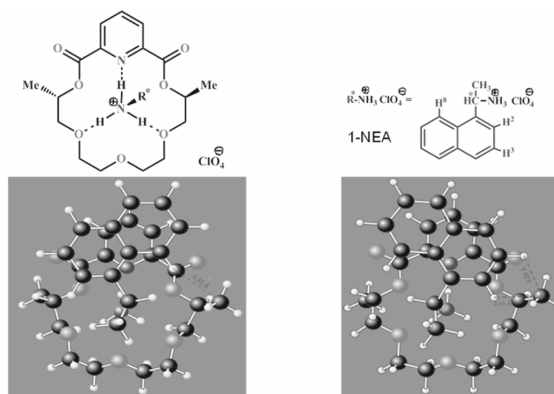
Az enantiomerfelismerő-képesség vagy rövidebben az enantiomerfelismerés a molekuláris felismerés egy különös esetének tekinthető, mely alatt azt értjük, amikor egy királis gazdamolekula egy királis vendégmolekula két enantiomerjével szemben eltérő komplexképzést mutat. Ideális esetben a királis gazdamolekula csak a vendégmolekula egyik enantiomerjével képez komplexet, de az esetek legnagyobb részében mindkét - egyébként egymással diasztereomer viszonyban álló - komplex képződik, melyek képződési vagy elbomlási sebességében, illetve stabilitásában lehet eltérés. Ezeket a gazda-vendégmolekula komplexeket nem kovalens kötések, hanem a sztereoelektronos szempontból komplementer csoportok közötti, több ponton ható másodlagos vagy gyenge intermolekuláris kötőerők tartják össze. Ilyen másodlagos kötőerők lehet a hidrogénkötés, a π -elektronrendszerek közötti vonzás az ún. π - π kölcsönhatás, az elektrosztatikus vonzás, az ion-dipól, a dipól-dipól kapcsolat, vagy a van der Waals-féle erők. Minél több ponton, minél több másodlagos vonzó kötőerő lép fel, annál stabilabb a komplex, a komplexképzés enantiomerszelektivitását illetően azonban, a taszító kölcsönhatásoknak is döntő szerepük lehet, ahogy ezt a későbbiekben példákkal is alátámasztom.

Az enantiomerfelismerés egy gyakran előforduló és létfontosságú jelenség a természetben. Működésére példaként említeném az egyféle konfigurációjú aminosavak és cukrok beépülését, illetve lebomlását a metabolizmus során. Néhány évtizeddel ezelőtt a tudósok még azt hitték, hogy az enantiomerfelismerés kizárólag az élő szervezetekben lévő bonyolult biomolekulák sajátja. Az utóbbi évtizedek kutatási eredményei azonban egyértelműen igazolták, hogy az enantiomerfelismerés kiváltható viszonylag egyszerű királis szintetikus gazdamolekulákkal is, mint amilyenek például az optikailag aktív koronaéterek. Az ilyen egyszerű királis szintetikus gazdamolekulákkal végzett enantiomerfelismerés tanulmányozása nem csak azért érdekes és fontos, mert ez által jobban megismerhetjük és megérthetjük ezt az élő szervezetben működő létfontosságú, ám bonyolult jelenséget, hanem azért is, mert ezen kutatások eredményeként új, hatékony, széles körben alkalmazható enantiomerszelektív szenzor- és szelektormolekulák fejleszthetők ki.

Bradshawnak és munkatársainak 1984-ben sikerült az 1. ábrán feltüntetett (*S,S*)-dimetilpiridino-diészter-koronaéter (DMPIO) és 1-(1-naftil)-etilammónium-perklorát (1-NEA) mindkét [(*S*), illetve (*R*)] enantiomerjével képzett diasztereomer komplexét kristályos formában előállítani és szerkezetüket röntgen-diffrakcióval megvizsgálni.¹

Az amerikai kutatók kimutatták, hogy az ellentétes konfigurációjú gazdamolekula-vendégmolekula [(*S,S*)-

* A közlemény Huszthy Péter Az MTA levelező tagja 2013. szeptember 17-én tartott akadémiai székfoglaló előadásának szerkesztett változata



(*S,S*)-koronaéter (DMPIO) – (*R*)-1-NEA komplex (S,S)-koronaéter (DMPIO) – (*S*)-1-NEA komplex

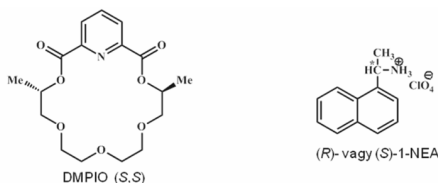
1. Ábra. Az (*S,S*)-dimetilpiridino-diészter-koronaéter (DMPIO) - (*R*)- vagy (*S*)-1-(1-naftil)etilammónium-perkloráttal (1-NEA) alkotott komplexek.

koronaéter (DMPIO) – (*R*)-1-NEA] alkotta ún. heterokirális komplex a stabilabb, mint a homokirális [(*S,S*)-koronaéter (DMPIO) – (*S*)-1-NEA] társa, mert előbbiben, az egyébként mindkét komplexben fellépő két vonzó kölcsönhatás mellett, kisebb mértékű taszító kölcsönhatás ébred, mint az utóbbiban. A két vonzó kölcsönhatás egyrészt a gazdamolekula (DMPIO) nitrogénatomja és két alternáló éteroxigénatomja, valamint a vendégmolekula (1-NEA) három ammónium protonja közötti hárompontos hidrogénkötés, másrészt a gazdamolekula (DMPIO) piridingyűrűje és a vendégmolekula (1-NEA) naftalinyűrűje közötti π - π kölcsönhatás. Ami valójában az enantiomerszelektivitást okozza, az a két diasztereomer komplexben fellépő taszító kölcsönhatások különbsége. Míg a stabilabb heterokirális komplexben csupán egy hidrogén, a vendégmolekula 8-as helyzetű naftalin hidrogénje kerül viszonylag közel a gazdamolekula kiralitáscentrumán lévő metilcsoporthoz, ez a távolság 3,33 Å, addig a kevésbé stabil homokirális komplexben nemcsak, hogy két hidrogén (a naftalinyűrű 2-es és 3-as helyzetű hidrogénje) kerül közel a gazdamolekula kiralitáscentrumán lévő metilcsoporthoz, hanem ez a távolság jóval kisebb: 3,11 Å és 3,29 Å, nagyobb mértékű taszító kölcsönhatást okozva, mely jelentős mértékben csökkenti az utóbbi komplex stabilitását (1. ábra).¹

Itt jegyzem meg, hogy ez a stabilitási sorrend, vagyis, hogy a heterokirális komplex stabilabb, mint homokirális társa, oldatban,^{2,6} sőt gázfázisban⁷ is megmarad, és igen általánosan megfigyelhető jelenség hasonló szerkezetű gazda- és vendégmolekulák esetén.^{2-6,8}

Az (*S,S*)-dimetilpiridino-diészter-koronaéter (DMPIO) 1-NEA enantiomerjével különböző oldószerekben és

oldószerkegyekben képzett komplexei stabilitási állandóinak logaritmusait ($\log K$ értékek) a 2. ábrán tüntettem fel.



Oldószer	MeOH	MeOH-CHCl ₃ 7:3	MeOH-CHCl ₃ 1:1	MeOH-CHCl ₃ 3:7	MeOH-CHCl ₃ 1:9	Me ₂ CO	MeCN
$\log K$ (heterokirális)	2,46	2,75	2,96	3,18	3,41	3,40	4,27
$\log K$ (homokirális)	2,06	2,29	2,43	2,70	2,98	2,98	3,80
$\Delta \log K$	0,40	0,46	0,53	0,48	0,43	0,42	0,47

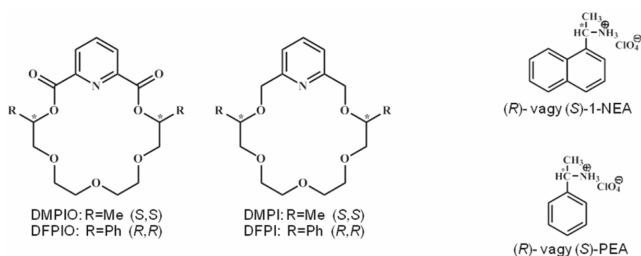
$$\Delta \log K = \log K (R,R,S) - \log K (R,R,R) \text{ vagy } \log K (S,S,R) - \log K (S,S,S)$$

2. Ábra. Az (S,S)-dimetilpiridino-diészter koronaéter (DMPIO) és az 1-(1-naftil)etilammónium-perklorát (1-NEA) enantiomerjeivel alkotott komplexek stabilitási állandóinak logaritmusai ($\log K$) különböző oldószerkegyekben.

Látható, hogy a kloroform-metanol elegyek esetén, az oldószer polaritásának csökkenésével növekednek az egyes $\log K$ értékek, az enantiomerszelektivitást híven tükröző $\Delta \log K$ értékek viszont egy maximumon haladnak keresztül, és ezt a maximumot az 1:1 aránynál érik el. A $\Delta \log K$ értéket úgy kapjuk, hogy a stabilabb (heterokirális) komplex stabilitási állandójának logaritmusából kivonjuk a kevésbé stabil (homokirális) komplex stabilitási állandójának logaritmusát.^{9,10} Összehasonlításuképpen ezeket az értékeket tiszta metanolban, acetonban és acetonitrilben is feltüntettem.⁶

A 3. ábrán a kiralitáscentrumokon metil-, illetve fenilcsoportot tartalmazó észter-típusú (DMPIO, DFPIO) és csak éteroxigénnel rendelkező (DMPI, DFPI) piridino-18-korona-6-éterek 1-NEA, illetve PEA (1-feniletilamin-hidrogénperklorát) enantiomerekkel szemben, metanolban mutatott enantiomerszelektivitását ($\Delta \log K$ értékeket) tüntettem fel.

A 3. ábrán lévő táblázatból látható, hogy mindkét primer ammóniumsó (1-NEA, PEA) esetén az észter-típusú koronaéterek nagyobb enantiomer-szelektivitást mutatnak.^{5,6}



Ligandum	Só	$\Delta \log K$	Só	$\Delta \log K$
DMPI	1-NEA	0,24	PEA	0,13
DMPIO	1-NEA	0,40	PEA	0,22
DFPI	1-NEA	0,18	PEA	0,14
DFPIO	1-NEA	0,85	PEA	0,56

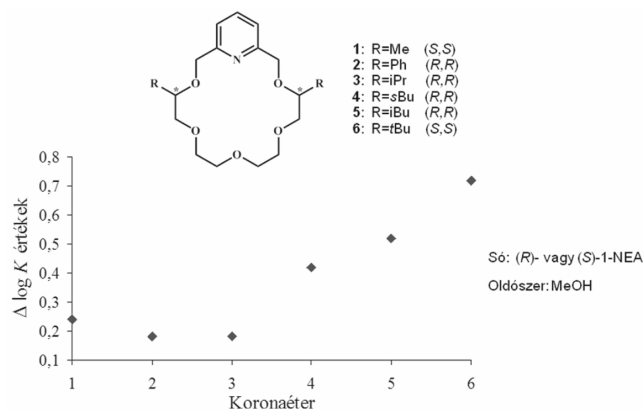
Oldószer: MeOH
Hőmérséklet: 25 °C

3. Ábra. A $\Delta \log K$ értékek függése a koronaéter és a primer ammóniumsó szerkezetétől.

A nagyobb enantiomerszelektivitást az észter-típusú koronaéterek kiterjedtebb π -elektronrendszerének, valamint merevebb konformációjának tulajdonítjuk. A kiterjedtebb π -elektronrendszernek az enantiomerszelektivitást növelő hatását úgy magyarázhatjuk, hogy a kiterjedtebb π -elektronrendszer erősebb π - π kölcsönhatást hoz létre, így a gazda- és vendégmolekula közelebb kerülnek egymáshoz, ami a szterikus különbségből adódó taszítóerőket megneveli. A merevebb konformációnak az enantiomerszelektivitást növelő hatását pedig úgy magyarázzuk, hogy a vendégmolekula egyik enantiomerjének befogadására „előrendezett” gazdamolekula, a vendégmolekula másik enantiomerjének befogadására is képes konformációját, merev konformáció esetén, csak nagy energiabefektetés árán tudja hozzáigazítani, és ez a befektetett energia nagymértékben csökkenti a komplex stabilitását.^{5,6}

Jóllehet az észter-típusú koronaéterek nagyobb enantiomerszelektivitást mutatnak, de ezek könnyen reagálnak nukleofilekkel, mint például a vízzel, az alkoholokkal, az aminokkal stb., ami határt szab ezek alkalmazásának. Mivel mi ezeket a koronaétereket megfelelő oldallánccal ellátva alkalmazni szeretnénk volna, nevezetesen királis állófázisok szelektormolekuláiként, ezért mi a továbbiakban a nukleofileknek ellenálló, a makrogyűrűben csak éteroxigént tartalmazó, megfelelő makrociklusok előállítására koncentráltuk erőnket.

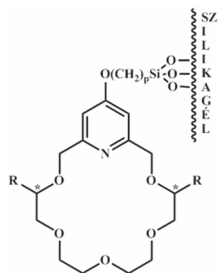
A 4. ábrán a nukleofileknek ellenálló, a makrogyűrűben csak éteroxigént tartalmazó piridino-18-korona-6-éterek 1-NEA enantiomerekkel metanolban képzett komplexek $\Delta \log K$ értékeit tüntettem fel a kiralitáscentrumokon lévő különböző tégigényű csoportok függvényében.



4. Ábra. A $\Delta \log K$ értékek függése a kiralitáscentrumokon lévő szubsztituensektől.

A 4. ábrából látható, hogy a kiralitáscentrumokon lévő szubsztituensek tégigényének növekedésével nő az enantiomerszelektivitás. A túl nagy tégigényű csoport viszont az egyes komplexek stabilitását olyan mértékben csökkentheti, ami szintén határt szabhat azok szelektormolekulaként való alkalmazásának. Ezért mi első közelítésben a legkönnyebben előállítható, a kiralitáscentrumokon metil-, illetve fenilcsoportot, valamint a legnagyobb enantiomerszelektivitást mutató, de legnehezebben előállítható, *tert*-butilcsoportot tartalmazó, megfelelő koronaéter származékokat szintetizáltunk, és ezeket rögzítettük kovalens kötésekkel a laboratóriumban

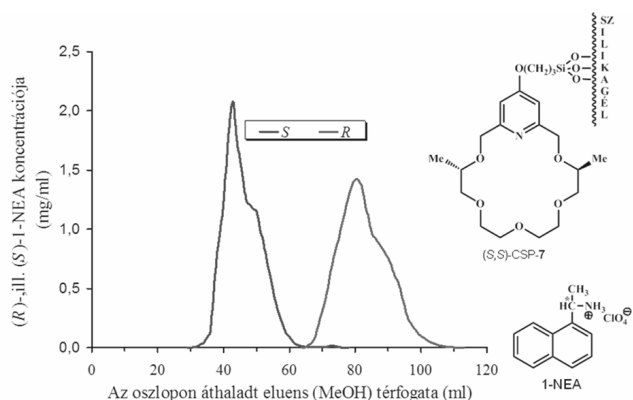
általánosan használt közönséges szilikagélhez, így az (S,S) -CSP-7– (R,R) -CSP-9 királis állófázisokhoz jutottunk (5. ábra).¹¹⁻¹³



(S,S) -CSP-7; R=Me; p=3
 (R,R) -CSP-8; R=Ph; p=11
 (R,R) -CSP-9; R=tBu; p=3

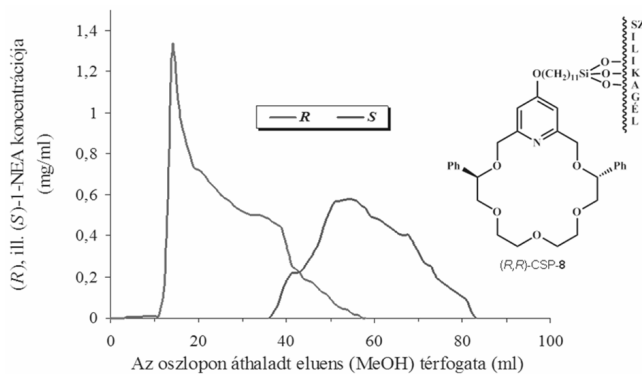
5. Ábra. Közönséges szilikagél hordozós királis állófázisok.

A kiralitáscentrumokon metils csoporttal rendelkező enantiomertiszta piridino-18-korona-6-éter szelektormolekulát tartalmazó (S,S) -CSP-7 királis állófázis igen nagy hatékonysággal választja el a racém 1-NEA enantiomerjeit metanol eluent alkalmazva (6. ábra).¹²



6. Ábra. Racém 1-NEA rezolválása közönséges szilikagélhez kötött (S,S) -dimetilpiridino-18-korona-6-éter típusú szelektormolekula alkalmazásával.

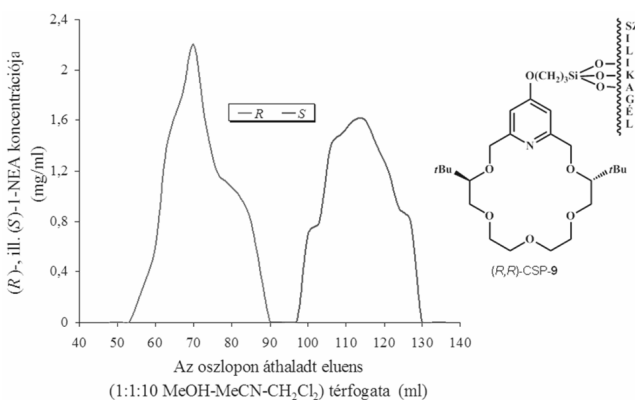
A kromatogramból azt is láthatjuk, hogy a királis szelektormolekula konfigurációjával azonos konfigurációjú, vagyis az azzal kevésbé stabil homokirális komplexet alkotó enantiomer [(*S*)-NEA] távozik először a kromatográfias oszlopról (6. ábra).



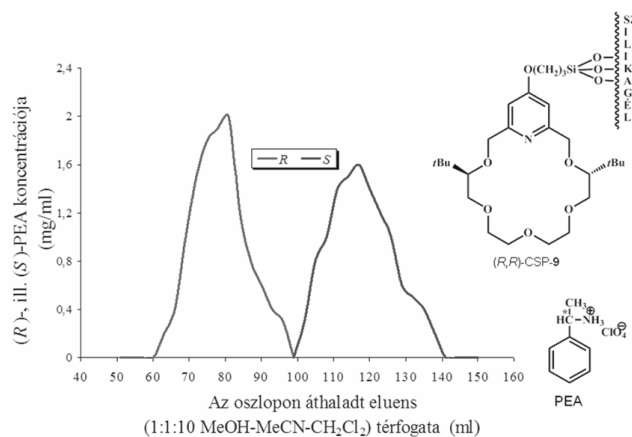
7. Ábra. Racém 1-NEA rezolválása közönséges szilikagélhez kötött (R,R) -difenilpiridino-18-korona-6-éter típusú szelektormolekula alkalmazásával.

A 7. ábrán a kiralitáscentrumokon fenilcsoporttal rendelkező enantiomertiszta piridino-18-korona-6-éter szelektormolekulát tartalmazó (R,R) -CSP-8 királis állófázis enantiomerelválasztó-képességét láthatjuk. Itt a rezolválás hatékonysága kisebb, mint az (S,S) -CSP-7 esetén, és jól tükröződik az oldatban az alapvegyületek esetén megfigyelt $\Delta \log K$ értékekben megmutató eltérés (0,24, illetve 0,18, ld. 3. ábra). Itt is láthatjuk azonban, hogy a királis szelektormolekula konfigurációjával azonos konfigurációjú, vagyis az azzal kevésbé stabil homokirális komplexet alkotó (R) -NEA enantiomer távozik először a kromatográfias oszlopról.¹²

A következő négy ábra (8-11. ábra) segítségével a kiralitáscentrumokon *tert*-butilcsoportot hordozó enantiomertiszta piridino-18-korona-6-éter szelektormolekulát tartalmazó (R,R) -CSP-9 királis állófázis enantiomerelválasztó-képességét mutatom be.

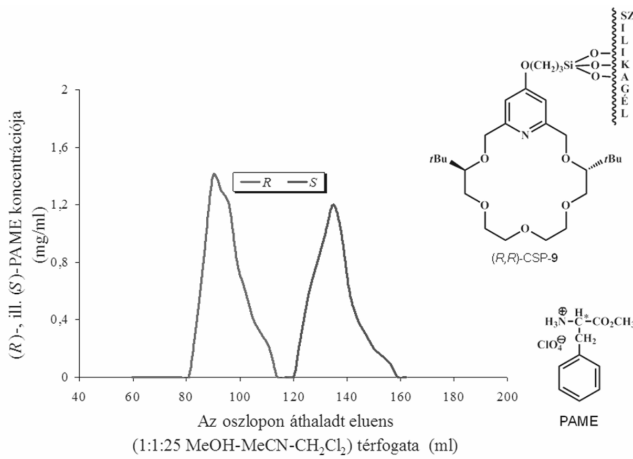


8. Ábra. Racém 1-NEA rezolválása közönséges szilikagélhez kötött (R,R) -di-*tert*-butilpiridino-18-korona-6-éter típusú szelektormolekula alkalmazásával.

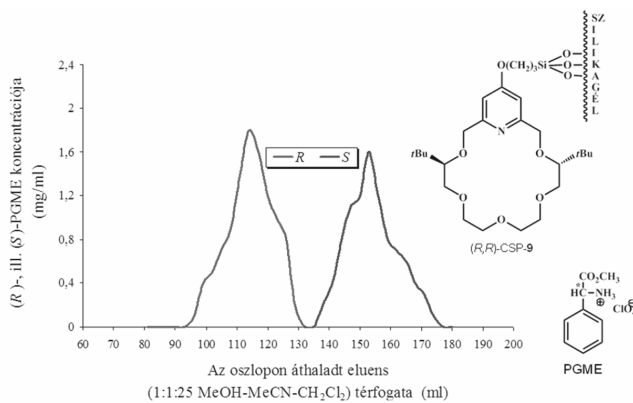


9. Ábra. Racém PEA rezolválása közönséges szilikagélhez kötött (R,R) -di-*tert*-butilpiridino-18-korona-6-éter típusú szelektormolekula alkalmazásával.

A várakozásnak megfelelően ez a királis állófázis kitűnő hatékonysággal választja el a racém 1-NEA-t (8. ábra), a racém PEA-t (9. ábra), a racém fenilalanin-metilészter hidrogénperklorát sóját (PAME, 10. ábra) és a racém fenilglicin-metilészter hidrogénperklorát sóját (PGME, 11. ábra).

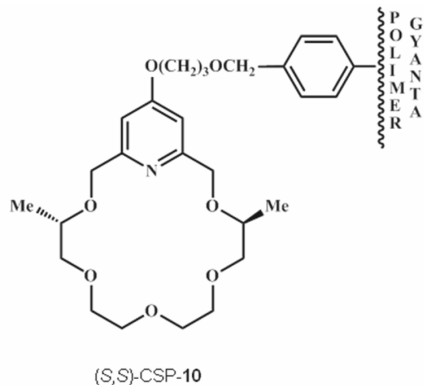


10. Ábra. Racém PAME rezolválása közönséges szilikagélhez kötött (R,R)-di-*tert*-butilpiridino-18-korona-6-éter típusú szelektormolekula alkalmazásával.



11. Ábra. Racém PGME rezolválása közönséges szilikagélhez kötött (R,R)-di-*tert*-butilpiridino-18-korona-6-éter típusú szelektormolekula alkalmazásával

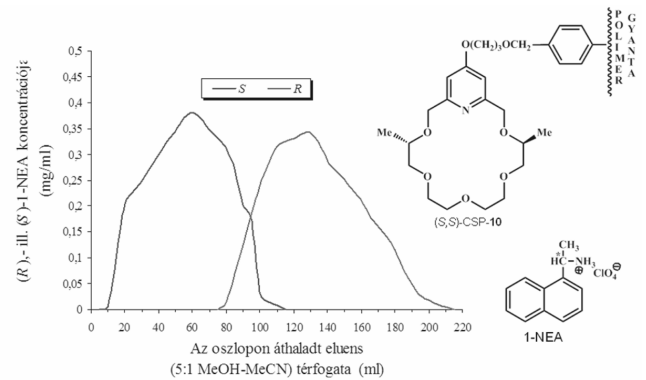
A szelektormolekula kiralitáscentrumán elhelyezkedő nagy térigényű *tert*-butilcsoportok miatt az ammóniumsókkal alkotott komplexek kisebb stabilitásúak voltak, mint az (S,S)-CSP-7 és (R,R)-CSP-8 királis állófázisok esetében, ezért kevésbé poláros eluentet kellett alkalmazni az alapvonal elválasztás érdekében. A várakozásnak megfelelően az (R,R)-CSP-9 királis állófázis esetében is mindig a királis szelektormolekula konfigurációjával azonos konfigurációjú enantiomer távozott először az oszlopról.^{13,14}



12. Ábra. Merrifield-féle polimer gyanta hordozós királis állófázis.

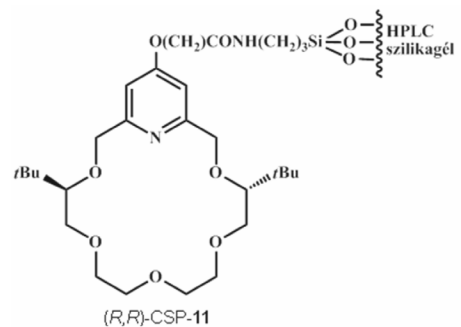
A kromatográfiai hatékonyság növelése érdekében, valamint ilyen irányú alkalmazást remélve, a legkönnyebben előállítható, vagyis a kiralitáscentrumokon metilcsoportokat hordozó, olyan piridino-18-korona-6-éter származékot is előállítottunk, amely Merrifield-féle polimer gyantához köthető. Ezen királis állófázis [(S,S)-CSP-10] a 12. ábrán látható.

Sajnos az (S,S)-CSP-10 polimer gyanta hordozós királis állófázis az 1-NEA (13. ábra) és más racém protonált primer aminok rezolválása esetén is sokkal kevésbé bizonyult hatékonynak, mint a szilikagél hordozós (S,S)-CSP-7 királis állófázis,¹⁵ ezért mi a továbbiakban csak a szilikagél hordozós királis állófázisok előállítására és vizsgálatára koncentráltunk.



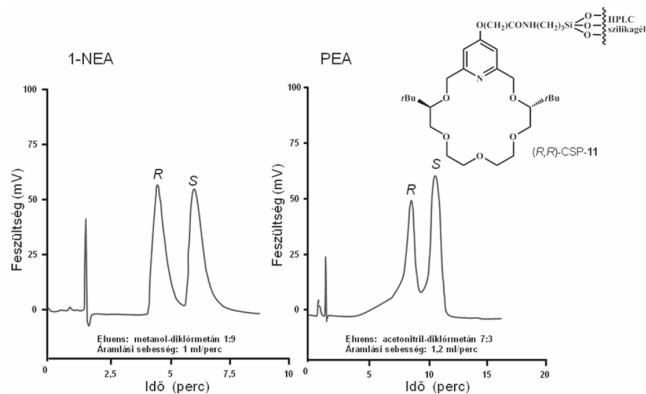
13. Ábra. Racém 1-NEA rezolválása polimer gyantához kötött (S,S)-dimetilpiridino-18-korona-6-éter típusú szelektormolekula alkalmazásával.

A kromatográfiai enantiomerelválasztás hatékonyságának növelése érdekében HPLC minőségű szilikagél hordozóhoz kötöttük hozzá kovalens kötésekkel a megfelelő optikailag aktív koronaéter származékokat, hogy az így kapott királis állófázisokat nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával (HPLC) tudjuk vizsgálni. A 14. ábrán a kiralitáscentrumokon *tert*-butilcsoportokat hordozó piridino-18-korona-6-éter szelektormolekula alapú királis állófázis [(R,R)-CSP-11] látható.



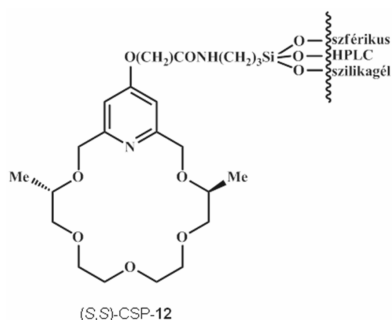
14. Ábra. HPLC minőségű szilikagél hordozós (R,R)-di-*tert*-butilpiridino-18-korona-6-éter szelektormolekulát tartalmazó királis állófázis.

Az (R,R)-CSP-11 királis állófázis ugyan megfelelő hatékonysággal választotta el a racém 1-NEA és PEA enantiomereket HPLC körülmények között (15. ábra),¹⁶ de racém aminosavak és aminosavszármazékok rezolválása hosszas próbálkozásunk ellenére sem járt sikerrel ezen királis állófázis segítségével.

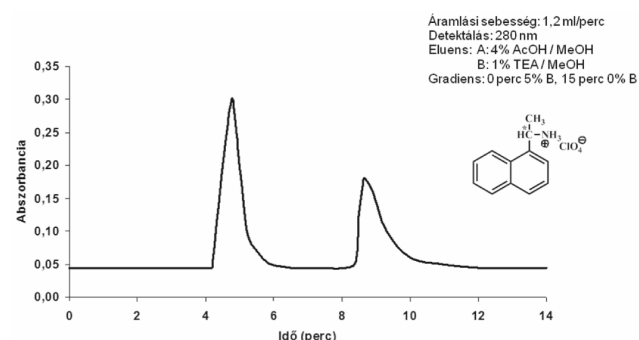


15. Ábra. Racém 1-NEA és PEA enantiomerjeinek elválasztása HPLC minőségű szilikagélhez kötött *(R,R)*-di-*tert*-butilpiridino-18-korona-6-éter típusú szelektormolekula alkalmazásával.

Mivel azt feltételeztük, hogy ezt a sikertelenséget a kiralitáscentrumokon lévő nagy térkitöltésű *tert*-butilsoportok szterikus feszültsége miatt jelentősen csökkent szelektor–analit komplex stabilitása okozza, visszatértünk a kiralitáscentrumokon kisebb térigényű metilsoportot tartalmazó megfelelő piridino-18-korona-6-éter szelektormolekula előállításához és alkalmazásához, de a szilárd hordozó minőségét tovább javítva, szférikus HPLC minőségű szilikagélt használva. Ezen királis állófázis [(*S,S*)-CSP-12] a 16. ábrán látható.



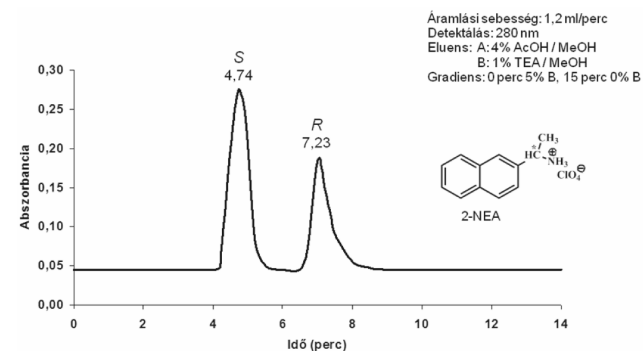
16. Ábra. Szférikus HPLC minőségű szilikagél hordozós (*S,S*)-dimetilpiridino-18-korona-6-éter szelektormolekulát tartalmazó királis állófázis.



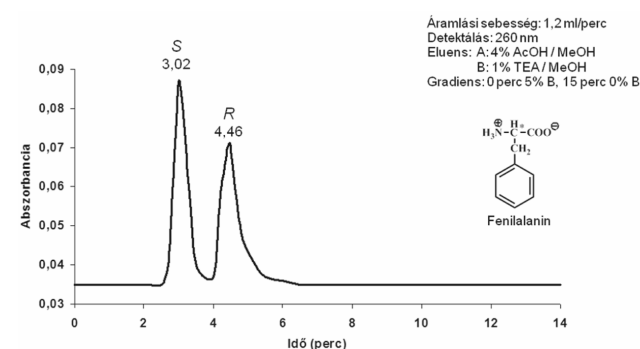
17. Ábra. Racém 1-NEA rezolválása HPLC minőségű szférikus szilikagél hordozós (*S,S*)-dimetilpiridino-18-korona-6-éter szelektormolekulát tartalmazó királis állófázison.

Az (*S,S*)-CSP-12 királis állófázison kitűnő hatékonysággal rezolváltuk a racém 1-NEA-t (17. ábra), a racém 1-(2-naftil)-etilammónium-perklorátot (2-NEA-t) (18. ábra), valamint aromás gyűrűt tartalmazó racém aminosavakat, úgymint a

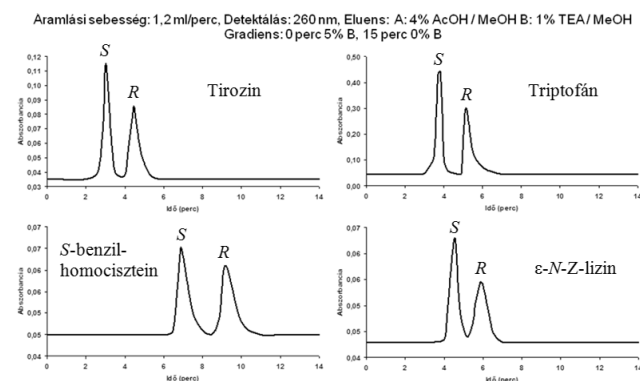
racém fenilalanint (19. ábra), a racém tirozint és a racém triptofánt (20. ábra).



18. Ábra. Racém 2-NEA rezolválása HPLC minőségű szférikus szilikagél hordozós (*S,S*)-dimetilpiridino-18-korona-6-éter szelektormolekulát tartalmazó királis állófázison.



19. Ábra. Racém fenilalanin rezolválása HPLC minőségű szférikus szilikagél hordozós (*S,S*)-dimetilpiridino-18-korona-6-éter szelektormolekulát tartalmazó királis állófázison.



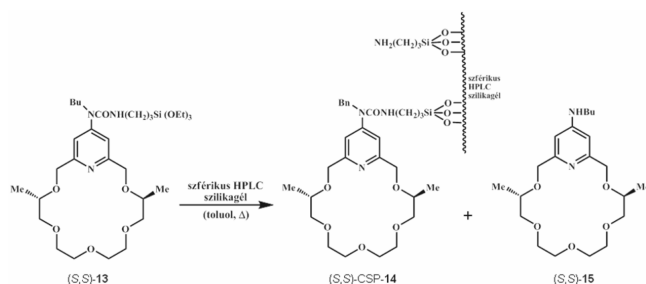
20. Ábra. További racém aminosavak és aminosavszármazékok rezolválása HPLC minőségű szférikus szilikagél hordozós (*S,S*)-dimetilpiridino-18-korona-6-éter szelektormolekulát tartalmazó királis állófázison.

Aminek különösen örültünk az az volt, hogy nemcsak az aromás gyűrűt tartalmazó aminosavak enantiomerjeit választottuk szét jó hatásfokkal ezen a királis állófázison, hanem olyan alifás aminosavakéit is, amelyek aromás egységgel rendelkező védőcsoportot tartalmaztak.

A 20. ábra alsó részén a racém *S*-benzil-homocisztein és az ϵ -*N*-benziloxikarbonil-lizin (ϵ -*N*-Z-lizin) oszlopkromatográfiás rezolválásának kromatogramja látható.¹⁷ A kromatogramokat tartalmazó 17-20. ábrákon a legfontosabb kromatográfiás paramétereket is feltüntettem.

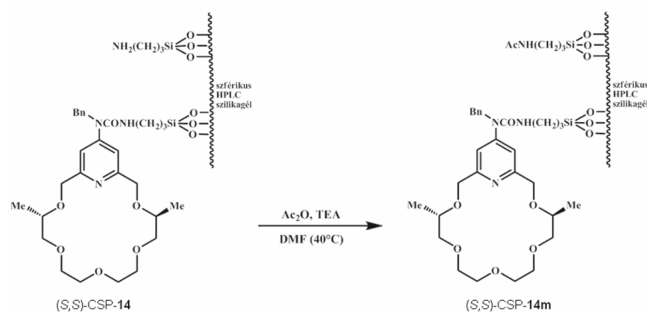
Az előzőekből láthatjuk, hogy az enantiomertiszta piridino-18-korona-6-éter típusú szelektormolekulákat a piridingyűrű 4-es helyzetében oxigénatomot tartalmazó kapcsolókar segítségével rögzítettük a szilárd hordozóhoz. A kromatográfias enantiomerelválasztás hatékonyságának növelése, valamint az elválasztandó analitik körének kiterjesztése érdekében elhatároztuk, hogy a piridingyűrű 4-es helyzetében nitrogénatomot tartalmazó kapcsolókar segítségével is rögzítjük az enantiomertiszta piridino-18-korona-6-éter típusú szelektormolekulákat a szilárd hordozóhoz.

A többlépcsős szintézissel előállított, megfelelő szelektormolekula [(*S,S*)-**13**] szférikus HPLC szilikagélhez történő rögzítése a 21. ábrán bemutatott módon történt (21. ábra).¹⁹



21. Ábra. Szilikagélhez történő rögzítés.

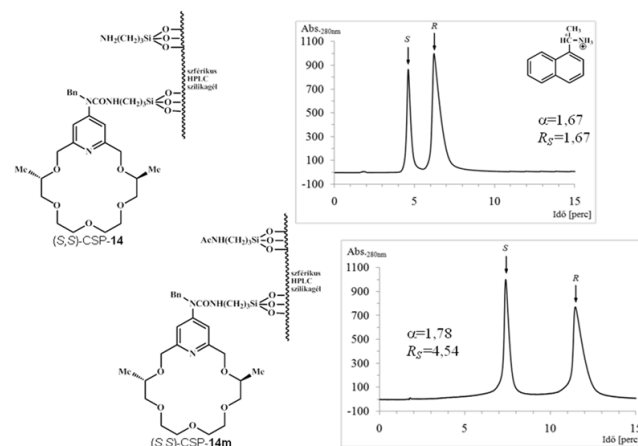
Sajnos ebben az esetben az (*S,S*)-CSP-**14** királis állófázis szelektormolekulájának egy része a jelenlévő víznyomok miatt a karbamid egységnél hidrolizált, így a szilikagél felületén kovalens kötésekkel rögzített 3-aminopropil-csoportok jelentek meg, amelyek befolyásolhatják a kromatográfias enantiomerelválasztás hatékonyságát. A hidrolízis tényét az állófázisról kapott elemanalízis mellett az (*S,S*)-CSP-**14** királis állófázisról távozó (*S,S*)-**15** butilamino-csoportot tartalmazó koronaéter kimutatása is alátámasztotta. A primer aminocsoportok maszkírozása céljából az (*S,S*)-CSP-**14** királis állófázissal végzett enantiomerelválasztás-vizsgálatok elvégzése után (ld. később), az azzal töltött oszlopon ecetsavanhidrid és trietil-amin elegyét pumpáltuk keresztül dimetilformamidban oldva, így a módosított (*S,S*)-CSP-**14m** királis állófázisoz jutottunk (22. ábra).¹⁹



22. Ábra. A királis állófázis módosítása.

A 23. ábrán a módosítatlan [(*S,S*)-CSP-**14**] és a módosított [(*S,S*)-CSP-**14m**] királis állófázisok kromatográfias enantiomerelválasztó-képességét hasonlítottam össze az 1-NEA enantiomerjeit alkalmazva. A 23. ábrán feltüntetett

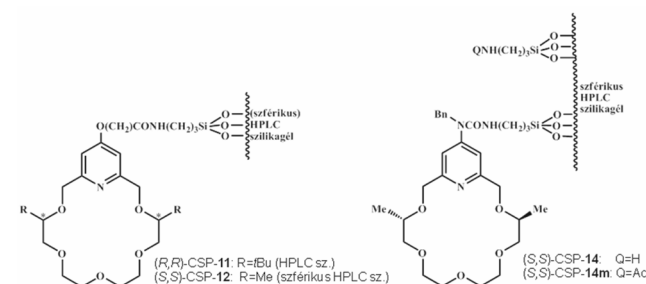
α szelektivitási tényező és R_S felbontás számszerűen is megadja a királis állófázisok enantiomerelválasztó-képességének mértékét.



23. Ábra. Az 1-NEA enantiomerjeinek elválasztása.

A 23. ábrából láthatjuk, hogy a módosított (*S,S*)-CSP-**14m** királis állófázis nagyobb hatékonysággal választja el az 1-NEA enantiomereket, mint a módosítatlan (*S,S*)-CSP-**14** társa.¹⁹ Itt jegyzem meg, hogy ebben az esetben nem racém 1-NEA-t, hanem az (*R*)-1-NEA-(*S*)-1-NEA 2:1 arányú elegyét alkalmaztuk, azért, hogy az elválasztott enantiomerek sorrendjét könnyedén meg tudjuk állapítani.

A 24. ábrán az eddig bemutatott királis állófázisok közül a leghatékonyabbak α , illetve R_S értékeit tüntettem fel az 1-NEA enantiomerjeit alkalmazva.¹⁹ A 24. ábrán szereplő táblázatból látható, hogy a módosított (*S,S*)-CSP-**14m** királis állófázis választotta szét legjobban az 1-NEA enantiomerjeit.^{16,17,19}

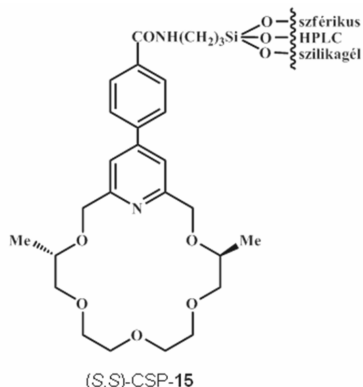


Királis állófázis	α	R_S
(<i>R,R</i>)-CSP- 11	1,52	1,54
(<i>S,S</i>)-CSP- 12	2,12	2,73
(<i>S,S</i>)-CSP- 14	1,67	1,67
(<i>S,S</i>)-CSP- 14m	1,78	4,54

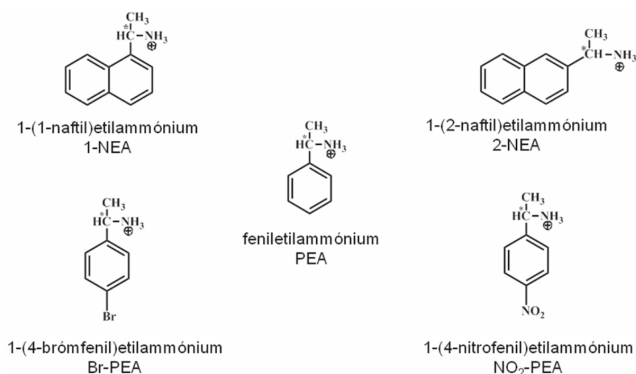
24. Ábra. Az 1-NEA enantiomerjeinek elválasztása az addig legjobbnak tartott négy királis állófázison.

A továbbiakban olyan enantiomertiszta piridino-18-korona-6-éter szelektormolekulát tartalmazó királis állófázis előállítását terveztük, és valósítottuk meg, ahol a piridingyűrű 4-es helyzetben szén-szén kötésű kapcsolókar segítségével rögzítettük a makrociklust a szilárd hordozóhoz. Ezt a királis állófázist a 25. ábrán láthatjuk.

Kiterjesztettük a királis protonált primer amin analitikus körét az 1-NEA-n, a 2-NEA-n és a PEA-n kívül az utóbbi 4-brom-, illetve 4-nitro-származékára (Br-PEA, illetve NO₂-PEA) is.

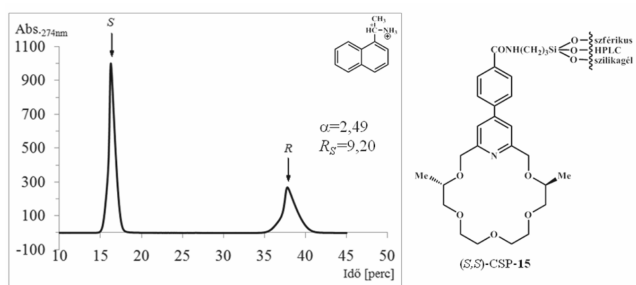


25. Ábra. A piridingyűrű 4-es helyzetében C-C kötésű kapcsolókart tartalmazó szelektormolekula alapú királis állófázis.



26. Ábra. A vizsgált vendégmolekulák szerkezete.

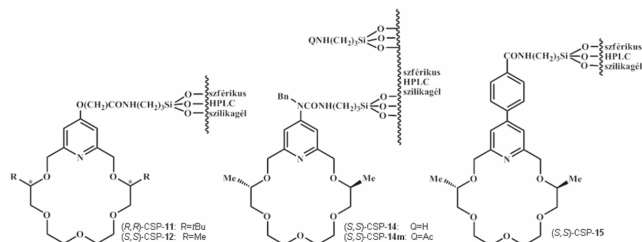
A 27. ábrán az 1-NEA enantiomereknek az (S,S)-CSP-15 királis állófázison végzett enantiomerelválasztása látható, mely egyértelműen mutatja, hogy ennek kimagasló a hatékonysága.



27. Ábra. Az 1-NEA enantiomerjeinek elválasztása a piridingyűrű 4-es helyzetében C-C kapcsolókkal rendelkező szelektormolekula alapú királis állófázison.

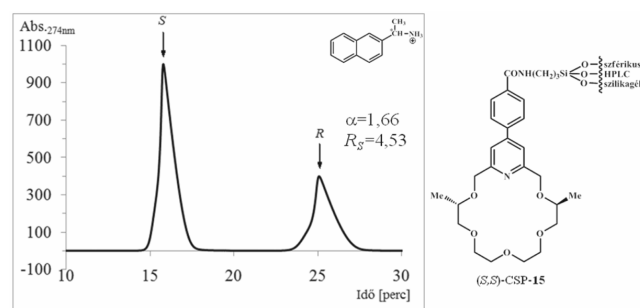
A 28. ábrán az eddig bemutatott leghatékonyabb királis állófázisok α , illetve R_S értékeit tüntettem fel. Látható, hogy az 1-NEA enantiomerek elválasztásában a (S,S)-CSP-15 királis állófázis kiemelkedik társai közül.^{16,17,19}

A 29. és 30. ábrán bemutatottak alapján ugyancsak megállapítható, hogy a 2-NEA enantiomerek elválasztása is sokkal nagyobb hatékonysággal végezhető el ezen a királis állófázison, mint a többiekben.

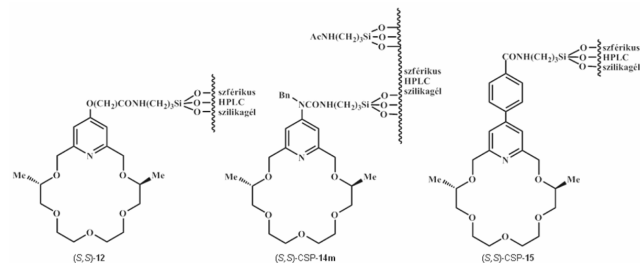


Királis állófázis	α	R_S
(R,R)-CSP-11	1,52	1,54
(S,S)-CSP-12	2,12	2,73
(S,S)-CSP-14	1,67	1,67
(S,S)-CSP-14m	1,78	4,54
(S,S)-CSP-15	2,49	9,20

28. Ábra. Az 1-NEA enantiomerjeinek elválasztása az addig legjobbnak tartott öt királis állófázison.



29. Ábra. A 2-NEA enantiomerjeinek elválasztása a piridingyűrű 4-es helyzetében C-C kapcsolókkal rendelkező szelektormolekula alapú királis állófázison.

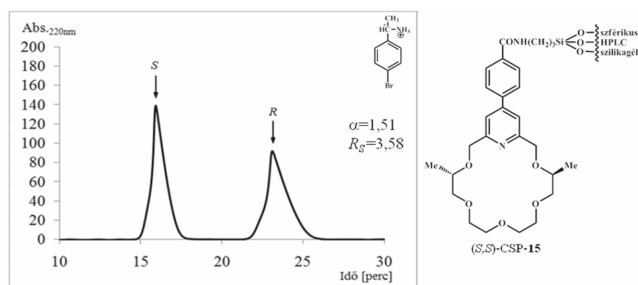


Királis állófázis	α	R_S
(S,S)-CSP-12	1,66	1,97
(S,S)-CSP-14m	1,42	1,60
(S,S)-CSP-15	1,66	4,53

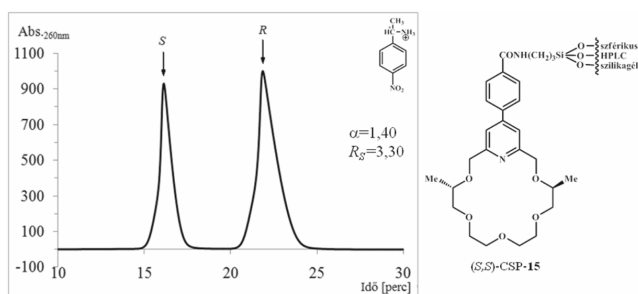
30. Ábra. A 2-NEA enantiomerjeinek elválasztása az addig legjobbnak tartott három királis állófázison.

A 31. ábrán a Br-PEA, a 32. ábrán pedig a 4-NO₂-PEA enantiomerjeinek az elválasztását láthatjuk. Mindkét esetben kiemelkedő hatékonyságot tapasztaltunk.¹⁹

Korábban már említettem (ld. 3. ábra és a hozzá fűzött magyarázat), hogy a kiterjedtebb π -elektronrendszer és a merevebb konformáció, különösen a kiralitáscentrumok közelében, jelentősen növeli az enantiomer-megkülönböztetés mértékét (az enantiomerszelektivitást) az észter típusú piridino-18-korona-6-éterek esetében, a csak éteroxigént tartalmazó analóg makrociklusokkal összevetve. Ott arra is rámutattam, hogy jóllehet az észter típusú koronaéterek nagyobb enantiomerszelektivitást mutatnak, de ezek könnyen reagálnak nukleofilekkel, ami határt szab azok alkalmazásának.

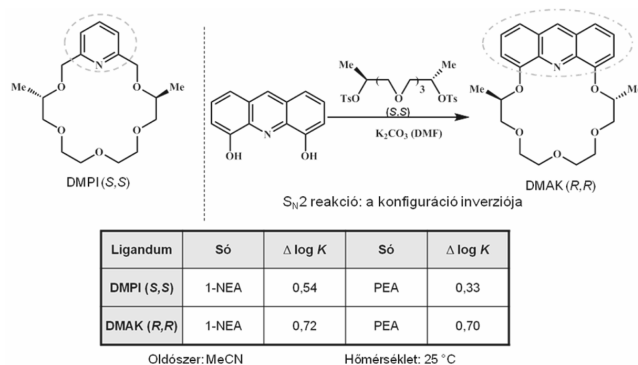


31. Ábra. A Br-PEA enantiomerjeinek elválasztása a piridingyűrű 4-es helyzetében C-C kapcsolókkal rendelkező szelektormolekula alapú királis állófázison.



32. Ábra. A NO₂-PEA enantiomerjeinek elválasztása a piridingyűrű 4-es helyzetében C-C kapcsolókkal rendelkező szelektormolekula alapú királis állófázison

A fentieket szem előtt tartva elhatároztuk, hogy a kiterjedtebb π -elektronrendszerrel bíró és a merev konformációt biztosító, de a nukleofileknek ellenálló akridino-18-korona-6-éter típusú megfelelő szelektormolekulákat is előállítjuk és szférikus HPLC minőségű szilikagélhez kötjük kovalens kötésekkel, majd az így kapott királis állófázisokon protonált primer aminok enantiomerjeit elválasztjuk.^{20,21} Mielőtt azonban a szilárd hordozóhoz történő rögzítésre alkalmas oldallánccal ellátott akridino-18-korona-6-éter szelektormolekulákat előállítottuk volna, a legegyszerűbb alapvegyületet, a kiralitáscentrumokon metilcsoportot tartalmazó enantiomertiszta akridino-18-korona-6-étert [DMAK (*R,R*)] szintetizáltuk és megvizsgáltuk ennek enantiomerszelektív komplexképzését az 1-NEA és PEA enantiomerjeivel (33. ábra).^{22,23}

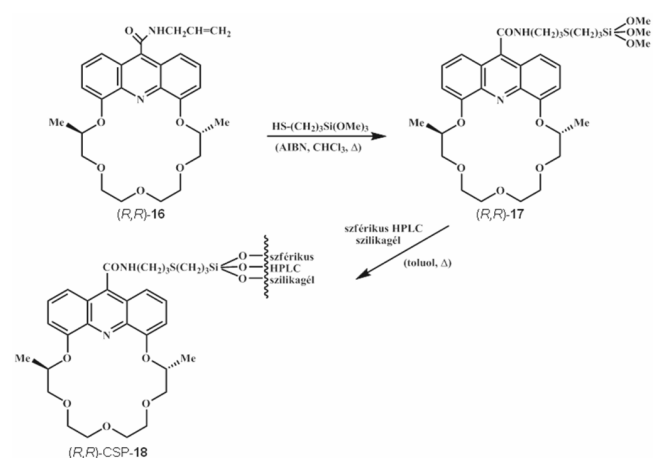


33. Ábra. Az (*S,S*)-dimetilpiridino-18-korona-6-éter [(DMPI (*S,S*))] és az (*R,R*)-dimetilakridino-18-korona-6-éter [(DMAK (*R,R*))] enantiomerszelektivitásának összehasonlítása.

Ebben az esetben a kiralitáscentrumoknak az akridingyűrűhöz viszonyított lehető legközelebbi elhelyezkedése, valamint

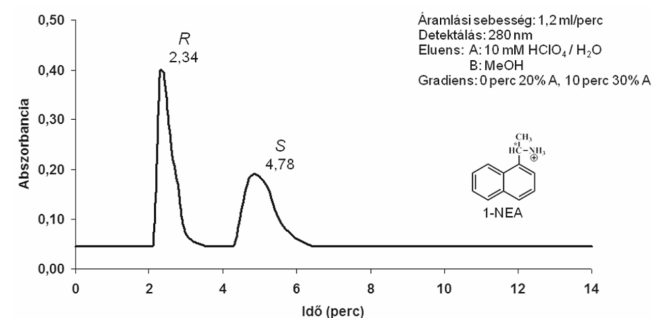
a gazdamolekula enantiomertisztaságának biztosítása érdekében a makrociklizációs reakciót tiszta S_N2 körülmények között kellett kivitelezni, hogy az (*S,S*)-konfigurációjú enantiomertiszta ditozilátból, ugyan ellenkező konfigurációjú, de szintén enantiomertiszta koronaéter képződjön. A tiszta S_N2 reakcióval járó teljes inverziót úgy biztosítottuk, hogy a makrociklizációt 50°C-on, dimetilformamidban, gyenge bázis (kálium-karbonát) jelenlétében végeztük (33. ábra).²² A 33. ábrán bemutatott táblázatból az is látható, hogy a várakozásunknak megfelelően a DMAK (*R,R*) gazdamolekula mind az 1-NEA, mind a PEA enantiomerjével szemben nagyobb enantiomerszelektivitást mutatott,^{23,24} mint a piridin egységet tartalmazó társa.⁶

A pozitív előrejelzés és a korábbi tapasztalatok birtokában először olyan akridino-18-korona-6-éter származékot szintetizáltunk [(*R,R*)-16], mely terminális kettőskötésű oldallánccal rendelkezett (34. ábra).²⁰



34. Ábra. Az (*R,R*)-dimetilakridino-18-korona-6-éter szelektormolekulát tartalmazó, HPLC minőségű szférikus szilikagél hordozós királis állófázis előállítása.

Az (*R,R*)-16 azo-izobutironitril (AIBN) gyökinitiator jelenlétében a kereskedelemről könnyen beszerezhető 3-merkaptopropiltrimetoxi-szilánallal végzett gyökös addíciós reakciójával az (*R,R*)-17 trimetoxiszililvégcsoporttal rendelkező koronaéter származékhoz jutottunk, melyet szférikus HPLC minőségű szilikagéllal toluolban forralva alakítottuk ki a kovalens kapcsolatot a királis szelektormolekula és a hordozó között. Az így kapott (*R,R*)-CSP-18 királis állófázis sajnos nem váltotta be teljesen a reményeinket, ugyanis a jól bevált testanyagunk 1-NEA esetében is a jó enantiomerelválasztáshoz nagyon poláris



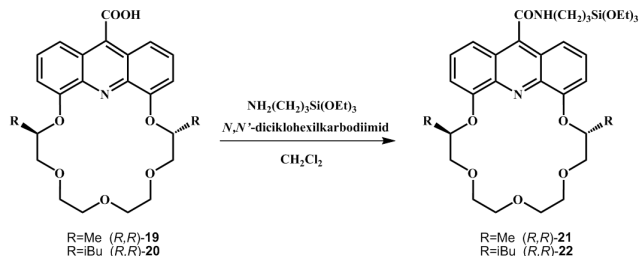
35. Ábra. Racém 1-NEA rezolválása az (*R,R*)-dimetilakridino-18-korona-6-éter szelektormolekulát tartalmazó (*R,R*)-CSP-18 királis állófázison.

eluenst, metanolos-vizes perklórsavat kellett alkalmazni (35. ábra).²⁰

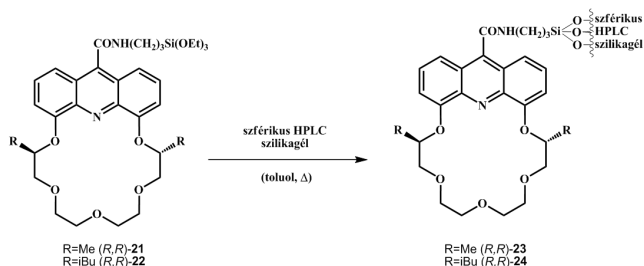
Ezt annak tulajdonítottuk, hogy az akridingyűrű igen kiterjedt π -elektronrendszere igen erős π - π kölcsönhatást hoz létre, amely nagyon stabil komplexet eredményez a vendégmolekulával, így annak megbontásához nagyon poláris eluens szükséges. Ezért elhatároztuk, hogy a komplexstabilitás csökkentése és az enantiomerszelektivitás növelése érdekében az akridino-18-korona-6-éter szelektormolekula kiralitáscentrumaira a viszonylag nagy térigényű izobutilsoportot teszünk.²¹

A szintetikus munka könnyítése és egyszerűsítése érdekében a kapcsolókart is szerettük volna megváltoztatni, így a jobb összehasonlíthatóság miatt az izobutilsoport mellett, a kiralitáscentrumokon metilsoportot tartalmazó analóg szelektormolekulát is terveztünk előállítani. Az új kapcsolókart tartalmazó, a kiralitáscentrumokon metil-, illetve izobutilsoportot hordozó szelektormolekula alapú királis állófázis előállításának utolsó lépéseit a 36. és a 37. ábra segítségével mutatom be.²¹

Az akridingyűrű 9-es helyzetében karboxilcsoporttal rendelkező (R,R) -**19** és (R,R) -**20** koronaéter származékokat először a kereskedelemből beszerezhető 3-aminopropiltriotoszilánál az (R,R) -**21** és az (R,R) -**22** triotoszilil-végcsoporttal rendelkező szelektormolekulává alakítottuk (36. ábra), majd utóbbiakat szférikus HPLC minőségű szilikagéllal toluolban forralva kaptuk az (R,R) -CSP-**23** és (R,R) -CSP-**24** királis állófázisokat (37. ábra).



36. Ábra. Triotoszilil-végcsoporttal rendelkező dialkil-szubsztituált akridino-18-korona-6-éter típusú királis szelektormolekulák előállítása.

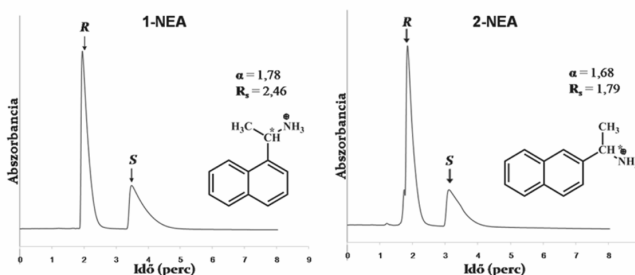


37. Ábra. Eltérő kapcsolóelemet tartalmazó dialkil-szubsztituált enantiomertiszta akridino-18-korona-6-éter szelektormolekula alapú királis állófázisok.

A 38. és 39. ábrán az (R,R) -dimetilakridino-18-korona-6-éter szelektormolekula alapú (R,R) -CSP-**23** királis állófázis enantiomerelválasztó-képességének a hatékonyságát mutatom be. Az ábrák felső részében a legfontosabb kromatográfias paramétereket is feltüntettem. Az 38. ábrán az 1-NEA és 2-NEA enantiomerjeinek az elválasztása látható.

Eluens: metanol : acetonitril = 1 : 4 + 0,2 % hangyasav + 0,1 % TEA
Áramlási sebesség: 1 ml/perc
Hőmérséklet: 25 °C

(R) - és (S) -enantiomerek aránya = 2:1

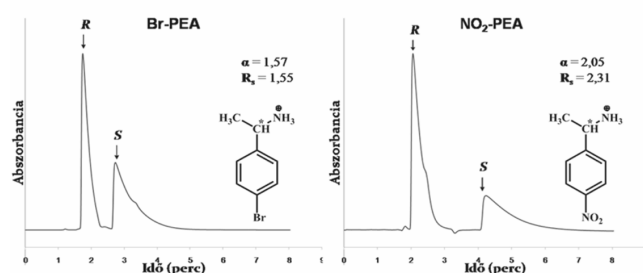


38. Ábra. Az 1-NEA és a 2-NEA enantiomerjeinek elválasztása az (R,R) -dimetilakridino-18-korona-6-éter szelektormolekula alapú királis állófázison.

Mindkét protonált királis primer amin esetében kitűnő hatékonysággal valósul meg az enantiomerelválasztás. Az (R,R) -CSP-**23** királis állófázis ugyancsak kitűnő hatékonysággal választja el a Br-PEA és NO₂-PEA enantiomerjeit (39. ábra).²¹

Eluens: metanol : acetonitril = 1 : 4 + 0,2 % hangyasav + 0,1 % TEA
Áramlási sebesség: 1 ml/perc
Hőmérséklet: 25 °C

(R) - és (S) -enantiomerek aránya = 2:1

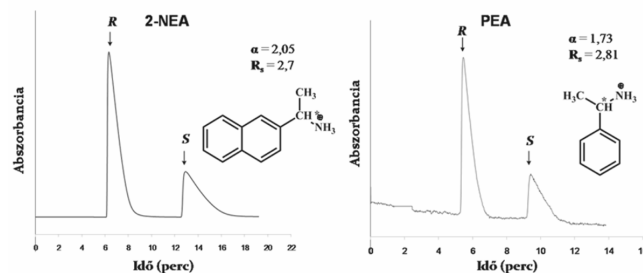


39. Ábra. A Br-PEA és a NO₂-PEA enantiomerjeinek elválasztása az (R,R) -dimetilakridino-18-korona-6-éter szelektormolekula alapú királis állófázison.

A 40. és 41. ábrán az (R,R) -diizobutilakridino-18-korona-6-éter szelektormolekula alapú (R,R) -CSP-**24** királis állófázis enantiomerelválasztó-képességének a hatékonyságát mutatom be. Az 40. ábrán a 2-NEA és a PEA enantiomerjeinek az elválasztását láthatjuk.

Eluens: metanol : acetonitril = 7 : 3 + 0,2 % hangyasav + 0,1 % TEA
Áramlási sebesség: 1 ml/perc
Hőmérséklet: 25 °C

(R) - és (S) -enantiomerek aránya = 2:1



40. Ábra. A 2-NEA és a PEA enantiomerjeinek elválasztása az (R,R) -diizobutilakridino-18-korona-6-éter szelektormolekula alapú királis állófázison.

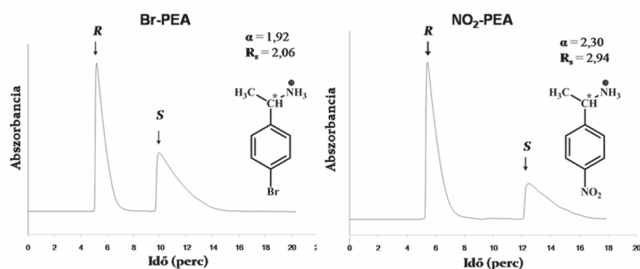
A 2-NEA estében látható, hogy az (*R,R*)-CSP-24 királis állófázis várakozásunknak megfelelően jobb enantiomerelválasztást mutat, mint az (*R,R*)-CSP-23. Ugyancsak jobb enantiomerelválasztást lehet elérni az előbbi királis állófázissal, mint az utóbbival a Br-PEA és a NO₂-PEA enantiomerjei esetében is (41. ábra).²¹

Eluens: metanol : acetonitril = 7 : 3 + 0,2 % hangyasav + 0,1 % TEA

Áramlási sebesség: 1 ml/perc

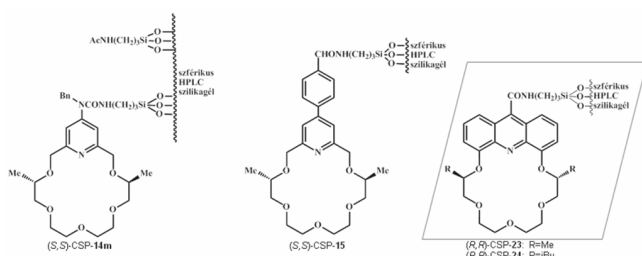
Hőmérséklet: 25 °C

(*R*)- és (*S*)-enantiomerek aránya = 2:1



41. Ábra. A Br-PEA és a NO₂-PEA enantiomerjeinek elválasztása az (*R,R*)-diizobutilakridino-18-korona-6-éter szelektormolekula alapú királis állófázison.

Az 42. ábrán hasonlítom össze az eddig leghatékonyabbnak bizonyult piridin-, illetve akridin egységet tartalmazó királis állófázisokat. A táblázatban összefoglalt adatok alapján láthatjuk, hogy a 2-NEA, a Br-PEA és a NO₂-PEA esetében jobb enantiomerelválasztást értünk el az akridin egységet, mint a piridin egységet tartalmazó enantiomertiszta szelektormolekula alapú királis állófázisoknál, különösen igaz ez akkor, ha a kiralitáscentrumokon a nagyobb térigényű izobutilsoportok helyezkednek el.²¹



	(<i>S,S</i>)-CSP-14m	(<i>S,S</i>)-CSP-15	(<i>R,R</i>)-CSP-23	(<i>R,R</i>)-CSP-24
1-NEA	α : 1,78 R_s : 4,54	2,49 9,20	1,78 2,46	-
2-NEA	α : 1,42 R_s : 1,60	1,66 4,53	1,68 1,79	2,05 2,70
Br-PEA	α : 1,46 R_s : 1,00	1,51 3,58	1,57 1,55	1,92 2,06
NO ₂ -PEA	α : 1,35 R_s : 0,95	1,40 3,30	2,05 2,31	2,30 2,94

42. Ábra. Piridin-, illetve akridin egységet tartalmazó királis állófázisok enantiomerelválasztó-képességének összehasonlítása.

Köszönetnyilvánítás

Először szeretnék köszönetet mondani azoknak a professzor uraknak, akik a székfoglalóban bemutatott kutatómunkában ugyan nem vettek részt, de különösen pályám kezdetén tanácsaikkal, ismereteik és tapasztalataik átadásával jelentős mértékben hozzájárultak szakmai és emberi fejlődésemhez. Köszönet illeti ezért Kucsman Árpád, Kapovits István, Ruff Ferenc, Rábai József, Lempert Károly és Simig Gyula professzor urakat. A következőkben szeretném köszönetem

kifejezni azoknak a volt és jelenlegi doktoránsaimnak, akik a székfoglalóban vázolt kutatómunkában szintén nem vettek részt, de eredményeik hozzájárultak ahhoz, hogy most itt állhatok. Köszönettel tartozom Izsóné Gergác Gyöngyinek, Dr. Gerencsér Jánosnak, Dr. Móczár Ildikónak, Dr. Szilágyiné Dr. Kertész Júliának, Dr. Kormos Attilának és Szabó Tamásnak. A jelen székfoglaló előadásomban bemutatott szerves szintetikus kutatómunka elvégzésében nyújtott segítségükért fogadják köszönetemet a következők: J.S. Bradshaw professor, Nógrádi Mihály professor, Dr. Vermes Borbála, Dr. Vándorné Dr. Mezey Gabriella, Dr. Samu Erika, Dr. Horváth György, Dr. Köntös Zoltán, Dr. Tóth Tünde, Dr. Fetter József, Dr. Bertha Ferenc, Dr. Kupai József, Németh Tamás, Sas Balázné, Abonyi Attila és Senkei Ferencné. Itt szeretném külön megköszönni Dr. Tóth Tündének azt, hogy nemcsak a szintetikus munkában, hanem a jelen közlemény ábráinak, illetve szövegének elkészítésében is nagy segítségemre volt. A most bemutatott eredmények elérésében elvülhetetlen érdemeket szereztek azok a kollegák, akik a fizikai-kémiai és analitikai méréseket, a szerkezetmeghatározásokat, a HPLC oszlopok töltését, valamint a kromatográfiás elválasztásokat végezték. Az utóbbiakért szeretnék köszönetet mondani R.M. Izatt, Czugler Mátyás és Kubinyi Miklós professzoroknak, Dr. Szarvas Szilviának, Dr. Szókán Gyulának, Dr. Orosz Györgynek, Dr. Farkas Viktorak, Dr. Luca Prodinak, Dr. Kolonits Pálnak, Dr. Szöllősy Áronnak, Dr. Balogh György Tibornak, Lévai Sándornak, Varga Gábornak, Földi Tamásnak és Ófalvi Katalinnak. Köszönöm szüleim, rokonaim és barátaim biztatását és támogatását. Kiemelem feleségem Huszthyne Iványi Györgyi odaadó támogatását, aki lehetővé tette, hogy sokszor késő este, illetve munkaszüneti napokon is végezzem kutatómunkámat. Köszönöm az OTKA (T 25071, T 038393, K 62654, PD 71910 és K 81127), a Richter Gedeon Nyrt. és EGIS Gyógyszergyár Nyrt., valamint az Új Magyarország Fejlesztési Terv (TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0002) anyagi támogatását.

Hivatkozások

- Davidson, R.B.; Bradshaw, J.S.; Jones, B.A.; Dalley, N.K.; Christensen, J.J; Izatt, R.M.; Morin, F.G.; Grant, D.M. *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 353-357.
- Bradshaw, J.S.; Huszthy P.; McDaniel, C.W.; Zhu, C.-Y.; Dalley, N.K.; Izatt, R.M.; Lifson, S. *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 3129-3137.
- Huszthy P.; Bradshaw, J.S.; Zhu, C.-Y.; Izatt, R.M.; Lifson S. *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 3330-3336.
- Bradshaw, J.S.; Huszthy, P.; McDaniel, C.W.; Oue, M.; Zhu, C.-Y.; Izatt, R.M.; Lifson S. *J. Coordination Chem.*, **1992**, 27, 105-114.
- Izatt, R.M.; Zhu, C.-Y.; Huszthy, P.; Bradshaw J.S. Enantiomeric Recognition in Macrocyclic-Primary Ammonium Cation Systems, in *Crown Compounds: Toward Future Applications*, ed. S.R. Cooper, VCH Press, New York, **1992**, Chapter 12. pp. 207-233.
- Izatt, R.M.; Wang, T.-M.; Hathaway, J.K.; Zhang, X.-X.; Curtis, J.C.; Bradshaw, J.S.; Zhu, C.-Y.; Huszthy, P. *J. Incl. Phenom.*, **1994**, 17, 157-175.
- Chu, I.-H.; Dearden, D.V.; Bradshaw, J.S.; Huszthy, P.; Izatt, R.M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 4318-4320.
- Izatt, R.M.; Zhang, X.-X.; Huszthy, P.; Zhu, C.-Y.; Hathaway, J.K.; Wang, T.-M.; Bradshaw, J.S. *J. Incl. Phenom.*, **1994**, 18, 353-367.

9. Bradshaw, J.S.; Huszthy, P.; Redd, J.T.; Zhang, X.-X.; Wang, T.-M.; Hathaway, J.K.; Young, J.J.; Izatt, R.M. *Pure and Appl. Chem.*, **1995**, 67, 691-695.
10. Redd, J.T.; Bradshaw, J.S.; Huszthy, P.; Izatt, R.M. *J. Incl. Phenom. Mol. Recogn. Chem.*, **1997**, 29, 301-308 (1997).
11. Bradshaw, J.S.; Huszthy, P.; Wang, T.-M.; Zhu, C.-Y.; Nazarenko, A.Y.; Izatt, R.M. *Supramolecular Chem.*, **1993**, 1, 267-275.
12. Huszthy, P.; Bradshaw, J.S.; Bordunov, A.V.; Izatt, R.M. *Acta Chim. Hung.-Models in Chemistry*, **1994**, 131, 445-454.
13. Köntös, Z.; Huszthy, P.; Bradshaw, J.S.; Izatt, R.M. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, 10, 2087-2099.
14. Köntös, Z.; Huszthy, P.; Bradshaw, J.S.; Izatt, R.M. *Enantiomer*, **2000**, 5, 561-566.
15. Horváth, Gy.; Huszthy, P. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, 10, 4573-4583.
16. Horváth, Gy.; Huszthy, P.; Szarvas, Sz.; Szókán, Gy.; Redd, J.T.; Bradshaw, J.S.; Izatt, R.M. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2000**, 39, 3576-3581.
17. Farkas, V.; Tóth, T.; Orosz, Gy.; Huszthy, P.; Hollósi, M. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, 17, 1183-1889.
18. Kupai, J.; Huszthy, P.; Székely, K.; Tóth, T.; Párkányi, L. *Arkivoc (ix)*, **2011**, 77-93.
19. Kupai, J.; Lévai, S.; Antal, K.; Balogh, G.T.; Tóth, T.; Huszthy, P. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2012**, 23, 415-427.
20. Lakatos, Sz.; Fetter, J.; Bertha, F.; Huszthy, P.; Tóth, T.; Farkas, V.; Orosz, Gy.; Hollósi, M. *Tetrahedron*, **2008**, 64, 1012-1022.
21. Németh, T.; Lévai, S.; Kormos, A.; Kupai, J.; Tóth, T.; Balogh, G.T.; Huszthy, P. *Chirality* (folyóirathoz benyújtva).
22. Huszthy, P.; Samu, E.; Vermes, B.; Mezey-Vándor, G.; Nógrádi, M.; Bradshaw, J.S.; Izatt, R.M. *Tetrahedron*, **1999**, 55, 1491-1504.
23. Prodi, L.; Bolletta, F.; Montalti, M.; Zaccheroni, N.; Huszthy, P.; Samu, E.; Vermes, B. *New J. Chem.*, **2000**, 24, 781-785.
24. Kertész, J.; Móczár, I.; Kormos, A.; Baranyai, P.; Kubinyi, M.; Tóth, K.; Huszthy, P. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2011**, 22, 684-689.

Synthesis, enantiomeric recognition ability and applications of optically active crown ethers

Enantiomeric recognition as a special case of molecular recognition involves the discrimination of the enantiomers of a chiral guest molecule by a chiral host molecule by complex formation. In ideal case the chiral host molecule is able to pull out only one enantiomeric form of the guest molecule out of its racemic mixture, but in most of the cases both diastereomeric complexes form in different ratios. The complex formed by the action of enantiomeric recognition is held together by non-covalent or weak intermolecular forces such as hydrogen bonding, π - π interaction or π - π stacking, electrostatic forces, ion-dipole interaction and van der Waals forces. The increasing number and strength of attractive non-covalent intermolecular forces enhance complex stability, but in the case of selectivity the repulsive interactions can also play an important role, as we see examples for that in this paper. Enantiomeric recognition is a frequently occurring phenomenon in Nature. For its action I would like to mention only one example, namely the metabolism of the single enantiomeric forms of amino acids and sugars in biochemical pathways. Scientists believed even a few decades ago that enantiomeric recognition is a unique property of sophisticated biomolecules of living organisms. However, the recent successes in imitating enantiomeric recognition using relatively simple synthetic chiral host molecules have shown that this phenomenon and also biological behaviour can be engineered into the abiotic world as well. The studies of enantiomeric recognition using relatively simple synthetic chiral host molecules such as crown ethers are not only important, because by these we can understand and learn better this very complex phenomenon working in living organisms, but also because the research carried out in this field can lead to the development of new effective enantioselective sensors and selectors with wide applications.

In the following part I intend to summarize the main results achieved by our research group in this field of study, which is described in Hungarian in this paper.

Enantiopure pyridino-18-crown-6 ether type macrocycles were prepared by multistep synthesis starting from relatively cheap and commercially available materials, and the enantiomeric recognition of these host molecules with the enantiomers of protonated chiral organic primary amines as guest molecules were studied. The enantiopure crown ethers showing appreciable enantiomeric recognition were then tailored to obtain suitable derivatives, which were covalently attached to different solid supports such as ordinary silica gel, Merrifield-type polymer resin, HPLC quality silica gel and also spherical HPLC quality silica gel. Some of the chiral stationary phases (CSPs) so obtained separated the enantiomers of protonated chiral organic primary amines, amino acids and their derivatives efficiently.

It is well known that the enantiomers of chiral biogenic amines, amino acids and their derivatives have different biological activities. Therefore, efficient methods for their enantiomeric separation and determination of their enantiomeric compositions are essential especially in pharmaceutical, plant-protecting, food and perfume industries.

Our detailed studies showed that the rigid conformation and the extended π -system of the heterocyclic subunit of the crown ethers can increase the degree of enantiomeric recognition (enantioselectivity) with the above mentioned protonated chiral organic primary amines, amino acids and their derivatives, thus we planned and performed the synthesis of acridino-18-crown-6 ether type macrocycles as well. Selected acridino-18-crown-6 ethers were provided with suitable linkers, and these derivatives were attached covalently to spherical HPLC quality silica gel. Our experiments have shown that these acridino-18-crown ether-based chiral stationary phases separated the enantiomers of the chiral primary amino compounds better than their pyridino-18-crown ether-based counterparts.

Önszerveződés és hajlékonyság: szubsztrát szelekciós stratégiák oligopeptidázokban

HARMAT Veronika ^{a,b,*}

^a Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratórium, Pázmány Péter sétány 1/A, 1117 Budapest, Magyarország

^b MTA-ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoport, Pázmány Péter sétány 1/A, 1117 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

Az ELTE Fehérjekristallográfiai Laboratóriumát 1993-ban alapították Náray-Szabó Gábor és Böcskei Zsolt, ezzel elindították a fehérjekristallográfiai vizsgálatokat Magyarországon. Az egyik első siker a prolil-oligopeptidáz, egy új enzimes család első képviselőjének szerkezetmegoldása Fülöp Vilmosmal, és az enzimes család felfedezőjével, Polgár Lászlóval együttműködésben.¹ A prolil-oligopeptidáz enzimes családba fiziológiás szempontból fontos fehérjék tartoznak (a névadó prolil-oligopeptidáz, a dipeptidil-peptidáz IV, az oligopeptidáz B és az acilaminoacil-peptidáz), amelyek ezért farmakológiai kutatások célpontjai is.^{2,3} Ennek a kutatásnak a folytatása az acilaminoacil-peptidázok (oligopeptidok N-terminális acilezett aminosavat lehasítani képes proteázok) kristallográfiai vizsgálata, ami az egész enzimes családra általánosítható konklúziókra vezetett a szubsztrát szelekció és enzimaktivitás együttes szabályozási mechanizmusát illetően.

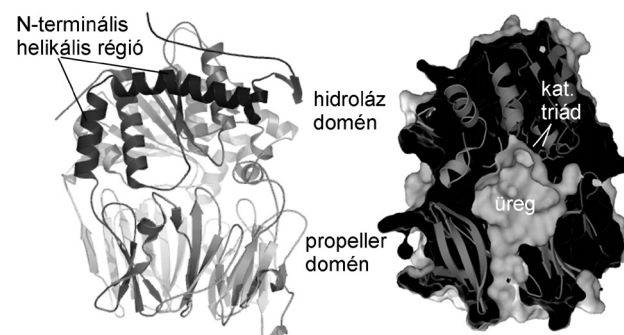
A peptidkötés hidrolízise az élő szervezetben enzimek (proteázok, peptidázok) által katalizált módon megy végbe. Mivel ezek potenciális veszélyt jelentenek a szervezet fő alkotórészeinek lebontása révén, működésük időben és térben korlátozott módon valósul meg. A különböző feladatokra (pl. emésztés, jelátvitel, jelerősítés, pozitív és negatív visszacsatolás, más fehérjék aktivitásának szabályozása, sejtosztódás és -migráció, hibás fehérjék eltávolítása) specializált proteázok szelektivitása és specifitása (milyen típusú fehérjéket, peptideket és azokban milyen aminosav-szekvencia részletet ismer fel és hasít el az enzim) széles skálán mozog. Legtöbbször inaktív formában szintetizálódnak, és ez az előenzim csak a működés helyére való eljuttatás után aktiválódik. Aktivitásukat kofaktorok befolyásolhatják és inhibitorok szabályozzák. Végül lebontásuk is szabályozott módon megy végbe.

2. A prolil-oligopeptidáz család: szerkezet és méretszelekció

A prolil-oligopeptidáz enzimes család tagjai szerin proteázok, a katalitikus apparátust Ser-His-Asp katalitikus triád alkotja, megtalálhatók bennük a klasszikus szerin-proteázokra (kimotripszin és szubtilizin család) jellemző, oxianion kötőhely és a szubsztrát aminosavjait kötő zsebek. A kimotripszin és szubtilizin család tagjaival ellentétben azonban nem előenzim formában szintetizálódnak a szervezetben, hanem rögtön az aktív forma képződik. Csak oligopeptid mérettartományba tartozó szubsztrátokat képesek hasítani, nagyobb, feltekeredett fehérjéket nem.

* Tel.: 1-3722500/6547; fax: 1-3722592; e-mail: veronika@chem.elte.hu

A szubsztrát méret szerinti szelektálásának szerkezeti hátterére az első kristályszerkezet szolgáltatott magyarázatot: két szerkezeti egységből, doménből állnak, amelyek közül a hidroláz domén hordozza a katalitikus apparátust, a β -propeller domén pedig a méretszelekcióért felelős azáltal, hogy a szubsztrátkötő és katalitikus helyet a két domén közötti üregbe rejti (1. Ábra).



1. Ábra. A sertés prolil-oligopeptidáz szerkezete (PDB ⁴ kód: 1qfs). Balra: szalagmodell; jobbra: szalagmodell és az enzim molekuláris felszíne, metszeti kép.

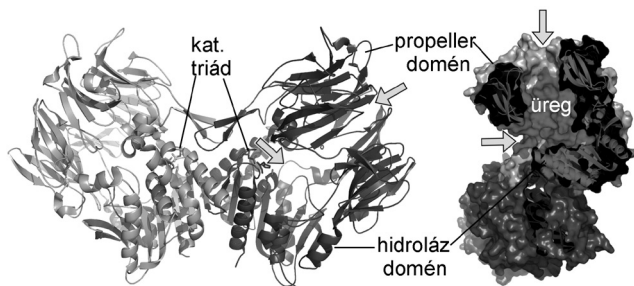
Ebben a szerkezetben az enzim zárt, az üreg belsejébe csak néhány keskeny pórus vezet, ezért nem egyértelmű, hogyan, milyen útvonalon juthat be az üregbe a szubsztrát (és hogyan távoznak a termékek). A propeller domén tengelyében található egy pórus, valamint a két domén között néhány szűk oldalsó nyílás, ezek azonban túlságosan szűkek.

3. A szubsztrát bejutása az aktív helyre

A sertés prolil-oligopeptidáz szerkezetet felhasználva elvégzett molekuladinamikai szimulációk, a molekula mutációkkal (diszulfid-hidak kiépítésével) történő merevítése és enzimkinetikai vizsgálatok arra utaltak, hogy a két domén közötti dinamikának /elmozdulásnak fontos szerepe van a szubsztrát bejutásában. Egy kristályosítási műterméket tartalmazó szerkezetben a két domén szétnyílt, és a kristályban szomszédos molekula egy régiója közéjük ékelődött.⁵⁻¹⁰

Az enzim dinamikus mozgásai helyett egy másik szubsztrát bejuttatási stratégiára lehetett következtetni a különböző dipeptidil-peptidáz IV szerkezetekből.^{11,12,13} Itt két lehetséges állandó bejárat is vezet az aktív helyhez, az egyik a két domén közötti oldalsó nyílás, a másik a propeller domén tengelyében levő csatorna, ami szélesebb, mint a prolil-

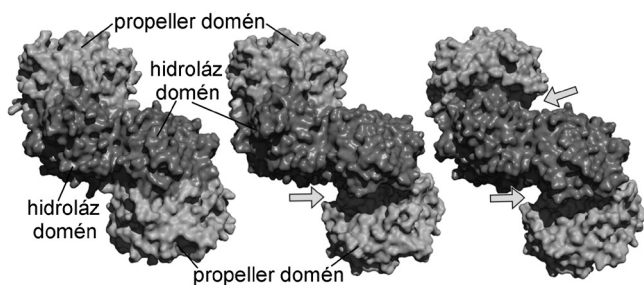
oligopeptidáz esetén (2. Ábra). A két domén egymáshoz képesti helyzetét a dipeptidil-peptidáz IV dimerben a két monomer közötti kölcsönhatások rögzítik.



2. Ábra. A dipeptidil-peptidáz IV szerkezete (dimer; balra: szalagmodell, jobbra: molekuláris felszín ábrázolása metszeti képen; nyilak jelzik a szubsztrát lehetséges bejutási útvonalait az aktív helyhez; PDB kód: 1n1m).

4. Szubsztrátszelekción acilaminoacil-peptidázokban: dinamikus doménmozgás

Az *Aeropyrum pernix*-ből származó dimer acilaminoacil-peptidáz első szerkezete a sertés protil-oligopeptidázhoz hasonlóan csukott konformációjú.¹⁴ Az enzim különböző variánsait kristályosítva sikerült olyan kristályait előállítanunk, amelyekben a dimer egyik vagy mindkét tagja nyitott¹⁵ (3. Ábra).

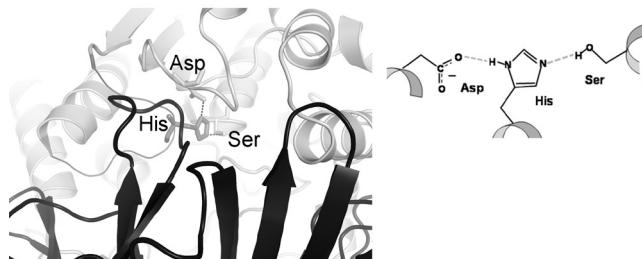


3. Ábra. Az *A. pernix* acilaminoacil-peptidáz dimerjének lehetséges konformációi. (molekuláris felszín; PDB kódok: a két monomer csukott/cukott 2hu5; nyitott/cukott 3o4g; nyitott/nyitott 3o4i).

A nyitott szerkezetek fontos tulajdonsága, hogy bár az aktív hely hozzáférhető lenne nagyobb fehérjék számára is, a katalitikus aminosavak elrendeződése megváltozott, ezért ez a konformációs állapot nem képes a peptid-hidrolízist katalizálni. Az enzim kinyílásakor a két domén közti másodlagos kölcsönhatások egy része megszűnik, több hurokrégió mozgékonyvá válik és elmozdul, köztük a katalitikus hisztidint hordozó hurok is. A szubsztrát-méretszelekción tehát azáltal valósul meg, hogy a szubsztrát hozzáférése az aktív helyhez és a katalitikus lépés az enzim különböző konformációs állapotokban történik meg (4. Ábra).

Mivel a nyitott és csukott állapotok közötti átmenet fehérjekrisztallográfiával közvetlenül nem vizsgálható, csak nagyon óvatos következtetések vonhatók le oldatban létrejövő konformációs átalakulások mechanizmusára. Az *Aeromonas punctata*-ból származó protil-oligopeptidáz vizsgálata során nyitott inaktív és csukott aktív konformációjú szerkezeteit is meghatározták.¹⁶ Azt tapasztalták, hogy

az enzim különböző mértékben lehet nyitott, de inhibitor-kötődés (szubsztrátanalóg kovalensen kötődő inhibitor) hatására az enzim molekulák becsukódtak, a komplexálatlan szerkezetek mind nyitottak, a szubsztrátkötött szerkezetek pedig csukottak. Ezért azt valószínűsítették, hogy az enzim becsukódása a szubsztrátkötés hatására, indukált illeszkedés mechanizmusával történik.



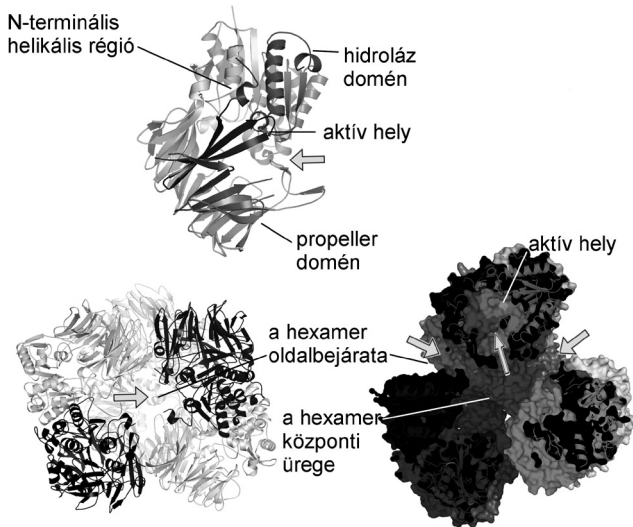
4. Ábra. Szubsztrát szelekción megvalósulása doménmozgás és a katalitikus hely torzulása révén (fekete: propeller domén, szürke: hidroláz domén; vékony vonal: hisztidint tartalmazó hurok). Fent: csukott szerkezet, a katalitikus triád katalitikusan aktív elrendeződésben van. Lent: nyitott szerkezet, a katalitikus hisztidin eltávolodott és rendezetlenné vált.

Az *A. pernix* acilaminoacil-peptidáz esetében a csukott szerkezetek egy része komplexálatlan, másik része ligandumkötött (az enzimreakción terméke vagy átmeneti állapot analóg inhibitor). Vannak olyan kristályszerkezetek, ahol a nyitott és csukott konformációjú molekulák együttesen vannak jelen, tehát hasonló energiájú konformációs állapotokról van szó. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy oldatban a nyitott és csukott forma egyensúlyakor a két forma összemérhető koncentrációban van jelen, és a szubsztrátkötés tolja el ezt az egyensúlyt: a csukott formát stabilizálja¹⁵ (konformációs szelekcións mechanizmus).

5. Szubsztrátszelekción acilaminoacil-peptidázokban: összefüggő üregrendszer

Különböző fajokból származó acilaminoacil-peptidázok különböző multimereket képeznek. Az *A. pernix* acilaminoacil-peptidáz dimer felépítésű, az emlősökben jelenlevő – gyógyászati szempontból is érdekes – tetramer acilaminoacil-peptidáz szerkezet-meghatározására irányuló kísérletek sikertelenek voltak. Meghatároztuk a szerkezetét a *Pyrococcus horikoshii*-ből származó acilaminoacil-peptidáznak,¹⁷ ami hexamer formában létezik. A hexamer merev felépítésű, két kristályformában, eltérő kristálybeli másodlagos kölcsönhatások sem befolyásolták a szerkezetét (a monomerek C_α atomjai pozícióinak átlagos négyzetes eltérése 0,25-0,41 Å). A hexamer dimerek trimerje, ahol a hidroláz és propeller domének helyzetét a szomszéd molekulák közötti kölcsönhatások rögzítik (5. Ábra). A szubsztrát egy csatorna- és üregrendszeren keresztül

közelítheti meg a monomerek aktív helyét: a hexamer három oldalbejárata egy központi üregbe vezet, ahonnan a monomerek dipeptidil-peptidáz IV-hez hasonló, domének közötti oldalbejáraton keresztül jut be a monomer üregébe. Ez az üregrendszer biztosítja, hogy csak letekeredett, és oligopeptid mérettartományba eső peptidek jutnak el az aktív helyre. Az enzimek ebben a 'félig nyitott' konformációjában, bár a propeller doménnel képezett, a katalitikus hisztidint hordozó hurok konformációját stabilizáló, másodlagos kölcsönhatások nagy része hiányzik, dipeptidil-peptidáz IV és a *P. horikoshii* acilaminoacil-peptidáz esetén is, az aktív hely nincs eltorzulva – ez a félig nyitott konformációs állapot katalitikusan aktív.



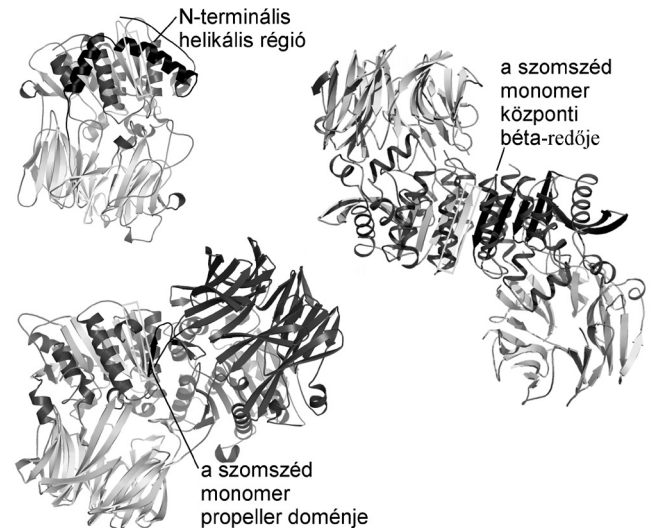
5. Ábra. A *P. horikoshii* acilaminoacil-peptidáz hexamerét felépítő monomer szerkezete (PDB kód: 4hxe), a hexamer (dimerek trimerje) és az aktív helyhez vezető üreg- és csatornarendszer (metszeti kép).

6. A multimerizáció szerkezeti szerepe

A különböző multimer acilaminoacil-peptidázok tehát különböző szubsztrátszelektív stratégiával működnek. A protil-oligopeptidáz családon belül megismert szerkezetek érdekes különbségeket mutatnak a szubsztrátszelektív stratégia szerint: a kinyílásra és becsukódásra képes enzimek monomerek vagy olyan dimerek, amikben a két monomer közötti kölcsönhatások csak az egyik domént érintik (protil-oligopeptidáz, oligopeptidáz B, *A. pernix* acilaminoacil-peptidáz); a merev, permanens oldalbejáratú rendelkező enzimek viszont olyan multimerok, ahol mindkét domén részt vesz a multimer másodlagos kölcsönhatásainak kialakításában (dipeptidil-peptidáz IV: dimer, *P. horikoshii* acilaminoacil-peptidáz: hexamer). Annak a vizsgálatára, hogy ez utóbbi enzimeknél a multimerizáció szerepe a félig nyitott állapot stabilizálása-e, molekuladinamikai szimulációt végeztünk, ami cáfolta ezt a feltételezést: a *P. horikoshii* acilaminoacil-peptidáz hexamerből kiemelt monomerjének a domén-elrendeződése időben stabil.

A különböző enzimek hidroláz doménje központi β -redőjének a szélső β -szálát (központi β -redő élét) megvizsgálva¹⁷ azt találtuk, hogy ez aggregációra, amiliodképzésre hajlamos, ún. ragadós β -él minden ismert szerkezetben. Ez a szerkezet szempontjából veszélyes szerkezeti rész azonban minden

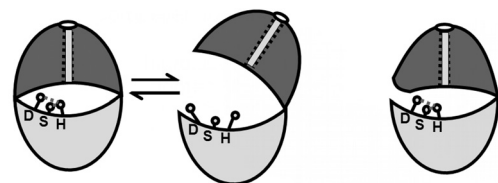
szerkezetben le van fedve: azokban az oligopeptidázokban, amik monomerek (protil-oligopeptidáz, oligopeptidáz B), a helikális N-terminális peptidszakasszal. Azok az enzimek viszont, ahol ez a peptidszakasz túl rövid, multimerok, és a multimerben a szomszédos molekula látja el ezt a védelmi funkciót (6. Ábra).



6. Ábra. A hidroláz domén β -redőjének (világos szürke keretben) ragadós élét eltemető szerkezeti részek (fekete) protil-oligopeptidázban (balra fent, PDB kód: 1qfs), *A. pernix* acilaminoacil-peptidázban (jobbra, PDB kód: 3o4g) és *P. horikoshii* acilaminoacil-peptidázban (balra lent, PDB kód: 4hxe).

7. Összefoglalás

Az oligopeptid szubsztrátok kiválasztása és proteolitikus aktivitás kettős funkciójának megvalósítására a protil-oligopeptidáz családban két mechanizmust ismertünk meg. 1) nyitott, szubsztrátok számára hozzáférhető és csukott, katalitikusan aktív konformációs állapotok egymásba alakulása által; 2) egy olyan beléptető rendszer segítségével, amin való áthaladáshoz a szubsztrát letekeredése szükséges (7. Ábra).



7. Ábra. Szubsztrát-méretszelektív mechanizmusok sematikus ábrázolása (balra: dinamikus doménmozgás; jobbra: merev szerkezet csatorna és üregrendszer).

Mindkét mechanizmus előfordul ősbaktériumok, baktériumok és gerincesek oligopeptidáz enzimeiben, valamint különböző funkciójú enzimeknél is (doménmozgás: protil-oligopeptidáz, oligopeptidáz B és *A. pernix* acilaminoacil-peptidáz; csatorna- és üregrendszer: dipeptidil-peptidáz IV és *P. horikoshii* acilaminoacil-peptidáz). Míg a hidroláz domének aminosav-szekvenciája jobban konzervált, a β -propeller domének nagy változatosságot mutatnak, nem konzervált sem a két domén közötti kölcsönható régió, ami szétválik az első csoportba tartozó enzimek kinyílásakor,

sem a merev multimerek stabilizálásában részt vevő régiók nagysága és helye az aminosav-szekvenciában. Ezek együttesen arra utalnak, hogy a kétféle mechanizmus különböző utakon, konvergens evolúcióval fejlődhetett ki az enzimes családon belül.

Köszönetnyilvánítás

A szerző köszönetét fejezi ki az OTKA (NK67800, NK101072, PD101095) támogatásáért, valamint az European Synchrotron Radiation Facility és EMBL-Hamburg Outstation sugárforrásoknak nyálábidő biztosításáért.

Hivatkozások

1. Fülöp, V.; Böcskei, Z.; Polgár, L. *Cell*, **1998**, *94*, 161-70.
2. Polgár, L. *Cell. Mol. Life Sci.* **2002**, *59*, 349-362.
3. Rosenblum, J. S.; Kozarich, J. W. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2003**, *7*, 496-504.
4. Berman, H.M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T.N.; Weissig, H.; Shindyalov, I.N.; Bourne, P.E. *Nucleic Acids Research*, **2000**, *28*, 235-242.
5. Szeltner, Z., Rea, D., Juhász, T., Renner, V., Fülöp, V., Polgár, L. *J. Mol. Biol.* **2004**, *340*, 627-637
6. Fuxreiter, M., Magyar, C., Juhász, T., Szeltner, Z., Polgár, L., Simon, I., *Proteins: Struct. Funct. Bioinf.* **2005**, *60*, 504-512.
7. Shan, L.; Mathews, I. I.; Khosla, C. *Proc Natl Acad Sci USA.*, **2005**, *102*, 3599-3604.
8. Li, M., Chen, C., Davies, D. R. & Chiu, T. K. *J. Biol. Chem.*, **2010**, *285*, 21487-21495.
9. Kaszuba, K., Róg, T., Danne, R., Canning, P., Fülöp, V., Juhász, T., Szeltner, Z., St Pierre J-F., Garcia-Horsman, A., Männistö, P. T., Karttunen, M., Hokkanen, J. & Bunker A. *Biochimie*, **2012**, *94*, 1398-1411.
10. Canning, P., Rea, D., Morty, R. E.; Fülöp, V. *PLoS One.*, **2013**, *8*, e79349.
11. Rasmussen, H. B., Branner, S., Wiberg, F. C.; Wagtmann, N. *Nat. Struct. Biol.*, **2003**, *10*, 19-25.
12. Hiramatsu, H., Kyono, K., Higashiyama, Y., Fukushima, C., Shima, H., Sugiyama, S., Inaka, K., Yamamoto, A.; Shimizu, R. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2003**, *302*, 849-854.
13. Engel, M., Hoffmann, T., Wagner, L., Wermann, M., Heiser, U., Kiefersauer, R., Huber, R., Bode, W., Demuth, H. U.; Brandstetter, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **2003**, *100*, 5063-5068.
14. Bartlam, M., Wang, G., Yang, H., Gao, R., Zhao, X., Xie, G., Cao, S., Feng, Y.; Rao, Z. *Structure.*, **2004**, *12*, 1481-1488.
15. Harmat, V., Domokos, K., Menyhárd, D. K., Palló, A., Szeltner, Z., Szamosi, I., Beke-Somfai, T., Náráy-Szabó, G.; Polgár, L. *J. Biol. Chem.*, **2011**, *286*, 1987-1998.
16. Chen, V. B., Arendall, W. B., 3rd, Headd, J. J., Keedy, D. A., Immormino, R. M., Kapral, G. J., Murray, L. W., Richardson, J. S., Richardson, D. *Acta Cryst.* **2010**, *D66*, 12-21.
17. Menyhárd, D. K., Kiss-Szemán, A., Tichy-Rács, É., Hornung, B., Rádi, K., Szeltner, Z., Domokos, K., Szamosi, I., Náráy-Szabó, G., Polgár, L.; Harmat, V. *J. Biol. Chem.*, **2013**, *288*, 17884-17894.

Self-assembly and flexibility: substrate selection strategies in oligopeptidases

Members of the prolyl oligopeptidase family are two-domain serine proteases with double function: size selection of their substrates (maximum size limited to oligopeptides) and proteolytic activity. Crystal structures helped to understand the two strategies for fulfilling this double function are reviewed in this paper. Two conformational states were found for prolyl oligopeptidase, oligopeptidase B and *Aeropyrum pernix* acylaminoacyl peptidase: The closed form with its catalytic triad in active configuration is responsible for catalytic activity, but substrate access to the active site is hindered as there are only narrow channels leading to the inner cavity of the enzyme containing the active site. The

open form with distorted active site is responsible for effective substrate access. The equilibrium and transition between the two forms either by substrate induction or by conformational selection mechanism ensures the size limitation of the substrates. In contrast, the second group of the oligopeptidases, dipeptidyl peptidase IV enzymes and *Pyrococcus horikoshii* acylaminoacyl peptidase have permanent side opening (for dipeptidyl peptidase IV also a wide pore through its propeller domain) and they form rigid multimers where the substrate can access the active sites through a channel and/or chamber system (for *P. horikoshii* acylaminoacyl peptidase hexamers: self-compartmentalization). In this case the substrate must pass the channel(s) to reach the active site, that is why only unfolded peptides in the oligopeptide size range are the substrates of these enzymes.

Egy szimmetrikus homodimer Ca^{2+} -kötő fehérje, az S100A4 aszimmetrikus kölcsönhatásai

NYITRAY László*

ELTE Biokémiai Tanszék, Pázmány Péter sétány 1/c, 1112 Budapest

Bevezetés: szimmetria és aszimmetria a fehérjeszerkezetek világában

Herman Weyl, a híres matematikus így fogalmaz a „Szimmetria” című könyvében: „A szimmetria olyan fogalom, mellyel az ember hosszú korokon át igyekezett a rendet, szépséget és tökéletességet megérteni”.¹ Természetesen igaz ez az állítás a szerkezeti biológusokra is. Elég csak arra gondolnunk, hogy a sokak által a molekuláris és a szerkezeti biológia születésének tekintett felfedezés, a DNS kettős hélix szerkezet megfejtése és az abban rejlő elegáns információtaralási mód feltárása mit jelentett a biológiai „rend” megértése terén. Ez a felfedezés 1953-ban volt, amikor a proteinek, a biológia szempontból „elsődleges” (a görög *proteios* szó jelentése ez) makromolekulák térszerkezetéről még nem voltak ismereteink, az első fehérje kristályszerkezeti modell megszületésére még öt évet kellett várni.

A weyli definíció alapján nem volt meglepő a fehérjekutatók is azt feltételezték, hogy az általuk vizsgált bonyolult molekulák téralkata is a természet által kedvelt, nekünk esztétikai élményt nyújtó szimmetrikus szerkezetet mutat. De tévedtek – amikor John Kendrew bemutatta az oxigéntároló fehérje, a mioglobint térszerkezeti modelljét, azt csúnyának látta, s a legfontosabb tulajdonságának a komplexitáson túl a szimmetria hiányát tekintette.² Ma már több tízezer fehérje térszerkezetét ismerjük, de a keresett szimmetriát az egyetlen polipeptidláncból álló fehérjék háromdimenziós szerkezetében sehol sem fedezhetjük fel. Ez korántsem meglepő, hiszen a biológiailag fontos polimerek építőköveire a homokiralitás elve áll fenn, ami kizárja a tükörszimmetriát a fehérjék világából.

A több tízezer ismert fehérje közel felének téralkata mégis szimmetrikus felépítésű, mivel a fehérjemolekulák több mint kétharmada negyedleges szerkezettel bír, azaz több polipeptidláncból (több alegységből) áll, amelyek többségében azonosak (homooligomerek), bár van köztük sok heterooligomer is. (Zárójeles megjegyzés, hogy a molekuláris biológusok számára a „molekula” fogalma nem egyezik a kémikusokéval, mivel az előbbiek a hemoglobint vagy a DNS-t molekulának tekintik, holott a hemoglobin négy polipeptidlánc és a DNS két polinukleotidlánc között „csak” gyenge másodlagos kötések vannak.) A homooligomer fehérjék döntő többsége forgási (kisebb hányaduk helikális) szimmetriát mutat, azaz a weyli világrend helyreállt. Érdemes megjegyezni, hogy már a Max Perutz által megoldott második fehérje térszerkezet, a két-két azonos alegységből álló, tetramer hemoglobin térszerkezete is szimmetrikusnak bizonyult (pszeudo- D_2 -es szimmetriájú).

A negyedleges szerkezetű fehérjék legnagyobb része homodimer. Ezek szinte kivétel nélkül C_2 szimmetriát

* Tel.: +36 1 381-2171; fax: +36 1 381-2172; e-mail: nyitray@elte.hu

mutatnak, de érdekes módon, a komplexitás irányában csökkenő sorrendben az összes (forgási) krisztallográfiai szimmetriatípus megtalálható az oligomer fehérjeszerkezetek között (C_3 , C_4 , C_5 , C_6 , C_7 , D_2 , D_3 , D_4 , D_6 , T, O, I). Mi az a hajtóerő, ami a fehérjék világában előnyt biztosít a szimmetrikus oligomerek számára? Jacques Monod tömören így fogalmazta meg a választ: „...*finiteness, stability, and self-assembly*”.³ Az oligomer fehérjék szimmetriaviszonyainak és evolúciójának további részleteiről a téma iránt érdeklődő olvasók a hivatkozások között szereplő alapos összefoglaló közleményben olvashatnak.⁴

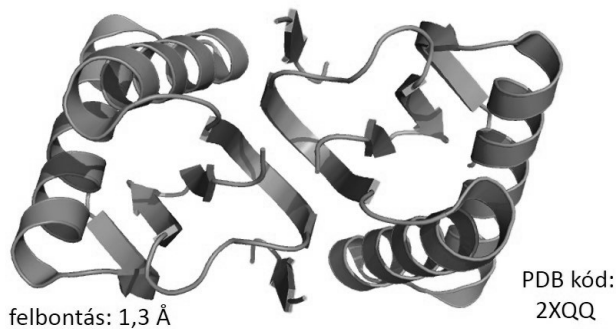
Vajon mennyire tökéletes a szimmetria a komplex fehérjékben és a fehérje komplexekben? Viszonylag gyakori a „szimmetriasértés”, bár ezek az esetek többségében viszonylag kismértékűek és lokálisak. A szimmetria átmeneti megszűnése tipikus tulajdonsága az allosztérikusan szabályozott illetve kooperációra képes oligomer szerkezetű fehérjéknek.⁴ Nagyobb mértékű aszimmetria alakul ki sok esetben a jeltovábbító membránreceptor fehérjékben a ligandumaik (pl. fehérje hormonok) kötésének illetve a transzkripciós faktorok DNS-hez kötődésének hatására. A szimmetrikus oligomer szabályozófehérjékben bekövetkező aszimmetrikus perturbációkról és az ezeket felfedő módszertani lehetőségekről kitűnő összefoglaló közleményt jelentetett meg a közelmúltban két magyar kutató.⁵

A Krisztallográfia Nemzetközi Éve keretében megtartott akadémiai ülésen elhangzott előadásomban egy olyan fehérjeszerkezeti példát ismerttettem, ahol a kísérleteink során egy tumor áttétképzésben szerepet játszó homodimer fehérjének egy partnerfehérjével alkotott komplexében jelentős mértékű szimmetriasértést tártunk fel – jóllehet, az eddigi szakirodalom szimmetrikus kölcsönhatást vetített előre.

Mielőtt bemutatom a kutatásaink tárgyát képező kölcsönható fehérjéket, néhány általános megjegyzés a fehérje-fehérje kölcsönhatások (PPI) jelentőségéről és típusairól. Az élő rendszerek megismerésének egyik kulcsa, hogy a megértsük a biomolekulák közötti molekuláris felismerés szerkezeti alapjait. Ebből a szempontból a legfontosabbak a két vagy több fehérje közötti (valamint a DNS-kötő fehérjék és a DNS közötti) kölcsönhatások feltérképezése. A fehérjék egymással és más molekulákkal, ionokkal kizárólag ezeken a kölcsönhatásokon keresztül képesek kommunikálni. A fehérjék közötti kölcsönhatások részletes, mechanisztikus feltárása a jelenkor szerkezeti biológiájának egyik fő agendája.

Alapvetően kétféle PPI-t különböztetünk meg. Az egyik típusú interakció két globuláris fehérje vagy azok doménjei

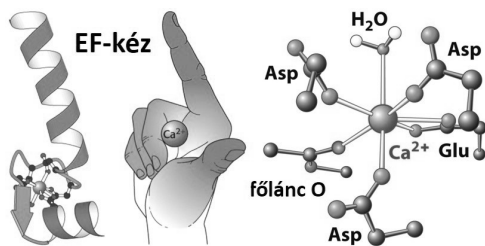
(kvázi-független feltekeredési egységei) között jön létre, amelyek sokszor kiterjedt kölcsönható felszín alkotnak. A második típusnál – amely az én érdeklődésem homlokterében áll – az egyik kölcsönható partner rövidebb peptidszakasza, egy ún. lineáris motívum vesz részt a kötődésben. A lineáris motívumok nagyon gyakran eredendően rendezetlen fehérjeszakaszokon (IDP: *intrinsically disordered protein*) fordulnak elő, központi szerepet játszanak a tranziens fehérje-fehérje hálózatok (az interaktom) kialakításában, és halmozottan fordulnak elő a jeltovábbítás (szignál transzdukció) valamint sok más szabályozó fehérje kölcsönhatásaiban.⁶ Példaként egy lineáris motívum és egy sok PPI-ben résztvevő homodimer csomóponti fehérje (*hub protein*) között létrejött szimmetrikus 2:2 komplex térszerkezetét mutatom be, amelyet a kutatócsoportunk határozott meg.⁷



1. **Ábra.** Az LC8 homodimer fehérje két lineáris kötőmotívummal (a miozin-5a motorfehérjéből származó peptid) kialakított szimmetrikus komplexének kristályszerkezeti modellje.

Az EF-kéz Ca^{2+} -kötő fehérjecsalád és az S100 fehérjék

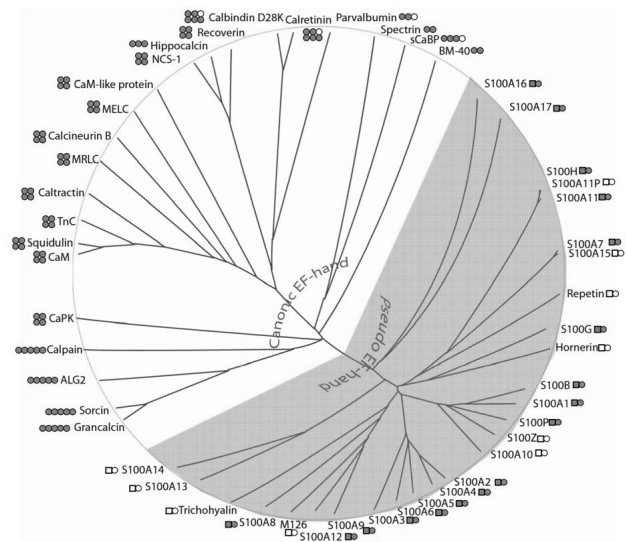
A Ca^{2+} a sejtek számára egy ún. másodlagos hírvívó, amely az izomkontrakciótól és a sejt migrációtól kezdve a programozott sejthalálig számos biológiai folyamatot szabályoz. A sejtben belüli koncentrációja külső jelek hatására a nyugalmi $<10^{-7}$ mol/dm³-ről $\sim 10^{-6}$ mol/dm³-re emelkedik, s Ca^{2+} -érzékeny fehérjékhez kötődik. A Ca^{2+} -kötés hatására ezek a „molekuláris kapcsoló” szerepet betöltő fehérjék olyan konformációváltozáson mennek keresztül, aminek következtében kölcsönhatásba lépnek más fehérjékkel, s azok aktivitását szabályozzák. A Ca^{2+} minden esetben koordinációs kötéssel kapcsolódik a fehérjékhez, még hozzá a legtöbb szabályozó fehérjében egy tipikus hélix-hurok-hélix szerkezetű motívumhoz, amely az EF-kéz nevet viseli (a név a parvalbumin Ca^{2+} -kötő fehérje „E” és „F” jelű α -hélixére és az emberi kézhez hasonló alakjára utal).



2. **Ábra.** Egy tipikus EF-kéz Ca^{2+} -kötő motívum szerkezete és a kétértékű kation koordinálásában résztvevő oxigén atomok elhelyezkedése.

Az EF-kéz 12 aminosavból álló hurok régiójában található oxigéntartalmú oldalláncok (elsősorban Asp és Glu), a polipeptidgerinc karbonil-oxigénje vagy szerkezeti vizek koordinálhatják a kétértékű kationt, általában pentagonális bipiramis alakú ligandumteret alkotva. Szinte mindig két EF-kéz motívum alkot egy kooperatív funkcionális egységet. Az EF-kéz fehérjecsalád (amelynek >500 tagja ismert) legtipikusabb képviselője az eukarióta sejtekben univerzálisan előforduló, 4 kalciumiont kötő kalmodulin.

Az erősen konzervatív kalmodullinnal ellentétben az általunk vizsgált S100 fehérjecsalád tagjai igen sokfélék. Az evolúció során a gerincesekben jelentek meg, a humán genom huszonnégy S100 gént kódol, s az ezekről átiródó izoformák többé-kevésbé szövetspecifikusan fejlődnek ki. Döntő többségük szimmetrikus homodimer fehérje, mindkét alegységük két EF-kéz Ca^{2+} -kötő motívumot tartalmaz, amelyek közül az egyik a csak erre a családra jellemző ún. pseudo-EF-kéz.⁸



3. **Ábra.** Az EF-kéz fehérjecsalád tagjainak részleges törzsfája. Szürke háttérrel az S100 fehérjék alcsaládját (a kis gömbök és négyzetek a kanonikus ill. a pseudo-EF-kéz motívumokat jelölik)

Honnan származik az S100 család elnevezése? A biokémikusok által előszeretettel használt durva fehérjetisztítási módszer, a kisózás során ezek a fehérjék 100%-os ammónium-szulfát szaturáció mellett is oldatban maradnak (így könnyen tisztíthatók).

Az S100 fehérjék fiziológiás jelentőségéről összefoglalóan azt mondhatjuk, hogy nagyon sokoldalú a szerepük, amit még fokoz, hogy a sejtben belül és kívül is megtalálhatók. Ca^{2+} -függő módon célfehérjékhez kötődve szabályozzák többek között a sejtproliferációt, differenciációt, apoptózist, az energia metabolizmust, gyulladási folyamatokat és a sejt migrációt. Humán vonatkozásban fontos kiemelni a patológiás jelentőségüket, mivel a túlermelődésük számos betegséggel hozható összefüggésbe: neurológiai kórképekkel (pl. S100B), különböző tumorok kialakulásával (pl. S1002, S1006, S100P), gyulladási folyamatokkal (S1008/9, S100A12), pikkelysömörrel (S100A7) és kardiomiopátiákkal (S100A1).⁹

Az S100A4 funkciói, diszfunkciói és célfehérjéi

Az S100 családtagok közül a munkacsoportom az S100A4, „leánykori” nevén metasztazin fehérjével kezdett el foglalkozni, mivel ismert volt az irodalomból, hogy az általam korábban sokat tanulmányozott miozin motorfehérjék egyik, ún. nem-izom izoformájának (NM2A) *coiled-coil* régiójához kötődik, és ezáltal befolyásolja a sejtek migrációs képességét.

„A Small Actor Playing Many Roles” – ezt a címet adta az S100A4-gyel foglalkozó egyik kutató a fehérjét bemutató összefoglaló közleménynek.¹⁰ A számos fiziológiás funkció mellett a metasztazin név egy diszfunkcióra utal: számos klinikai eredmény és állatmodellen végzett kísérlet is azt mutatja, hogy az S100A4 mennyisége jelentősen megemelkedik a metasztázisra, tehát áttétképzésre hajlamos mell-, vastagbél-, petefészek-, prosztata és néhány további ráksejtekben. Minél magasabb a fehérje szintje a primer tumorban, annál nagyobb valószínűséggel következik be az áttétképzés. Időközben kiderült, hogy az S100A4 túltermelődése több más krónikus betegség, így a reumás ízületi gyulladás, különböző fibrózisok, sőt a legújabb kutatások szerint allergiás kórképek kialakulásában és fenntartásában is szerepet játszik.¹¹

Az 4. ábra foglalja össze azokat a funkciókat, amelyekben az S100A4 minden bizonnyal szerepet játszik, valamint a túltermelődéséből adódó diszfunkciókat és betegségeket. Érdekes módon az ún. KO egér, amelyből célzottan eltávolították („kiütötték”) az S100A4 gént, nem nagyon különbözik a vad-típusú társaitól – kivéve, hogy a makrofág sejteji nem képesek a gyulladásos helyekre kemotaxissal eljutni; ezenkívül ezekben az egerekben szinte sosem alakul ki tumor metasztázis.¹²

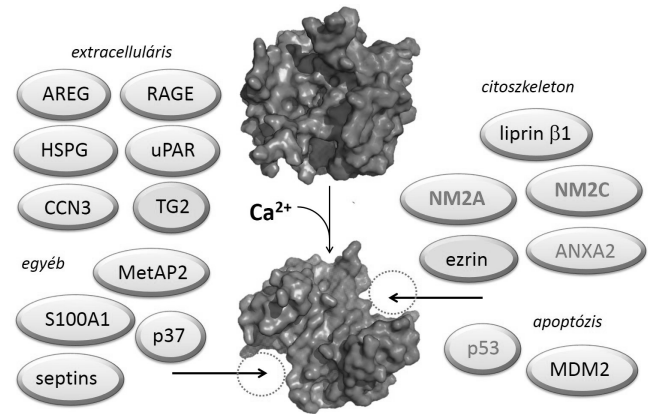


4. Ábra. Az S100A4 fehérje funkciói (felső két sor), diszfunkciói (harmadik sor), valamint azok a betegségek (alsó sor), amelyekkel kapcsolatba hozható

Mit tudunk az S100A4 célfehérjéről? Az irodalomban eddig közel két tucat fehérjéről bizonyították kísérletesen (de az esetek egy részénél csak *in vitro*), hogy komplexet alkotnak az S100A4-gyel. A Ca^{2+} -kötés hatására olyan konformációváltozás következik be a fehérje mindkét alegységében, aminek a hatására hozzáférhetővé válik két azonos hidrofób kötőzseb, amelyet a célfehérjékben található S100 kötőszekvenciák felismernek.

A nem-izom miozin-2 motorfehérje

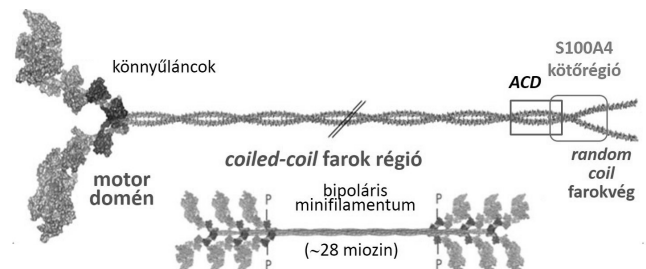
Mi a szerepük és milyen a szerkezetük a „nem-izom” miozin-2 (NM2) motorfehérjéknek? Az ún. konvencionális



5. Ábra. Az S100A4 célfehérjéi, amelyek az ábra közepén bemutatott konformációváltozással kinyíló, két azonos hidrofób zsebbe (körök szaggatott vonallal) kötődnek.

miozint (miozin-2), amely képes az ATP-ben tárolt kémiai energiáját mechanikai munkává alakítani, az izom motorjaként ismerjük, habár a kissé eltérő „nem-izom” izoformái majdnem minden eukarióta sejtben előfordulnak. Sokoldalú szerepet töltenek be a sejtosztódásban, sejt migrációban, sejt differenciációban, általában az aktin citoskeleton átrendeződését igénylő folyamatokban. A három NM2 izoforma (NM2A, 2B, 2C) sejt típusonként eltérő mértékben termelődik, különböző helyen lokalizálódik és eltérő mechanikai tulajdonságokkal bír. Az izom vastag (több száz miozinból álló) filamentumaitól eltérően az NM2 motorok 28 molekulából álló minifilamentummá állnak össze, s kizárólag ebben a komplex formában képesek erő kifejtésre.¹²

A miozin-2 heterohexamér fehérje, két ún. nehézláncból és négy könnyűláncból áll. A nehézláncok N-terminális végén található a két globuláris motor domén (itt történik az ATP hidrolízis, az aktinkötés és az erőgenerálás), ide kötődnek a regulációs szerepet betöltő könnyűláncok. A két fejet egy hosszú, *coiled-coil* szerkezetű fark régió tartja össze, míg a *coiled-coil* felszínnek eltérő töltésmintázata felelős ionos kötésekkel a filamentumok kialakításáért. Ez utóbbihoz nélkülözhetetlen a *coiled-coil* végénél található ACD (*assembly competent domain*) régió, ami részben átfed az általunk pontosított S100A4 kötőrégióval, ami viszont részben a szerkezet nélküli „farkvégre” esik.



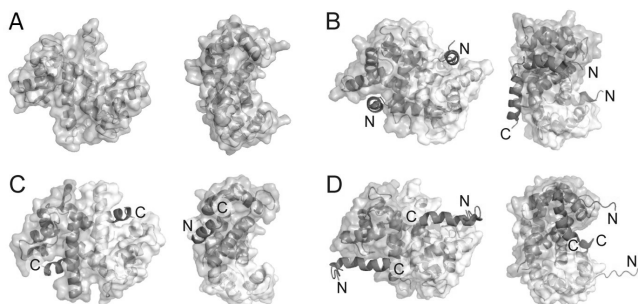
6. Ábra. A nem-izom miozin-2 térszerkezete (felül) és a funkcióképes minifilamentumok vázlatos szerkezete (lent).

Az amöboid migrációra képes sejtekben (pl. makrofágok vagy áttétképző tumorsejtek) a miozin-2 motorok a sejtek vezető éle mögött (NM2A izoforma) és a sejtek hátsó végén (NM2B izoforma) helyezkednek el. Alapvetően nem a sejt elejének a kitüremkedéséért felelősek – bár ezt

feltételezhetnénk –, hanem éppen ellenkezőleg, a motorként „előrenyomuló” polimerizálódó aktin filamentumok visszahúzásában, a sejteket valamilyen „aljzathoz” rögzítő stabil sejtadhéziók kialakulásában (NM2A) és a sejtest hátsó részének az előremozdításában (NM2B) játszanak szerepet. Az NM2C fő feladata a sejtosztódás végső fázisában, a citokinézisben van.¹²

Az S100A4-NM2A komplex (nem várt) aszimmetrikus térszerkezete

A munkahipotézisünk az volt, hogy az S100A4 és az NM2A szimmetrikus dimer-dimer fehérjekomplexet hoz létre. Mivel a miozin szerkezeten belül az S100A4 kötőhelye a kétláncú fark régióban van, ezért feltételeztük, hogy a két azonos lánc a homodimer Ca^{2+} -kötő fehérje két azonos kötőzsebével lép specifikus kölcsönhatásba. Ráadásul a PDB térszerkezeti adatbázisban az S100 családból már több célfehérje komplex szerkezete ismert volt, amelyek mindegyike az „elvárt” forgási szimmetriát mutatta, két azonos kötőpeptiddel.

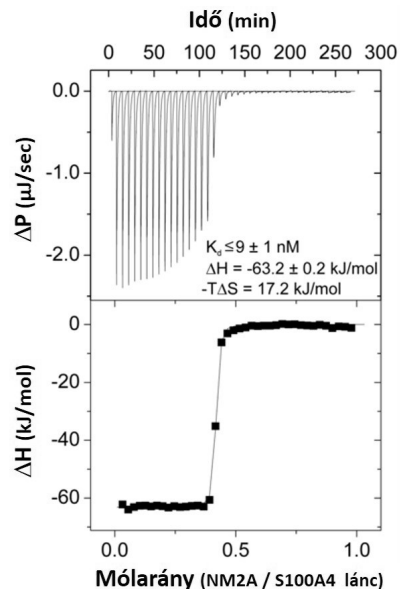


7. Ábra. A Ca^{2+} -kötött, de „üres” S100A4 (A; PDB kód: 3ZWH) és néhány korábbi ismert térszerkezeti modell, ahol S100 fehérje egy-egy célfehérje kötőmotívummal szimmetrikus 2:2 komplexet hoz létre (B-D). B: S100A6-SÍP (2JTT), C: S100A10-ANXA2 (1BT6), D: S100B-p53 (1DT7).

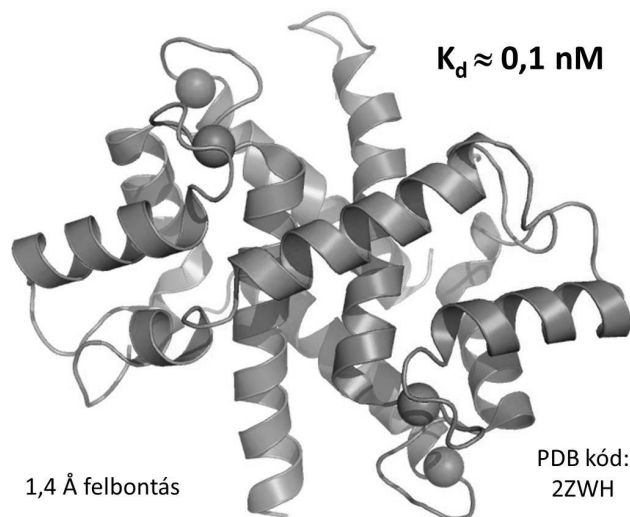
Először azonosítottuk a NM2A nehéz láncon belül azt a minimális, 45 aminosavból álló peptidszakaszt (lineáris kötőmotívum), amivel a szerkezeti munkát megkezdhattuk (a teljes méretű miozinnal történő kristályosítás a motorfehérje nagymértékű flexibilitása miatt reménytelen vállalkozás). Megjegyzendő, hogy az irodalomban korábban közölt 16-tagú „minimális kötőpeptid” mérete hibás adatnak bizonyult; de nem ez volt az egyetlen tévút, hiszen a komplex sztöchiometriáját 2:2-nek feltételezték (ez lett volna várható egy szimmetrikus homodimer komplexben).¹³

Ezzel szemben a 8. ábrán bemutatott izotermális titráló kalorimetriás mérési eredményünk erősen valószínűsítette, hogy csak egy NM2A peptid kötődik egy S100A4 dimerhez. Ráadásul a fehérjecsaládban eddig nem tapasztalt nagyon erős kötést mértünk: az $\sim 0,1$ nM-os disszociációs állandó egy lineáris peptid motívumtól igen figyelemreméltó, viszonylag nagy kötőfelszín előrevetítő érték.

Szerencsénkre (mivel a fehérjék kristályosítása ma is leginkább „próba-szerencse” körülmények között történik) sikerült nagy felbontásban (1,4 Å) diffraktálódó kristályokat kapnunk, amely adatokból megszületett a 9. ábrán látható szerkezeti modell.¹⁴



8. Ábra. Az S100A4 és NM2A kötőpeptid közötti kölcsönhatás meghatározása ITC mérésel. A titrálás molaránya mutatja, hogy 1 NM2A peptid kötődik az S100A4 dimerhez.



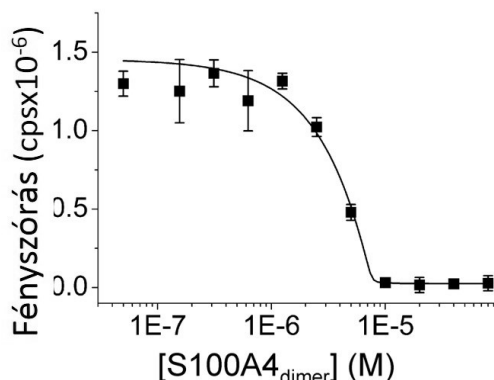
9. Ábra. Az S100A4 és az NM2A kötőmotívum (45-tagú peptid) komplexének kristályszerkezeti modellje szalag ábrázolással. Az EF-kéz motívumokhoz kötődő kalciumionokat gömbök ábrázolják.

Első látásra szembevető a komplex aszimmetriája, nevezetesen, hogy az NM2A peptid mintegy átkarolja az S100A4 dimert: az N-terminális régiója (ez a teljes NM2A szekvencián belül a *coiled-coil* régió C-terminális végén helyezkedik el) az egyik, míg a C-terminális régió (a teljes szekvencián belül a random szerkezetű „farokvégre” esik) a másik kötőzsebbe illeszkedik, amit egy helikális régió köt össze. Ha a Ca^{2+} -kötött, de „üres” S100A4 térszerkezetet nem szemből (a szimmetriatengely irányából), hanem 90°-kal elfordítva ábrázoljuk (7. ábra A része), jól látszik egy, a dimer „derekán” végigfutó árokszerű képződmény, ami már önmagában „gyanús lehetett volna”, hogy kötőfelszínként szolgálhat (amire azonban senki sem gondolt a szerkezetünk megjelenése előtt). Ebbe a kötőárokba az eredetileg *coiled-coil* régió legvége ugyanolyan hidrofób intrakciókkal kötődik, mint a másik (azonos) NM2A láncához a superhélix szerkezetben. A kötőfelszín kb. 2600 Å², ami

a fehérjecsald ismert komplexeinél jóval nagyobb, ezzel magyarázatot adva az igen erős affinitásra a két fehérje között. A „szimmetriatörés” részletesebb analízis azt mutatta, hogy a kötőmotívum N-terminális régiója inkább hidrofíli, míg a másik azonos kötőzsebbe kerülő C-terminális régió elsősorban hidrofób kölcsönhatásokat alakít ki, tehát a ligandum kötés kiváltotta aszimmetria feltétele az volt, hogy a kötőzseb Janus-arcú legyen, többféle kémiai természetű ligandumot is befogadjon. Fontos még kiemelni a komplex kialakulásának biológiai következményei szempontjából, hogy a peptid C-terminális régiója gyengébben, míg az N-terminális része erősebben kötődik.

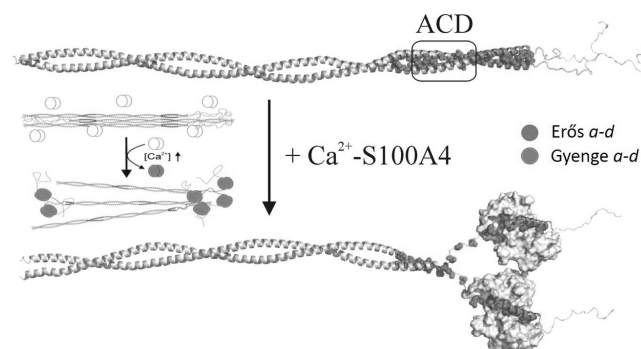
Az S100A4-NM2A kölcsönhatás szerkezeti és funkcionális következményei

Mi történik a miozin minifilamentumokkal, ha az S100A4 kötődik hozzájuk? Kísérletileg hosszabb miozin *coiled-coil* fragmentumokkal lehet funkcionális tesztek végezni (a teljes miozin rekombináns fehérjeként történő előállítás igen körülményes feladat). Ezek az NM2 „farokdomének” fiziológiai körülmények között parakristályokat (részben szabályos aggregátumokat) képeznek, amelyek az S100A4 koncentráció függvényében – fényszórással követhető módon – szétesnek, disszociálnak. A funkcionális tesztek megerősítették a korábbi méréseket, miszerint két mól feleslegben adott S100A4 jelenlétében ($c \gg K_d$) a minifilamentumok teljesen szétesnek.



10. Ábra. A miozin aggregátumok disszociációja S100A4 jelenlétében. A görbe illesztése alapján a kötés K_d -je ~ 8 nM.

A szerkezeti eredmények, *coiled-coil* miozin fragmentumokkal végzett cirkuláris spektroszkópiai mérések (amelyek a másodlagos szerkezeti elemek, ebben az esetben az α -hélixek mennyiségéről tudósítanak) és egyéb megfontolások alapján a következő mechanisztikus modellt állítottuk fel a miozin minifilamentumok szétesésére. Az S100A4 dimerek „elkapják” a miozin szerkezet nélküli „farokvégeit”, majd mintegy cipzárt kinyitják a fehérje szuperhélix végét, s maguk köré tekerik a kötőmotívumot. Ennek hatására a *coiled-coil* egy további rövid szakasza destabilizálódik (kb. 15 aminosav, amely gyengébben kapcsolódik egymáshoz, mivel nem ideális aminosavak helyezkednek el a két láncot összetartó hidrofób varrat *a* és *d* pozícióiban), ezáltal a filamentumok összetartásában döntő szerepet játszó ACD régió is destabilizálódik, s a miozin molekulák elválnak egymástól, a motorfehérjék ezáltal inaktíválódnak.



11. Ábra. Két S100A4 dimer kötődése az NM2A motorfehérje *coiled-coil* farok régiójának a végéhez (*in silico* szerkezeti modell), aminek a hatására a filamentumok szétesnek (belső kis ábra). Az „a” és „d” a szuperhélixet hidrofób kölcsönhatással stabilizáló aminosav pozíciókat jelöl.

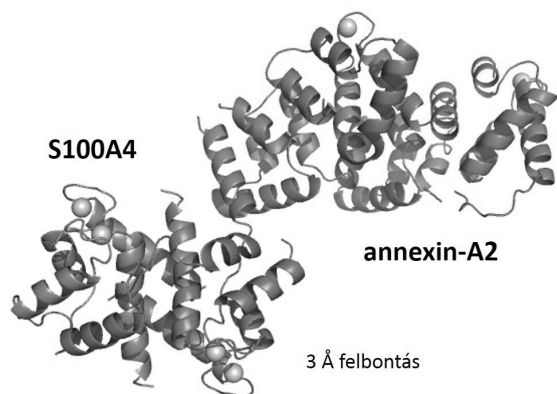
Mi lesz a miozin filamentumok szétesésének fiziológiai következménye? A miozin erő kifejthetése nélkül a sejtek adhéziója, letapadási képessége csökken, a sejtelen polimerizálódó aktin filamentumok visszafelé húzása lecsökken, végső soron a (tumor)sejtek migrációja növekszik. Bár a filamentumok szétesésének modellje egyelőre hipotetikus, a sejtek migrációs képességének fokozódását (az S100A4 fehérjék túlermelődése következtében) más kutatócsoportokkal megegyezően mi is tapasztaltuk. A mechanizmus pontos feltárása még további kísérleteket igényel.

A kísérleteink azt is feltárták, hogy a nem-izom miozin izoformák közül az S100A4 nem csak az NM2A-hoz, hanem az NM2C-hez is hasonló affinitással kötődik. Ennek a kölcsönhatásnak a biológiai jelentősége egyelőre nem ismert.

Az S100A4 más kötőpartnerekkel alkotott komplexeinek szerkezete

Ha visszatekintünk a 7. ábrára és emlékszünk az S100A4 „derekáról” fentebb elmondottakra, akkor felmerül a kérdés, hogy az S100 családban nem alakulnak-e ki máshol is aszimmetrikus célfehérje komplexek? Bár az irodalomban ez idáig ilyen csak egy hármas komplex esetében írtak le (S100A10-ANXA2-AHNAK),¹⁶ azzal a feltételezéssel kezdünk további S100 komplexeit vizsgálni, hogy a szimmetriasértés általánosabb lehet. A kérdésre még végső válaszuk nincs, de már néhány biztató előzetes eredményről be tudok számolni.

Sikerült az S100A4 és a Ca^{2+} -függő foszfolipid-kötő annexin-A2 (ANXA2) komplexének a kristályszerkezeti modelljét is meghatározni, s az is aszimmetrikusnak bizonyult. Ráadásul, ennél a komplexnél nem csak a célfehérje kötőmotívumát, hanem a teljes hosszúságú fehérjét használtuk a kristályosításhoz. Az ANXA2 N-terminálisán elhelyezkedő lineáris motívum is aszimmetrikusan „öleli át” a két kötőzsebtől a homodimer S100A4-et¹⁷. A 7. ábra C paneljén is látható egy ANXA2 komplex szerkezete, de érdekes módon az általunk azonosítottnál valamivel rövidebb kötőmotívum az S100A10-hez szimmetrikus módon, 2:2 sztöchiometriával kötődik.¹⁸



12. Ábra. Az S100A4 és az annexin-A2 komplexének kristályszerkezeti szalag modellje. Az S100A4 EF-kéz motívumaihoz és az annexin A2 típusú kötőhelyein található kalciumionokat szürke gömbök mutatják.

Az annexin-A2 is egy sokfunkciós fehérje, többek között a membránok és a citoskeleton között létesít kapcsolatot, részt vesz az exocitózis folyamatában, az epiteliális sejtek migrációjában, de extracelluláris hatása is van, ahol a plazminogén enzim aktiválásán keresztül hozzájárulhat a rákos sejtek inváziós képességéhez (az aktív plazmin proteáz ún. mátrix metalloproteázokat aktivál, amelyek az extracelluláris mátrix emésztésével „utat nyitnak” a tumorsejtek áttétképzéséhez). Az annexin család tagjai, bár Ca^{2+} -kötő fehérjék, de nem az EF-kéz családba tartozik (az általunk meghatározott szerkezetben is azonosítottunk három kalciumiont a fehérje konvex oldalán, ahol a pozitív ionok a negatív foszfolipidekhez történő kötődést közvetítik).

Kísérleti bizonyítékunk van további két szimmetriatörő S100 célfehérjére. Az egyik a „leghírhedtebb” tumor szupresszor fehérje (a humán tumorok több mint felében mutációt hordozó), a p53 N-terminális transzaktivációs doménjének lineáris motívuma, mely aszimmetrikusan kötődik az S100A4-hez. A kötődés feltehetőleg gátolja a p53 génexpresszió szabályozó funkcióját, s ezzel hozzájárulhat a rákos sejtek túléléséhez vagy egyes fibrotikus megbetegedések kialakulásához. A másik előzetes eredményünk, hogy az S100B-hez aszimmetrikusan kötődik az RSK1 protein-kináz enzim, ami melanóma sejtekben járulhat hozzá a sejtek túléléséhez. A 7. ábra D paneljén bemutatott szimmetrikus S100B komplex szerkezetében is látszik az üres „derék”, amit az RSK1 kötőmotívuma felismerhet.

Az S100 fehérjék lehetnek-e gyógyszercélpontok?

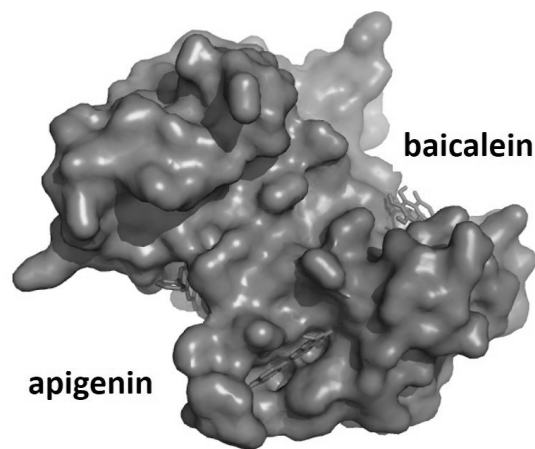
A válasz az eddig elmondottak alapján szinte magától értetődően igen. Az S1009 fehérje kapcsán jutottak legtovább a kutatók, ugyanis egy kismolekula inhibitor, a tasquinimod (kinolin-3-karboxamid) már III-as fázisú klinikai vizsgálatok alatt álló gyógyszerjelölt molekula prosztata rák kezelésére.¹⁹ Az S100A4 esetében egy monoklonális antitesttel végeztek már ígéretes állatkísérleteket, ahol az extracelluláris S100A4 gátlásával sikerült tüdőtumorkok áttétképzését csökkenteni.²⁰ További lehetőség lehet az S100A4 fehérje kölcsönhatásainak gátlása kismolekula vagy peptid inhibitorokkal. Az utóbbiak fejlesztésére, a nagy affinitással kötődő NM2A peptidből kiinduló irányított evolúciós módszerrel látunk lehetőséget;

ezeket a kísérleteket Pál Gáborral (ELTE Biokémiai Tanszék) együttműködésben már elkezdtük.

A kismolekula inhibitorok kapcsán sikerült azonosítanunk több flavonoidot, amelyek mikromólos disszociációs állandóval kötődnek az S100A4-hez.²¹ A zellerben, petrezselyemben előforduló apigenin és a bajkái csucsóka (*Scutellaria baicalensis*) hatóanyaga, a baicalein rákellenes hatása korábbról ismert volt, de hatásmechanizmusuk még feltáratlan. A potenciális S100A4 gátlószerek hatásának tesztelését rákos sejtvonalakon a közeljövőben fogjuk elkezdeni.

Zárszó

A szimmetrikus homodimer fehérjék más fehérjékkel kialakított komplexeitől intuitíve azt várjuk, hogy azok is szimmetrikusak lesznek. Az előadásomban egy olyan szerkezeti biológiai példát mutattam be, ahol az elvárásainkkal ellentétben a patológiás jelentőséggel bíró, tumor áttétek képzésében és más kórképek kialakulásában is szerepet játszó Ca^{2+} -kötő S100A4 fehérje a célfehérjével - legalábbis az általunk eddig tanulmányozott három esetben, a nem-izom miozin 2A-val, az annexin-A2-vel és a p53 tumor szupresszor fehérjével is - aszimmetrikus komplexet hoz létre. Úgy gondoljuk, hogy ez az újonnan leírt, nem szokványos fehérje-fehérje kölcsönhatás a jövőben új támadáspontokat jelenthet terápiás célú inhibitor fejlesztésekhez.



13. Ábra. Az S100A4-hez mikomólos K_d -vel kötődő két flavonoid feltételezett kötőhelyei. (Hetényi Csaba molekuláris dokkolással készült modellje).

Köszönetnyilvánítás

A fentebb ismertetett eredmények megszületéséért hálás köszönetemet fejezem ki kutatócsoportom tagjainak, a kísérleti munka oroszlánrészét végző Kiss Bence predoktornak, azonkívül Ecsédi Péter és Biri Bea doktoranduszoknak, Gógl Gergő MSc hallgatónak, valamint együttműködő partnereimnek, Pál Gábornak (ELTE Biokémiai Tanszék), Hetényi Csabának (MTA-ELTE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport és ELTE Biokémiai Tanszék), Leveles Ibolyának és Vértessy Beátának (MTA TTK, Enzimológiai Intézet és BME Alkalmazott

Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék), végezetül Katona Gergelynek (Department of Chemistry and Molecular Biology, University of Gothenburg).

Hivatkozások

1. Weyl, H. *Szimmetria*, Gondolat Kiadó, **1982**
2. Kendrew, J. C.; Bodo, G.; Dintzis, H.M.; Parrish, R.G.; Wyckoff, H.; Phillips, D. C. *Nature*, **1958**, *181*, 662-6.
3. Monod J. *In Nobel Symp. Symmetry Funct. Biol. Syst. Macromol. Lev., 11th, Stockholm*, Wiley, New York, **1968**, pp 15–27
4. Goodsell, D.S.; Olson, A.J. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2000**, *29*, 105–53.
5. Maksay G.; Tőke O. *Prog Biophys Mol Biol.* **2014**, *114*, 153-69.
6. Diella, F.; Haslam, N.; Chica, C.; Budd, A.; Michael, S.; Brown, N. P.; Trave, G.; Gibson, T. J. *Front Biosci* **2008**, *13*, 6580-603.
7. Rapali, P.; Radnai, L.; Süveges, D.; Harmat, V; Tölgyesi, F; Wahlgren, W.Y.; Katona, G.; Nyitray, L.; Pál, G. *PLoS One.* **2011**, *6*, e18818.
8. Gifford, J.L.; Walsh, M.P.; Vogel, H.J. *Biochem J.* **2007**, *405*, 199-221.
9. Donato, R.; Cannon, B.R.; Sorci, G.; Riuzzi, F.; Hsu, K.; Weber, D.J.; Geczy, C.L. *Curr Mol Med.* **2013**, *13*,24-57.
10. Boye, K.; Maelandsmo, G.M. *Am J Pathol.* **2010**, *176*, 528-35
11. Gross, S.Rr; Sin, C.G.; Barraclough, R.; Rudland, P.S. *Cell Mol Life Sci.* **2014**, *71*, 1551-79.
12. Li, Z.H.; Dulyaninova, N.G.; House, R.P.; Almo, S.C.; Bresnick, A.R. *Mol Biol Cell.* **2010**, *21*, 2598-610.
13. Vicente-Manzanares, M.; Ma, X.; Adelstein, R.S.; Horwitz, A.R. *Nat Rev Mol Cell Biol.* **2009**, *10*, 778-90.
14. Malashkevich, V.N.; Varney, K.M.; Garrett, S.C.; Wilder, P.T.; Knight, D.; Charpentier, T.H.; Ramagopal, U.A.; Almo, S.C.; Weber, D.J.; Bresnick, A.R. *Biochemistry*, **2008**, *47*, 5111-26.
15. Kiss, B.; Duelli, A.; Radnai, L.; Kékési, K.A.; Katona, G.; Nyitray, L. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **2012**, *109*, 6048-53.
16. Dempsey, B.R.; Rezvanpour, A.; Lee, T.W.; Barber, K.R.; Junop, M.S.; Shaw, G.S. *Structure.* **2012**, *20*,1737-45.
17. Ecsédi, P.; Kiss, B.; Leveles, I.; Vértessy, B.; Nyitray, L. *Biokémia*, **2014**, *28*(3), 48a
18. Réty, S.; Sopkova J, Renouard, M.; Osterloh, D.; Gerke, V.; Tabaries, S.; Russo-Marie, F.; Lewit-Bentley, A. *Nat Struct Biol.* **1999**, *6*, 89-95.
19. Gupta, N.; Al Ustwani, O.; Shen, L.; Pili, R. *Oncotargets Ther.* **2014**, *12*, 223-34.
20. Klingelhöfer, J.; Grum-Schwensen, B.; Beck, M.K.; Knudsen, R.S.; Grigorian, M.; Lukanidin, E.; Ambartsumian, N. *Neoplasia.* **2012**, *14*, 1260-8.
21. Kiss, B.; Nyitray, L. *nem közölt eredmények*

Asymmetric interactions of the symmetric homodimer S100A4 Ca²⁺-binding protein

For most scientists the birth of molecular and structural biology is the discovery by Watson and Crick of the double helical structure of DNA. Symmetry of the three-dimensional shape of proteins was also expected, however the most remarkable features of myoglobin, the first protein structure determined, were “its complexity and lack of symmetry” as John Kendrew noted. Soon it turned out that symmetry is the rule rather than exception for protein, since the majority of them has quaternary structure (*i.e.* they consist of more than one polypeptide chain) and the subunits are arranged into rotational and helical symmetry. The highest percentage of oligomers is dimers with C₂ symmetry, but all crystallographic point group symmetries are represented among homo-oligomeric proteins. Symmetric oligomers are favored because of finite control of assembly and stability. Symmetry could be broken by many ways, however usually only locally.

At a scientific meeting at the Hungarian Academy of Sciences on the occasion of the International Year of Crystallography, I presented a crystal structure of a tumor metastasis associated homodimeric protein in complex with an asymmetrically bound to a single binding partner protein, an example of global symmetry breakage in a protein complex.

Protein-protein interactions (PPI) are key to understanding biological processes. Homodimer proteins usually make symmetric dimer-dimer interactions. Figure 1 shows an example from our laboratory, a hub protein, LC8 in complex with two so called linear motif (short peptide region of an interacting partner) showing fully symmetric interaction. During the course of studying PPIs of another symmetric dimer, the Ca²⁺-binding S100A4 protein, in contrary to the expected dimer-dimer stoichiometry we have revealed that a single non-muscle myosin 2A (NM2A) peptide wraps around dimer interface, leading to a ligand-induced asymmetry in the homodimeric S100A4.

S100 proteins are small, vertebrate-specific EF-hand Ca²⁺-binding proteins that are involved in cell proliferation, differentiation,

apoptosis, inflammation, and cell migration. Their overexpression is associated with several diseases. Our protein of interest from this family, S100A4 is a “small actor playing many roles” (Figure 4, 5). Its previous name, metastasin refers to a well-documented dysfunction; it is overexpressed in various solid tumors (breast, colon, ovary, prostate, and others) and its high concentration in the tumor microenvironment is inversely correlated with patient survival. It seems to be involved in several steps in the metastatic cascade, including migration, invasiveness, and angiogenesis. The molecular mechanism by which S100A4 exerts these functions is not fully clear. Upon Ca²⁺-binding it undergoes a conformational change exposing two identical hydrophobic binding pockets that could recognize target proteins. The most studied intracellular interaction partner of S100A4 is NM2A; however at least a dozen other proteins were shown to interact with it, including annexin A2, the tumor suppressor p53.

Non-muscle myosin 2 motor proteins have a fundamental role in processes that require cellular reshaping and movement, such as cell adhesion, cell migration and cell division. NM2 molecules assemble into bipolar minifilaments through interactions between their rod domains and could generate force only in these ensembles. S100A4 binds to the C-terminal end of the coiled-coil rod region overlapping with the assembly competent domain (ACD; a region necessary for filament formation) (Figure 6.).

We assumed that the homodimeric S100A4 would form a symmetric 2:2 complex with the two heavy chains of NM2A (or two recognition peptides derived from it and used for crystallization in complex with S100A4). All S100 complexes determined previously showed a symmetric complex (Figure 7). Contrary to the expectations we measured the stoichiometry to be one myosin peptide per S100A4 dimer (Figure 8). We were able to solve the high-resolution crystal structure of the complex that revealed a unique and asymmetric target-recognizing mechanism in the S100 family (Figure 9). The complex contains one NM2A peptide that is wrapped around an S100A4 dimer forming a particularly large interface compared to other S100 complexes. Functional test were carried out with NM2A fragments that form paracrystals, resembling minifilaments, confirming that two molar excess of S100A4 completely disrupt filaments (Figure 10).

Based on the asymmetric complex we proposed a model for the structural basis of S100A4-induced NMIIA filament disassembly. S100A4 is supposed to catch the nonhelical tailpiece, then partially unwind the C-terminal end of the coiled-coil rod (Figure 11.). Disruption of the ACD leads to filament disassembly. Physiological consequence of this could be the decrease of cell adhesion to the substratum and increase in cell migration. Although this model is hypothetical yet, we were able to detect, in accordance with other laboratories, increase of migration rate of cultured tumor cell lines.

Further structural studies from my research group also revealed an asymmetric binding mode of S100A4 to the recognition motif

of annexin A2 (ANXA2) and p53. ANXA2 is multifunctional Ca^{2+} - and phospholipide-binding protein involved in migration of epithelial cells and plasminogen activation that could lead to matrix metalloprotease activation and metastasis. Interaction with the tumor suppressor p53 could inhibit transcription activation and an increase of survival of tumor cells.

I raised the possibility that the description of the novel interaction surface in S100A4 complexes would facilitate the design of specific inhibitors that interfere with the S100A4–target protein interactions and could be used for therapeutic purposes. In this respect it is notable that tasquinimod, a small-molecule inhibitor of S100A9 is in phase III clinical trial to treat prostate cancers.

Egy kísérlet amely megváltoztatta a természettudományok fejlődését

KÁLMÁN Alajos*

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Szerves Kémiai Intézet

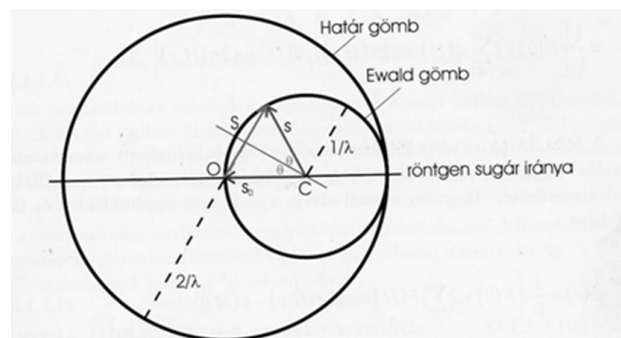
Az utóbbi évek gyakorlatát folytatva, az ENSz a 2014-es évet a Krisztallográfia Nemzetközi Évének nyilvánította (2009. a csillagászat, 2010. a Földbolygó, míg 2011. a kémia nemzetközi éve volt). A Nemzetközi Évet 2014. január 20-21-én ünnepélyes keretek között nyitotta meg a Nemzetközi Krisztallográfiai Unió (IUCr) és az Egyesült Nemzetek Szövetségének Nevelésügyi, Tudományos és Kulturális Szervezete az UNESCO párizsi főhadiszállásán a „Place de Fontenoy”-ban. Az UNESCO tevékenységének általános célja, hogy megteremtse a civilizációk, kultúrák és emberek közötti, a közös értékek iránti tiszteleten alapuló párbeszédhez szükséges körülményeket. Ebbe a programba illeszkedik bele, hogy a 2014-es évet, a Laue kísérletért adományozott Nobel-díj, valamint W.H. Bragg és W.L. Bragg által az első kristályszerkezetek publikálásának centenáriumát, a krisztallográfiának dedikálták.

A résztvevőket videóüzenetben köszöntötte Ban Ki-moon, az ENSz főtitkára. A köszöntők sorában Nicole Moreau, a IUPAC volt elnöke, a Kémia 2011-es Nemzetközi Éve szervezőbizottságának elnöke, beszédében megemlítette, hogy az átlagemberek többsége inkább tart a kémiától, de a kristályok világát csodálatosnak tartja. Számos kiválóság között Jenny Pickworth Glusker (USA) krisztallográfiatörténeti kirándulásra hívta a nyitóünnepség résztvevőit, de bemutatta a jelent és kitekintést adott a krisztallográfia jövőjébe is. Ennek gondolatmenetét követve ismertetem a híres Laue kísérletet és azt a tudományos robbanást, ami ezt követte.

1912. áprilisában Max (von) Laue Sommerfeld doktoranduszával, P. P. Ewalddal folytatott konzultációjától indítva arra a következtetésre jut, hogy amennyiben az 1895 óta ismert Röntgensugárzás hullámtermészetű, és Sommerfeld becslése szerinti hullámhossza (λ) összemérhető a több mint száz éve (1784) rácsszerkezetűnek sejtett kristályos anyagok transzlációival (t_1, t_2, t_3), kölcsönhatásukat interferencia jelenségnek kell kísérnie. Ötlete megvalósítására az elméleti fizikus Laue a röntgenvizsgálatokban jártas W. Friedrich segítségét kérte, amit Sommerfeld, időpocsékolásnak tekintett s nem támogatótt. Ekkor az ugyancsak szkeptikus Röntgen ellenében annak egyik asszisztensét P. Knippinget kérte fel. Végül a főnökök háta mögött, Friedrich támogatásával egy jókora rézgalic kristályról elkészült a diffrakció jelenségét bizonyító első röntgenfelvétel. Röntgennel szemben Sommerfeld azonnal felismeri a kísérlet jelentőségét, majd további egyre jobb kristályokról (pl. ZnS) készített röntgenfelvételek megtekintése után 1912. június 8-án a Bajor Tudományos Akadémia történelmi jelentőségű „müncheni kollokviumán” bemutatja Laue és munkatársainak a röntgensugárzás hullámtermészetét és a kristályok atomi térrácsokból felépülő szerkezetét egyaránt

igazololó fotográfiáit. Mindezen eredmények elismerése Laue 1914 évi fizikai Nobel-díja.

A Laue eredményeiről értesülő Ewald, saját doktori tézisében található formulából kiindulva, megadta (1913) a Laue egyenleteknek a “reciprok térben” történő értelmezését, ami Ewald szerkesztés (1. ábra) néven mindmáig az egykristály felvételek kiértékelésének alapja. A reciprok térben értelmezett röntgendiffrakcióról azonnal kiderül, hogy Laue és társai felfedezésének feltétele éppen a primitív technikai eszközökkel előállított „föhérsugárzás” volt. Álló kristály ugyanis monokromatikus sugárzásban nem alkot felismerhető diffrakciós képet. Monokromatizált sugárzással csak forgó, illetve precessziós mozgásban lévő kristályokról készíthetünk szerkezet-meghatározásokhoz felvételeket.



1. Ábra. Laue szórás az Ewald féle reciprokrácsban. C a kristály, míg a O reciprokrács origója. Kettőjük távolsága a direkt sugár s_0 skalár értéke $1/\lambda$. A diffraktált sugár s mint vektor $2\theta = 0$ és 180° között kijelöli az Ewald gömböt. Különbösgéi vektorok S , nagysága a szóró sík rács távolságának (d) reciproka, mely 0 és $2/\lambda$ között változhat (határgömb). Bragg reflexió akkor keletkezik, ha egy rácssík normálisa éppen a d értékének reciprokaival érinti az Ewald gömböt. Ebből következik, hogy a reciprokrács pontjai csak a kristály forgatásával kerülhetnek (egymást követően) reflexiók helyzetbe.

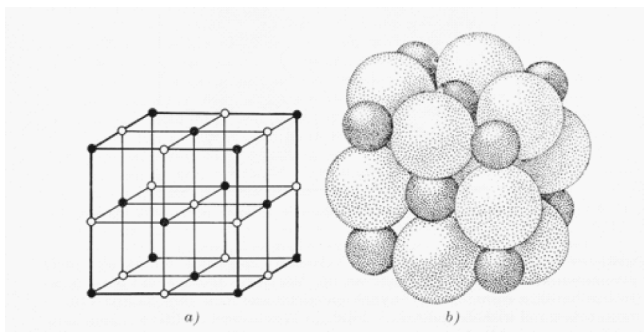
A diffrakciós képek kémiai interpretációja már Angliában történik. A kísérleti fizikus W.H. Bragg (az apa) a Laue felvételeket vizsgálva (Leeds) továbbra is korpuszkulárisnak tekinti a röntgensugárzást, míg fia W.L. Bragg (Manchester) azonnal elfogadja Laue hullámelméletét, majd meggyőzi atyját ennek helyességéről. Lawrence Bragg a Laue felvételeket a szoros illeszkedés elvének alkalmazásával felállított Barlow-Pople féle kristályrács modellek segítségével értelmezi. Ez a munka hamarosan egy sorozat egyszerű kristályszerkezet (NaCl, KCl, KBr, ZnS, gyémánt, CaF_2 , és CaCO_3) mindmáig helytálló meghatározásához vezetett. Bragg szerkezetmeghatározásai egyszerre világították meg a kristályok spekulatív úton felállított rácselméletének fehér foltjait és nyitották meg az utat az egyre bonyolultabb szerkezetmeghatározásokhoz. A kísérleti fizikus apa 1912 végére elkészíti ionizációs kamrával felszerelt röntgenspektrométerét, amellyel a Laue felvételek transzmissziós

* e-mail: kalman.alajos@ttk.mta.hu

elrendezése helyett közvetlenül a vizsgált kristály lapjairól tükröződő sugárnyalábok intenzitását mérik. Ez a mérési mód vezetett ahhoz az egyenlethez, amely a diffrakció jelenségét a rácssíkok interferencia kísérte röntgensugár tükrözéseként írja le:

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad (1)$$

ahol λ a röntgensugárzás hullámhossza, míg $n = 1, 2, 3, \dots$ egészszám a szórás lehetséges felhamónikusaira utal. Az egyenlet jobb oldalán d az atomi pontokkal terhelt rácssíkok távolsága, (Å) míg θ a diffraktált és a direkt sugár által bezárt szög (2θ) fele. Az egyenlet érvényességének zseniális körülhatárolásával a Bragg egyenlet mindmáig a röntgendiffrakció legtöbbet alkalmazott összefüggése. A kősó Laue felvételekkel igazolt köbös centrált szerkezetéből (2. ábra) a mólsúly, a sűrűség és a elemi cellánkénti mólszám ($Z = 4$) ismeretében Lawrence Bragg kiszámította az első abszolút rácslánc értékét (d), azaz az Na-Cl távolságot. Atyja spektrométerében a kősó bázislapjáról mint analízátor kristályról reflektáltatta a vizsgált sugárzást, majd 2θ pontos meghatározásából az (1) egyenlettel megadta a keresett hullámhosszt (λ).



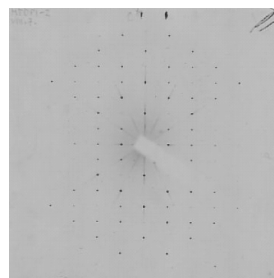
2. Ábra. A kősó (NaCl) centrált rácának Barlow-Pople féle modellje.

A hullámhosszak mérésének lehetősége indítja el H. G. J. Moseleyt, hogy az elemek rendszámára vonatkozó elméletét igazolja. 1913 végén kiméri a kalcium és a cink közötti 11 elem karakterisztikus sugárzását, melyből felállítja a nevét viselő törvényt: A K-vonalak hullámhosszának négyzetgyöke lineárisan változik az atomok rendszámával. Braggék spektrométere és egyenlete tehát egy új tudományág a fluoreszcens röntgenspektroszkópia megszületését is lehetővé teszi.

Laue, Ewald és Lawrence Bragg különböző megközelítésben a röntgendiffrakció geometriai értelmezését adja meg. A továbblépést Rutherford egyik asszisztense C. G. Darwin teszi meg, kidolgozza (1914) a röntgensugárzás szóródásának dinamikus leírását. Tőle függetlenül P. Debye (1913) a molekulák hőmozgását is figyelembe véve dolgozta ki „a térrács interferencia jelenségek” elméletét. Valamivel később a frontszolgálaton (1917) kiválóan röntgeneskedő Ewald is kidolgozza a röntgensugárzás szóródásának dinamikus elméletét.

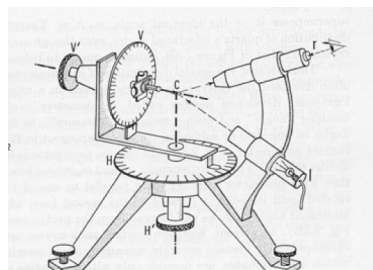
Ezen ünnepi visszaemlékezés nem teszi lehetővé mindazok nevének felsorolását, akik a röntgendiffrakció elméletének kidolgozásában és a jelenség értelmezésében már 1914 körül igen hatékonyan résztvettek (Hazánkban az 1915-ben a Kárpátokban hősi halált halt Bartoniek Emil magyar

fizikus a *Math. és Phys. Lapok* –ban (144-156) már 1914-ben „A röntgensugarak természetéről” címmel, egy izgalmas dolgozatban számolt be a Laue kísérlet indította tudományos robbanásról. A dolgozat felkutatásáért Radnai Gyulát illeti köszönet). Kivétel a holland származású Debye, akinek érdeme a Bragg egyenlet további originális felhasználása. 1916-ban Göttingen-ben P. Scherrerrel, felfedezi a polikristályos anyagok röntgenszórásának jelenségét és annak a porminták vizsgálatában való alkalmazhatóságát. Egy évvel később az amerikai W. Hull „New method of X-ray crystal analysis” cím alatt ugyancsak közli a pormódszer felfedezését. Szemben mind a mérés technikában, mind a számításokban egyaránt bonyolultabb és költségesebb egykristálydiffrakciós szerkezetmeghatározásokkal, a háromdimenziós diffrakciós képet csak a Bragg szög (θ) függvényében regisztráló porfelvételek hamarosan alkalmazást nyernek mindazon laboratóriumokban ahol kristályokkal foglalkoznak. Az évtizedekig domináns filmes porkamrákat a hatvanas évektől fokozatosan ionizációs detektorral felszerelt automata diffraktométerek váltották fel. Ami nem változott: az a Bragg egyenlet érvényessége. Hasonló, talán még fantasztikusabb fejlődés következett be az egykristálydiffrakciós kép leképzésére alkalmas készülékekben, amelyek filmes módszerekkel a reciprok rácsot egyre kisebb torzulással, végül már anélkül (3. ábra) tudták leképezni. Napjaink fejlődésének felsorolását (pl. szabad elektron lézer) meg sem kísérelhetem. A röntgendiffrakció immár százszentédes sikerűjét előadótársaim referátumai a saját területük eredményeivel igazolják.



3. Ábra. Egy reciprok rács sík torzítatlan leképzése a Buerger féle precessziós goniométerrel (a szerző felvétele).

Nem zárható le a nemzetközi ünnepekhez csatlakozó hazai megemlékezésünk, az 1912 előtti évszázadok jelentős (időtálló) eredményeinek említése nélkül.

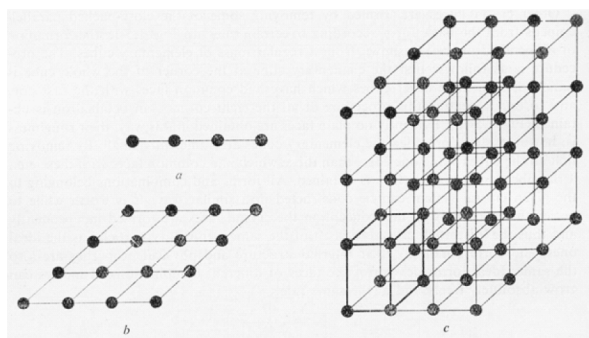


4. Ábra. Optikai goniométer. Segítségével a kristályok, mint konvex poliéderek, lapjai által bezárt szögek mérhetők.

Az időutazásunk origója a Niels Stensen által 1669-ben felismert „lapszögek állandóságának” törvénye. Ebből kiindulva optikai goniométerekkel, stb. (4. ábra) elvégzett

szögmérésekből felismerik, hogy tükrözések, továbbá forgástengelyek (gírek) által összekapcsolt lapformák hét tengelykeresztben értelmezhetők. Az inverzió (-1) kombinálása a gírekkel (2, 3, 4, 6) három újabb szimmetria operátort eredményez: $-2 = m$, -3 , -4). Ha a nyolc műveletet a hét rendszernek elnevezett tengelykeresztben (triklin, monoklin, rombos, trigonális tetragonális, hexagonális és szabályos) értelmezzük, 32 pontcsoporthoz másnéven kristályosztályhoz jutunk (Johann Hessel, 1830).

A kristálytan második mérföldköve René Just Haüy „racionalitási törvénye” (1784), amely szerint a kristályok mérhetetlenül apró paralelepipedonok szoros illeszkedéséből épülnek fel. Haüy felismerését követően kialakuló spekulatív rácselméletben a három nem egysíkú elemi transláció (5. ábra), amint arra Auguste Bravais rámutatott (1848), a hét tengelykeresztben 14 térrácsot képezhet (6. ábra). Sajnos az általa is megerősített, csak a külső habitussal jellemezhető 32 kristályosztály semmiképpen nem ad lehetőséget a hét primitív és a hét centrált Bravais rács megkülönböztetésére.

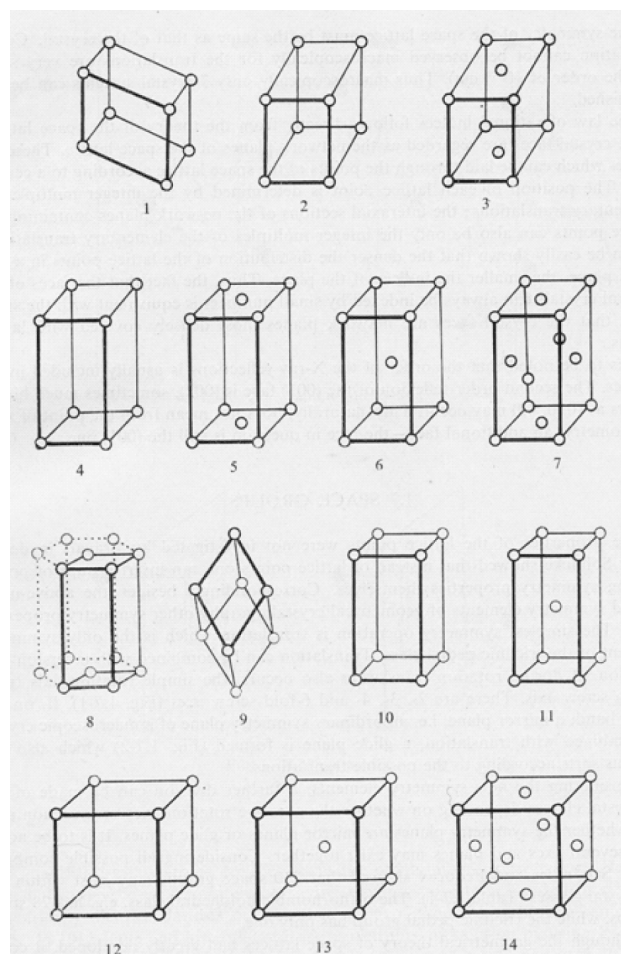


5. Ábra. Spekulatív kristályrács egy-, kettő- és háromdimenziós translációi. A 3D-rács egysége (kiemelve) az u.n. elemi cella (unit cell).

Mindezek ellenére Bravais translációkra épülő térrácsai a tércsoport-elmélet előfutárai. Leonhard Sohncke translációs szimmetriákat (csavartengelyek és csúszósíkok) felismerő (1879) munkája adta meg a lökést a tércsoportok levezetéséhez. Elsőként a szentpétervári E. S. Fedorov (1885), majd a göttingen-i Artur Schönflies (1891), s végül a cambridge-i W. Barlow (1894) vezet le és közli a 230 tércsoportot.

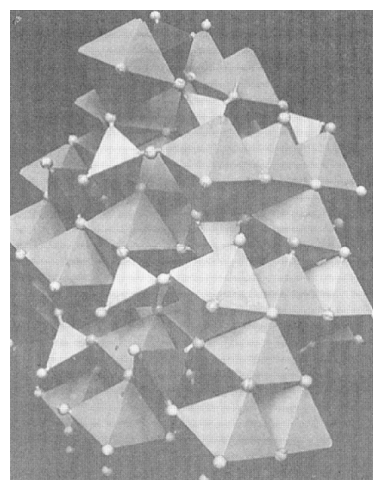
Barlow igazi érdeme, hogy ezt a munkáját megelőzve már 1883-ban közli öt „nagyon szimmetrikus kristály” köztük a kőso spekulatív térrácsát (2. ábra). Elképzeléseit harminc évvel később - Laue felvételek alapján - egy 22 éves egyetemi hallgató a későbbi Sir Lawrence Bragg erősíti meg, aki három évvel később édesapjával együtt 1915-ben megkapja a fizikai Nobel-díjat.

Sir Lawrence, minden idők legfiatalabb Nobel-díjasa, élete végéig meghatározó egyénisége volt a legkülönbözőbb területeken folyó röntgenkristallográfiai kutatásoknak. Számos Nobel-díjas dolgozott irányítása alatt. A huszas évektől a Cavendish laboratórium vezetőjeként bonyolult szilikátok szerkezetmeghatározásával foglalkozott. Itt lesz két évre (1928-1930) asszisztense Náray-Szabó István, aki több szerkezet meghatározásával bizonyította kiváló képességeit, példaként a staurolit (7. ábra) szerkezetét mutatom be.



6. Ábra. Bravais hét primitív és hét centrált rácsa: triklin (1), monoklin (2,3), rombos 4-7), hexagonális (8), romboédes (9), tetragonális (10,11), köbös (12-14).

Az angol szokás szerint, Náray-Szabó tanítványaiként Bragg unokáinak számítunk, tanítványaink pedig dédunokáinak tekinthetjük magukat. A többször nevet változtató KKKI Röntgendiffrakciós csoportjának munkatársai eredményeikkel kiérdemelték ezt a megtisztelő jelzőt.



7. Ábra. A Staurolit ($\text{HFe}_2\text{Al}_3\text{Si}_4\text{O}_{24}$) kristályszerkezete, Náray-Szabó István (1929).

Hivatkozások

1. Friedrich, W.; Knipping, P.; Laue, M. *Sitzungsberichte der Königlich Bayerischen Akademie der Wissenschaften zu München*, **1912**, 302-322; *Annalen der Physik*, **1913**, *41*, 971-988.
2. Bragg, W. L. *Proc. of the Cambridge Philosophical Society*, **1913**, *XVII*. 43-57.
3. Kálmán, A. *Magyar Tudomány*, **1995**, 1047-1062.

An experiment which changed the evolution of natural sciences

The year of 2014 has been proclaimed the International Year of Crystallography. Exactly a century ago, it was discovered that X-rays could be used to 'see' the structure of matter in a non-intrusive manner. Today X-ray crystallography has become the leading technique for studying the structure of matter at atomic or molecular level. Accordingly, crystallography has shaped the history of the 20th century. It has made a vital contribution to our understanding of the very basis of life itself. It has the widest of application in biology, chemistry and physics.

The Opening Ceremony of IYCr2014 took place at UNESCO Headquarters in Paris on 20 and 21 January. My report on the opening ceremony is stimulated by the lecture of Jenny Pickworth Glusker (USA) a former student of the Nobel Laureate (1964) Dame Dorothy C. Hodgkin. It concentrated on the changes in our

understanding of the three-dimensional structure of matter since the published report of the determination of the first crystal structure, that of sodium chloride, in 1913 by W.H. and W.L. Bragg (Nobel-laureates in physics in 1915). The Bragg's law $n\lambda = 2d\sin\theta$ is the fundamental equation of the three main applications of X-rays in sciences: single crystal and powder diffractometry and fluorescence spectroscopy.

W.L. Bragg's success (together with the determination of a half dozen simple crystal structures) was preceded by the first X-ray scattering test on the triclinic $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ crystal performed by W. Friedrich and P. Knipping as suggested by the theoretical physicist Max (von) Laue in April 1912 in München. Further photographs of X-ray scatter from crystals of higher symmetry (cubic) helped Laue to articulate the principles of the phenomenon: Interference of transversal X-ray waves on crystal lattices. This brought the Nobel-prize in physics to Laue in 1914.

The milestones of the classic crystallography are in long line in the human history. The recorded events started in 1669 when Niels Stensen had discovered the law of constancy of interfacial angles. It was followed, among others, by the law of rational indices, or Haüy's Law (1784), the discovery of Bravais lattices (1848) in the seven crystal systems, and finally the speculative deduction of 230 space groups by E.S. Fedorov (1885), A. Schönflies (1891) and somewhat later (1894) by W. Barlow. Barlow's merit (1883) is an early face-centered model of rock salt, which later helped Sir Lawrence Bragg interpreting the Laue's photographs at an age of 22.

Kémiai krisztallográfia: kristály építészet

BOMBICZ Petra*

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Szerves Kémiai Intézet

1. Bevezetés

A Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi, korábban Kémiai Kutatóközpontjában 1956 óta működik krisztallográfiai kutatócsoport, melyet Sir Lawrence Bragg laboratóriumában gyakorlatot szerzett Náray-Szabó István alapított, első munkatársa Sasvári Kálmán volt. Kálmán Alajos több mint három évtizedes vezetése alatt a röntgendiffrakciós osztály kiemelkedő kutatói voltak Argay Gyula, Párkányi László és Czugler Mátyás, aki vezette tovább a laboratóriumot. A csoportban kapták krisztallográfiai képzésüket Koritsánszky Tibor (Middle Tennessee State University), Fülöp Vilmos (Warwick University), Fábian László (University of East Anglia) és Báthori Nikoletta (Cape Peninsula University of Technology). Holczbauer Tamás képviseli a legifjabb generációt számos posztdoktori és doktori ösztöndíjas között.

2. Az egykristály röntgendiffrakció

Az egykristálydiffrakció módszerével vizsgálhatók a kis- és makromolekulák, szerves, szervetlen, szerves vegyületek, fehérjék. Szerkezetmeghatározás céljából diffraktálhatunk egykristályon röntgensugárból vagy szinkrotronból származó röntgensugarakat, vagy neutronokat. A kristályszerkezet meghatározása egykristály alkalmazásával egyre inkább rutin módszerré válik, azonban az egykristály előállítása időről-időre nehézségekbe ütközik. Ilyenkor kismolekulák vagy nagy belső szimmetriával bíró nagyobb méretű molekulák esetén lehetséges a szerkezet meghatározása nagy felbontású pordiffrakciós felvételtől is. Bár mindezen felsorolt területeken végeztek kutatásokat a csoport tagjai, az elsődleges profil az egy- vagy többkomponensű szerves és fémorganikus vegyületek, valamint fémkomplexek laboratóriumi körülmények közötti hagyományos röntgenforrással végzett egykristálydiffrakciós szerkezetmeghatározása.

Az egykristálydiffrakciós mérésből összetett szerkezeti információt kapunk. Az egykristály röntgendiffrakciós mérés során atomi felbontású képet kapunk megismerve a szilárd, nagy rendezettségű bíró anyag molekula- és kristályszerkezetét. A molekulaszerkezet megadja a vegyület kompozícióját, konstitúcióját, konformációját és konfigurációját. A kristályszerkezetből megtudjuk, hogy hogyan épül fel a kristály a molekulákból vagy ionokból, hogyan illeszkednek a kristályrácsban a szimmetriák által egymáshoz rendelt kémiai egységek, milyen intermolekuláris kölcsönhatások vannak a molekulák között. Mindennek célja, hogy kapcsolatot teremtsünk a kristály szerkezete és az anyag fizikai-kémiai tulajdonságai között, végső soron az, hogy megkivántsuk fizikai-kémiai tulajdonságú anyagokat tudjunk előállítani.

Különböző konformerek, zárványok esetén a rendezetlen atomi pozíciók meghatározhatók. Feltérképezhetők a szupramolekuláris kölcsönhatások homo- és heteromolekuláris társulásokban egyaránt. Ez lehetővé teszi a funkciós csoport / molekula felismerés tanulmányozását. Polimorf és izostrukturális kristályok összehasonlíthatók. A szerkezeti adatok birtokában az esetlegesen problémás analitikai eredmények értelmezése lehetővé válik.

A legalább egy C-H kötést tartalmazó szerkezeteket, akár röntgen, akár neutrondiffrakcióval, egykristály vagy por adatokból határozták meg, a Cambridge-i Krisztallográfiai Adatbázisban gyűjtik, melynek hazai centruma az akadémiai kutatócsoport. 2014. áprilisában az adatbankban található szerkezetek száma meghaladta a hétszáztezret. Ehhez ezerkétszáz szerkezettel az MTA TTK és elődintézményeinek munkatársai járultak hozzá. Az adatbázisból nyert adatokat leggyakrabban a következő területeken használják fel: főbb molekuláris dimenziók eloszlása, fém koordinációs szférájának geometriája, modell koordináták szolgáltatása finomításához és validáláshoz, hidrogén kötések és más másodlagos kölcsönhatások geometriája, szerkezeti korreláció feltérképezése a fizikai-kémiai tulajdonságokkal, reakcióút analízis, kristály építészet (crystal engineering) és kristályszerkezet jóslás, protein-ligandum kölcsönhatások tanulmányozása, valamint molekula modellezés és racionális gyógyszerhatóanyag tervezés.

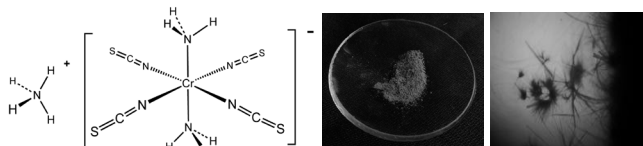
Magyarországon az első négykörös Enraf-Nonius CAD4 automata diffraktométereket 1979-ben és 1992-ben az MTA Kémiai Kutatóközpontban szerezték be, melyet 1997-ben követett még egy készülék, ezt a Debreceni Egyetemen installálták. Az ELTE-n állították fel az első térdetektoros, Rigaku image plate diffraktométert fehérje szerkezetek mérésének céljából. Kismolekulás mérésekhez érkezett egy-egy Rigaku készülék 2004-ben az MTA KKK-ba, ill. pár évvel később az EGIS gyógyszergyárba. 2011-ben CCD detektoros Agilent gyártmányú egykristály diffraktométert szereztek be a BME-MTA Enzimológiai Intézet közös fehérje krisztallográfiai méréseihez, valamint 2012-ben kismolekulás mérésekhez az MTA Wigner Kutatóintézetében.

A továbbiakban néhány példa következik az egykristály röntgendiffrakciós szerkezetmeghatározások eredményeinek bemutatására, a módszer alkalmazási területeire a szerves és komplex vegyületek, kokristályok esetén, a kiralitás meghatározására, tautoméria (dezmotrópia) jelenségének vizsgálatára, kristályosítási és szerkezetmeghatározási kihívások megoldására. A polimorfia és izostrukturális vizsgálatok az iparban és a kutatásban egyaránt örökké fontosak, és elengedhetetlenek a kristály mérnökség, a szupramolekuláris kémia területén.

* e-mail: bombicz.petra@ttk.mta.hu

3. Kristályosítás

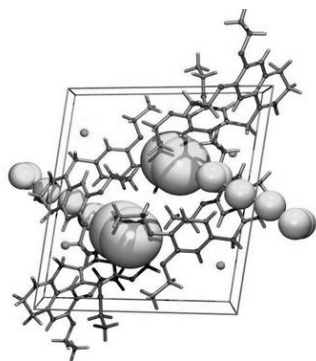
Az egykristálydiffrakciós kísérletek végrehajthatóságának gyakori akadályja az egykristály előállítása. Reinecke só származékait kristályosították¹ nem-konvencionális technikák alkalmazásával: pl. B6 vitamin reineckát kristályokat szilikagélben sikerült növeszteni (1. ábra). A catena-[bis(μ4-D-Ribono-1,4-lactone)-diaqua-dibromo-dinátrium] sót golyósmalomban állították elő² a ribonolakton és NaBr őrlésével egy csepp víz jelenlétében. A keletkező termék mikrokristályos por. A reakció előrehaladtát pordiffrakciós felvételek segítségével tudták követni.



1. Ábra. A Reinecke só képlete, por alakban, ill. B6 vitamin reineckát kristályok szilikagélben.

4. Kötőhelyek azonosítása

Három tucat különböző reaktánsok, szubsztrátok, oldószer felhasználásával készült tiokarbamid származék organokatalizátor szerkezetét vizsgálták meg^{3,4} a kötőhelyek azonosítása, a konformációs változatosság feltérképezése céljából. Több esetben az átlagostól elérő elemi cellában kristályosodtak az anyagok. Például egy esetben egy $P6_1$ tércsoportú cella jelentkezett, melynek egyik élhossza 94,5 Å többszöröse a másik kettőnek; egy másik esetben az anyag 9792 nem-hidrogén atomot tartalmazó, 245 ezer Å³-ös, királis, 96 aszimmetrikus egységet tartalmazó cellában, $F4,32$ tércsoportban kristályosodott. A felbontás növelése céljából szinkrotron forrásnál végzett mérések tették lehetővé a szerkezetek megoldását. Metanol oldószerrel együtt kristályosodó tiokarbamid származék kristály bomlásának időbeli lefutása, a másodlagos kötések bomlása volt leírható az idő múlásával újra és újra felvett diffrakciós képek segítségével.



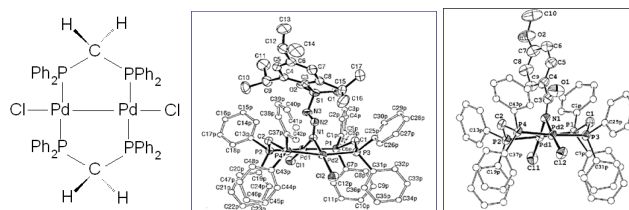
2. Ábra. Az izostrukturális drotaverin zárványkristályokban lévő üregek (sárga), melyek mérete a vendégmolekula nagyságától függően kismértékben nagyobbodik vagy csökken.

A drotaverin simaizom görcsoldó hatású, hidroklorid sóját No-Spa néven az 1960-as években hozta a Chinoin gyógyszergyár forgalomba, azóta is az egyik legfontosabb exportcikke a gyárnak. Erős zárványképző hajlama miatt bármilyen oldószerből kristályosították, az oldószer beépült

a kristályrácsba. 17 új zárványszerkezetből⁵ megtörtént a konformációs lehetőségek feltérképezése, a jellemző kölcsönhatások megállapítása. A kristályban a drotaverin molekulák a szoros illeszkedés megvalósulásáért az izokinolin részükkel fordulnak egymás felé, a fenil részek két fő irányban helyezkednek el. A merev molekulák elrendeződése után megmaradt üregekbe kristályosodnak a kis molekulák vagy az oldószer molekulák. A zárványkomplexek közül 9 szerkezet izostrukturális (2. ábra). A szerkezeti ismeretek birtokában sikerült előállítani az oldószermentes formát.

5. Komplex vegyületek

Egykristály röntgendiffrakciós módszerrel bizonyították^{6,7,8}, hogy a 3a ábrán látható Pd(I)-dimer arénszulfonil-azidokkal, benzoil-azidokkal és fenil-azidokkal mutatott reakcióiban a kölcsönhatás minden esetben dinitrogén kilépésével olyan A-vázás komplexek kialakulására vezet, melyekben a nitrénligandum a két palládiumion között hídhelyzetet foglal el. Az orto-helyzetben szubsztituált arénszulfonil-azidok esetében, a szubsztituens növekvő méretével fokozódó mértékben, melléktermék is képződik, melyet spektroszkópiai és röntgendiffrakciós vizsgálatok alapján arénszulfonil-azid komplexként azonosítottak^{6,8} (3b ábra) E vizsgálatok az irodalomban a szulfonil-azid komplexek első ismertetését jelentették. A benzoilnitrén-adduktumok IR- és NMR-spektrumainak értelmezése során arra a következtetésre jutottak, hogy e komplexekben a hídhelyzetű nitrogénatom és a karbonilszénatom közötti kötés parciális kettőskötésnek tekinthető, míg a karbonilcsoport C=O kötése a szokásos értéknél lényegesen hosszabb. A spektroszkópiai vizsgálatok következtetéseit elméleti kémiai számításokkal, és több vegyület esetében krisztallográfiai vizsgálatokkal támasztották alá (3c ábra).

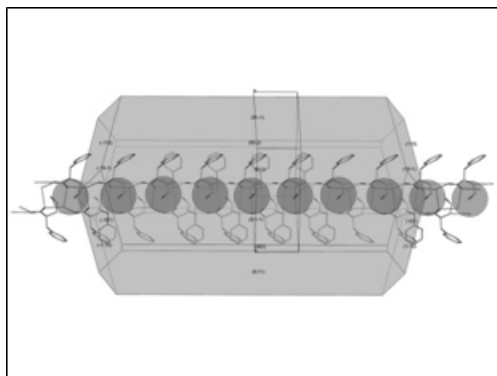


3. Ábra. a) A $[Pd_2Cl_2(dppm)_2]$ komplex képlete (dppm = bis-(difenilfoszfanyl)-metán); b) A $[Pd_2Cl_2(\mu-NSO_2Ar)(dppm)_2]$ azidkomplex molekulászerkezete (Ar = 2,4,6-trisz(izopropil-fenil)-csoport); c) A $[Pd_2Cl_2(\mu-NC(O)Ar)(dppm)_2]$ benzoilnitrén-komplex molekulászerkezete (Ar = 4-metoxi-fenil-csoport).

6. Kiralitás szerepe a kristályosodásban

Enantiomerek elválasztását a racém vegyülettel rokon szerkezetű rezolválószer alkalmazásával végezték⁹. A diasztereomer sóképzéssel végzett rezolválás során azt tapasztalták, hogy a kisebb oldhatóságú, gyorsabban kristályosodó *SS* konfigurációjú sóból szép egykristályok nőttek, míg a nagyobb oldhatóságú *SR* konfigurációjú só esetén a kristálynövekedés radiális irányban gátolt. A szerkezetmeghatározás kimutatta, hogy az első esetben az ionos oszlopokat radiális irányban gyenge, de meghatározó szerepű C-H...O kölcsönhatások tartják össze (4. ábra),

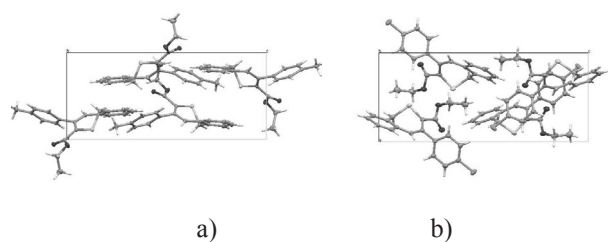
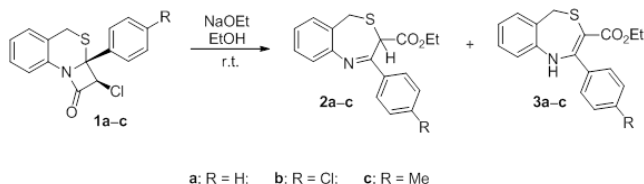
míg a második esetben az N-formilfenilalanin eltérő konfigurációja miatt a hidrofób oszlopok között hidrogén-híd nem tud kialakulni.



4. Ábra. Racém N-formilfenilalanin és (S)-(-)-1-feniletilamin sóképzéssel való részolválása. Az SR termék köteges elrendeződésű, az SS konfigurációjú só tartalmazó egykristályban a molekulaoszlopokat gyenge C-H...O típusú kölcsönhatások tartják össze.

7. Dezmotrópia

Három pár héttagú gyűrűs heterociklusos vegyület annuláris dezmotrópiáját, azaz szilárd fázisban is fennmaradó tautomerizációját, egykristály röntgendiffrakcióval bizonyították.¹⁰ A külön előállítható tautomer formák protonvándorlással jönnek létre (5. ábra). Bár az elemi cella mérete közel azonos, a vegyületek konformációja azonos, a kicsi kémiai különbség miatt a molekulák illeszkedése a kristályrácsban eltérő.

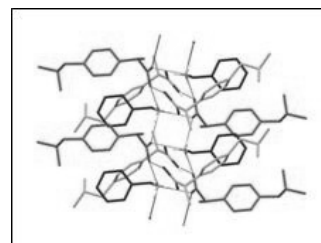


5. Ábra. A 3-etoxikarbonil-2-fenil-4,1-benzotiazepin és annak 2-(4-metilfenil) és 2-(4-klorofenil) származékának tautomerjeit oldatban spektroszkópiai módszerrel azonosították, kristályosítva szétválaszthatók. A héttagú gyűrű konformációja nagyon hasonló a dezmotróp csoporton belül. a) 3b és b) 3c dezmotrópok homomorf elemi cellái alapvetően eltérő szoros illeszkedéssel a kristályrácsban.

8. Kokristály képzés

Az ibuprofén részolválásában akirális additívok hatását vizsgálták¹¹ szuperkritikus extrakcióval. A királis (+)-(R)-feniletilammal kristályosuló (-)-(R)- ill. (+)-(S)-2-(4-izobutilfenil)-propionsav kristályában a só alkotó molekulák oszlopokba rendeződnek. Akirális

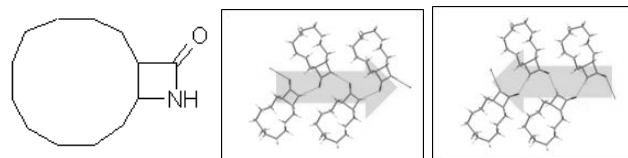
benzilammal kristályosítva azonban az ibuprofén benzilamin sztöchiometriai aránya a kristályban 2 : 1 lesz. A szimmetriacentrum által irányított elrendeződésű racém só oszlopához másodlagos kötéssel még egy semleges ibuprofén is kötődik (6. ábra). Így egy olyan kokristály áll elő, mely egy sóból és egy semleges molekulából áll. Ebben a kokristályban egyszerre található meg az ibuprofén ionos és semleges formája.



6. Ábra. A benzilamin (2-(4-izobutilfenil)-propionát) (2-(4-izobutilfenil)-propionsav kokristály szerkezete. Lila: benzilamin kation, rózsaszín: ibuprofén anion, sárga semleges ibuprofén.

9. Polimorfia

A polimorfia gyakran fellépő jelenség, különösen fontos ipari alkalmazásoknál, ahol követelmény, hogy egy adott polimorfotkapjunk kontrollált és reprodukálható körülmények között. Polimorfia előfordulásakor a kémiailag azonos vegyület kristályrácsai a molekulák kristályrácsban való elhelyezkedésében és / vagy a molekula konformációjában különböznek. A Richter Gedeon gyógyszergyár terméke a Quamatel, famotidin hatóanyagot tartalmaz, mely hisztamin H₂-receptor antagonist, a gyomorsav termelést gátolja. A molekulának szilárd fázisban két konformációja ismert:¹² a nyitott transz konformáció a termodinamikailag stabilabb, a hajtű cisz konformációjú metastabil forma a kinetikailag kedvezőbb. Eltérő molekula konformáció és intermolekuláris kölcsönhatások találhatók az 1,2,3,5-tetra-O-acetil-β-D-ribofuranóz két módosulatában.¹³ Bár az a forma, amelyben a kisebb molekulatér fogatú, a számolt intramolekuláris potenciális energia alapján a stabilabb geometriájú molekula van nagyobb sűrűségű, szorosabb illeszkedésű kristályrácsot alkot; mégis ez az instabil forma, a benne megtalálható taszító intermolekuláris hidrogén...hidrogén kölcsönhatás miatt. A neutrondiffrakcióval meghatározott ribofuranóz származék instabil módosulatának szerkezetében található a mai napig a valaha szerves kristályban talált legrövidebb H...H távolság.

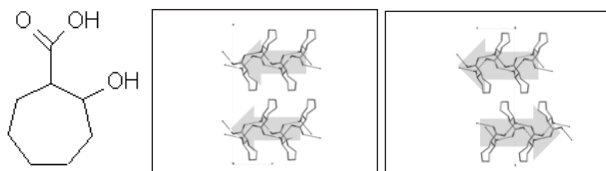


7. ábra A β-laktám származék dimorfjaiban a makrociklus átfordul, a hidrogén kötések iránya ellentétesé válik.

Számos antibiotikum család központi magjának része a β-laktám gyűrű. A (transz-13-azabiciklo[10.2.0]tetradekan-14-one¹⁴ dimorfjainak¹⁴ cellái egyaránt P₂₁/c tércsoportúak, a cellaparaméterek nagyon hasonlóak. A két forma a homokirális láncokban lévő N-H...O hidrogén kötés irányában különbözik (7. ábra), mely azáltal válik

lehetséggé, hogy a molekula egy képzeletbeli kétfogású tengely mentén átfordulva izometrikus marad önmagával.

A transz-2-hidroxicikloheptánkarboxilsav dimorfáját¹⁵ a dipólusok különböző kioltása jellemzi. A két formában azonos cellaparaméterek mellett azonos tércsoportban két szimmetriaművelet felcserélődik ($Pna2_1 \rightarrow Pn2_1a$). A jobban kristályosodó formában a molekuláris rétegek elrendeződése antiparallel (8. ábra). A gyengébb minőségű kristályokat adó másik formában a molekuláris rétegek elrendeződése parallel, csak a domének határfelületén antiparallel. A polimorfia megjelenésének oka a dipólus kioltások különbözősége.



8. Ábra. Dipólus indukálta polimorfia a transz-2-hidroxicikloheptánkarboxilsav kristályaiban.

E két kristály dimorfjai vezettek ahhoz a felfedezéshez, hogy a bennük felismert nem krisztallográfiai (intra-¹⁴ és intermolekuláris¹⁵) forgások azonosak a Kitajgorodszkij által lakonikusan morfotrópiának^{16,17} nevezett jelenséggel. A porfelvételekkel bizonyított polimorfia mellett két dimenzióban izostrukturalitást is mutatnak. Korlátozottan merev (szemirigid) molekulák kis kémiai differenciák mellett gyakran mutatnak hasonló szoros rácsilleszkedést. A jelenséget nevezzük izostrukturalitásnak.¹⁸ Az izostrukturalitás vizsgálata hasznos eszköz a szoros illeszkedés elvének mélyebb megértésére. Az izostrukturalitás matematikailag leírható,^{18,19,20} ezt a kutatócsoport tagjai dolgozták ki. A szerkezeti hasonlóság számítására bevezették a cella hasonlósági, az izostrukturalitási, a molekuláris izometritási^{18,19} és a volumetrikus izostrukturalitási²⁰ indexeket.

10. Morfotrópia

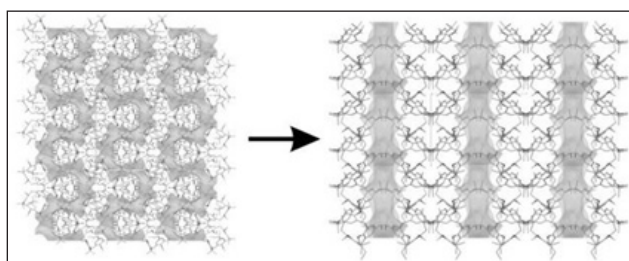
Hasonló kémiai összetételű kristályok lehetnek izostrukturalisak, de a változásoknak van egy határa, amit még a kristályszerkezet tolerálni tud. Az izostrukturalitást mutató kristálysorok a méretbeli különbség növekedésével, a legszorosabb illeszkedés fenntartása érdekében - amennyiben a molekulák szabad belső rotációval nem rendelkeznek - a morfotrópiának nevezett jelenséget mutatják.¹⁶ Amikor több molekuláris változást már nem bír el a kristályszerkezet, akkor megváltozik a molekulák elrendeződése a rácsban. Előfordul, hogy illeszkedési motívumok megmaradnak, de ezek elmozdulnak egymáshoz képest. Az illeszkedési motívumokat gyakran nem-krisztallográfiai szimmetriák (forgás vagy transláció) kapcsolják össze. Ez a morfotrópia jelensége, a kapcsolat az izostrukturalitás és a polimorfia között. A morfotrópia mibenlétét illetően feltárt ellentmondásokat kutatócsoportunk tisztázta.¹⁷

11. Az intermolekuláris kölcsönhatások finomhangolása

A kémiai munka során gyakran válik szükségessé megkívánt tulajdonságú új anyagok előállítására. Ezt a

szerkezeti tulajdonságok finomhangolásával érhetjük el. Ezt nevezzük kristálymérnökségnek, vagy elterjedt angol nevén crystal engineeringnek. Ehhez meg kell ismerni és tudatosan befolyásolni az intermolekuláris kölcsönhatásokat és a krisztallográfiai szimmetriákat. Minél több szupramolekuláris kémiai információ birtokában vagyunk, annál közelebb kerülünk a valódi kristálymérnökséghez.

Az intermolekuláris kölcsönhatások finomhangolását valósítottuk meg^{21,22,23} kalixarén zárványvegyületek esetén vagy a vendégmolekula cseréjével vagy a gazdamolekula laterális szubsztituensének változtatásával. Sikerteljes szerkezeti példákat találni arra az esetre, amikor elsődlegesen a sztérikus és amikor elsődlegesen az elektrosztatikus kölcsönhatások határozzák meg a kristályban a molekulák elrendeződését. A szerkezeti ismeretek birtokában, a sztérikus és elektrosztatikus kölcsönhatások óvatos összehangolásával a zárványvegyületben lévő csatornák alakját tudtuk megváltoztatni (9. ábra), mintha lélegezne a kristály.



9. Ábra. Laterálisan nem ill. monoszubsztituált tetra-*terc*-butiltetrametoxikalix[4]arén illeszkedési mintázata a kristályban a szerpentin alakú ill. a kiegyenesített csatornákkal.

A kalixarének zárványkomplexei az első példa a másodlagos kölcsönhatások által kiváltott, szupramolekuláris morfotrópiára^{24,25}. A másodlagos kölcsönhatások finomhangolására, és ezáltal a kristály felépítésének módosítására a crystal engineering analógiájára a synthon engineering kifejezést vezettük be²³.

12. Zárszó

Az évszázadok alatt felgyűlt ismeretek, a kristály rácyszerkezetének elméleti elgondolása, valamint a röntgensugárzás felfedezése vezetett el a direkt sugár környezetének, a gyenge diffraktált sugárzásnak a vizsgálatához. A Krisztallográfia Nemzetközi Éve kapcsán a száz évvel ezelőtti tudományos felfedezések, és az azóta eltelt időben a diffrakció jelenségének felhasználásával elért eredmények előtt tisztelgünk. A szilárd kristályokat felépítő atomok, ionok, kisebb és nagyobb molekulák létezése számokban kifejezhető egzakt ismeretté vált. Ezek az ismeretek megváltoztatták az emberiségnek az anyagi világról alkotott képét. Minél több szerkezeti kémiai adatot gyűjtünk össze, a molekulákat és a molekulák közötti kölcsönhatásokat minél jobban megismerjük, minél több szupramolekuláris kémiai információ birtokában vagyunk, annál közelebb kerülünk a valódi, tudatos kristály mérnökséghez. A szerkezeti tulajdonságok finomhangolása segítségével válik lehetővé megkívánt tulajdonságú új anyagok előállítása.

Köszönetnyilvánítás

A szerző köszönetét fejezi ki az OTKA (100801) támogatásáért.

Hivatkozások

- Czugler, M.; Kudar, V.; Holczbauer, T.; Csámpai, A.; Gyömöre, A. In Holczbauer, T. Ph.D. Dissertation, Budapest University of Technology and Economics, **2014**.
- Czugler, M.; Pinter, I. *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 1610-1616.
- Dorko, E.; Varga, E.; Gati, T.; Holczbauer, T.; Mehdi, H.; Soos, T. *SYNLETT* **2014**, *25*, 1525-1528.
- Varga, S.; Jakab, G.; Drahos, L.; Holczbauer, T.; Czugler, M.; Soos, T. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5416-5419.
- Czugler, M.; Holczbauer, T.; Szabó, M.; Simon, K. In Holczbauer, T. Ph.D. Dissertation, Budapest University of Technology and Economics, **2014**.
- Foch, I.; Párkányi, L.; Besenyei, G.; Simándi, L. I.; Kálmán, A. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1999**, 293-299.
- Besenyei, G.; Párkányi, L.; Szalontai, G.; Holly, S.; Pápai, I.; Keresztury, G.; Nagy, A. *Dalton Trans.* **2004**, 2041-2050.
- Besenyei, G.; Párkányi, L.; Foch, I.; Simándi, L. I. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2000**, *39*, 956-958.
- Berezcki, L.; Pálovics, E.; Bombicz, P.; Pokol, G.; Fogassy E.; Marthi, K. *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 260-264.
- Holczbauer, T.; Fabian, L.; Csomos, P.; Fodor, L.; Kalman, A. *CrystEngComm*, **2010**, *12*(6), 1712-1717.
- Molnár, P.; Bombicz, P.; Varga, C.; Berezcki, L.; Székely, E.; Pokol, G.; Fogassy, E.; Simándi, B. *Chirality* **2009**, *21*, 628-636.
- Ferenczy, G.G.; Párkányi, L.; Ángyán, J.G.; Kálmán, A.; Hegedűs, B. *J. Mol. Struct.: Theochem*, **2003**, *503*, 73-79.
- Bombicz, P.; Czugler, M.; Tellgren, R.; Kálmán, A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2003**, *17*, 1957-1960.
- Fábián, L.; Kálmán, A.; Argay, G.; Bernáth, G.; Gyarmati, Z. C. *Chem. Commun.* **2004**, 2114-2115.
- Kálmán, A.; Fábián, L.; Argay, G.; Bernáth, G.; Gyarmati, Z. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 34-35.
- Kálmán, A. *Acta Crystallogr.*, **2005**, *B61*, 536-547.
- Kálmán, A.; Fábián, L. *Acta Crystallogr.*, **2007**, *B63*, 411-417.
- Kálmán, A.; Párkányi, L.; Argay, G. *Acta Crystallogr.* **1993**, *B49*, 1039-1049.
- Kálmán, A.; Párkányi, L. In *Advances in Molecular Structure Research*, Hargittai, M.; Hargittai, I., Eds.; JAI Press Inc. Greenwich, Conn. **1997**, Vol.3, pp 189-226.
- Fábián, L.; Kálmán, A. *Acta Crystallogr.* **1999**, *B55*, 1099-1108.
- Fischer, C.; Lin, G.; Bombicz, P.; Seichter, W.; Weber, E. *Struct. Chem.* **2011**, *22*, 433-439.
- Fischer, C.; Bombicz, P.; Seichter, W.; Katsch, F.; Weber, E. *Cryst. Growth Des.*, **2012**, *12*, 2445-2454.
- Bombicz, P.; Gruber, T.; Fischer, C.; Weber, E.; Kálmán, A. *CrystEngComm*, **2014**, *16*, 3646-3654. (cover page, highlight)
- Gruber, T.; Weber, E.; Seichter, W.; Bombicz, P.; Csöreg, I. *Supramolec. Chem.*, **2006**, *18*, 537-547.
- Gruber, T.; Fischer, C.; Seichter, W.; Bombicz, P.; Weber, E. *CrystEngComm*, **2011**, *13*, 1422-1431.

Chemical crystallography: crystal architecture

The Research Group of Chemical Crystallography of the Research Centre for Natural Sciences (former Chemical Research Center) of the Hungarian Academy of Sciences was founded in 1956. The main field of interest of the group is based on small molecule single crystal X-ray diffraction with the aim to gain structural chemical information in the solid state. The knowledge of the molecular structure and the intermolecular interactions in the crystal, e.g. the packing arrangement makes possible to perform crystal engineering. Fine tuning of crystal architecture by chemical change or by alteration of the supramolecular interactions brings us closer to the goal to prepare new materials with desired properties. It requires the understanding of the relationship between structure and macroscopic properties.

This paper presents some examples on chemical crystallography from the work of the last years of the research group. It starts with challenges of crystallization which is the battle neck of the method. The investigated compounds are organic, organometallic and complex compounds. The presented crystals are single- or multicomponent systems, the molecules are often chiral, occasionally desmotropes (tautomer polymorphs). The listed studies are on substituent effects, drug recognition, structure correlation and on reaction pathways. Morphotropy, the link between isostructurality and polymorphy is described. Sensitively spatially and electrostatically fine-tuned systems are shown where the crystal architecture e.g. structural arrangement and intermolecular interactions are adjusted. The fine tuning requires the recognition, understanding and application of intermolecular interactions, crystallographic and in case of occurrence, non-crystallographic symmetries.

A preventív DNS-hibajavítás szerkezeti biológiája

VÉRTESSY G. Beáta^{a,b,*}

^aAlkalmazott Biotechnológiai és Élelmiszertudományi Tanszék, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szt Gellért tér 4, 1111 Budapest, Magyarország

^bMTA Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet, Magyar Tudósok körútja 2, 1117 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

Idén ünnepeljük a Krisztallográfia Nemzetközi Évét. A jubileumi dátum ahhoz a nagyjelentőségű megfigyeléshez kötődik, amit Sir William Henry Bragg és Sir William Lawrence Bragg az 1910-es években tett. Korábban Max von Laue kimutatta, hogy a Wilhelm Conrad Röntgen által felfedezett sugárzás réz-szulfát kristályokon fizikailag a szerkezettel összefüggően értelmezhető diffrakciós képet nyújt, mivel a röntgensugárzás hullámhossza összemérhető a kémiai kötésben lévő atomok közti távolságokkal. W. L. Bragg ezen összefüggés rendkívül elegáns és egyszerű matematikai leírását adta, W. H. Bragg megépítette az első röntgen-fotométert (a mai diffraktométerek/szinkrotronok őst), és ezzel meghatározták a kősó, majd a gyémánt térszerkezetét. Ezen felfedezések jelentőségét szinte azonnal felismerve, 1914-ben Laue, 1915-ben a két Bragg (apa és fia) Nobel-díjban részesült (a fiatalabb Bragg ekkor 25 éves volt!).

A makromolekuláris szerkezetmeghatározás terén ezek után jó negyven évet kellett várni arra, hogy az első fehérjeszerkezetet meghatározzák (mioglobin, John Kendrew, 1958, Nobel díj 1962). Kicsit korábban, 1953-ban került közlésre a hipotézis a DNS térszerkezeti modelljéről (Rosalind Franklin adatai alapján Francis Crick és James Watson tollából). Ma a makromolekuláris térszerkezeteket tároló adatbázis százezernél is több fehérje és komplex szerkezetét tárolja, és havonta hozzávetőlegesen 1000 új szerkezet kerül - szigorú ellenőrzés - után az adattárba (Protein Data Bank). A szerkezetmeghatározások robbanásszerű gyorsulásának több lényegi oka van, ezek között a két legfontosabb: a szerkezetmeghatározási módszerek matematikai és fizikai fejlődése és a vizsgálandó objektumok géntechnológiai előállításának egyre hatékonyabb lehetősége. A legutóbbi Nobel díjat ezen a téren 2012-ben a kis G-fehérjékkel kapcsolt receptorok térszerkezetének feltárásáért adták (Robert Lefkowitz és Brian Kobilka), továbbá a tavalyi kémiai Nobel díj (kvantummechanika és molekuláris dinamika, Karplus-Levitt-Warshel) is szorosan kötődik a röntgenkrisztallográfiához.

Napjainkban a szerkezetek felderítéséből származó tudás felbecsülhetetlen hasznot hoz a biológiai felderítő kutatásokban és a molekuláris mechanizmusok megértésében. A biológiai egyedekben és közösségekben (a mikrobiálistól a gerincesekig) megvalósuló jelátvitel, ingerületátvitel, kommunikáció alapjait is ilyen szerkezetek révén érthetjük meg, és a megértés révén céljainknak megfelelően befolyásolhatjuk. A térszerkezeti információ nélkülözhetetlen a gyógyszertervezésben, a biotechnológiában, a nano-tudományokban és

fejlesztésekben egyaránt. Saját kutatócsoportom a dUTPáz enzimcsalád egyes komplexeinek szerkezeti leírásával a genom integritás folyamatainak megértésén dolgozik. Eredményeink mind rákellenes, mind anti-mikrobiális gyógyszerek tervezésében fontosak.

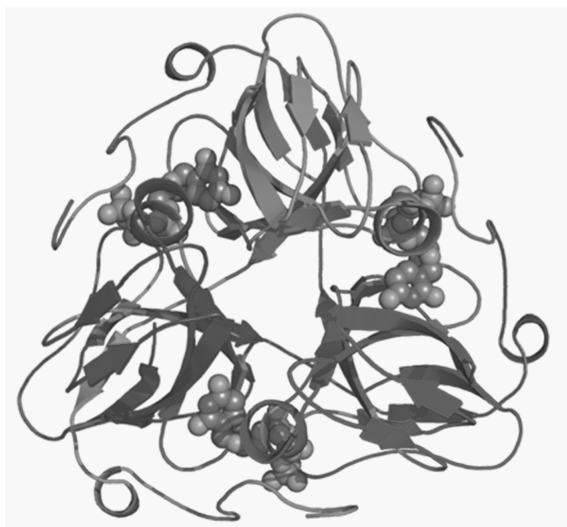
2. A dUTPáz enzimcsalád szerepe a genom integritás fenntartásában

Az élő szervezetek sejtjeiben a genetikai információját tárolásáért a DNS felelős. Egy információtároló eszköztől elvárható lenne, hogy a rábizott adatokat hűen őrizze. Sajnos, a DNS távolról sem felel meg ennek a kívánalomnak, mivel inherens kémiai reaktivitása a sejtbeli körülmények között percnként több olyan reakcióhoz vezet, ahol az információ tárolásáért felelős bázisok átalakulnak, vagy más módon (pl. a dezoxiribóz gyűrű felhasadásával vagy a foszfodiészter lánc felszakadásával) sérül a DNS kovalens szerkezete. Ezen nagyfokú változékonyság korlátok közé szorítását a DNS hibafelismerő és javító mechanizmusok végzik. A DNS-javító útvonalak nem megfelelő működése a genom instabilitásához, és ezen keresztül rákos elváltozásokhoz vezethet.

Az egyik leggyakoribb DNS-beli hiba az uracil megjelenése a DNS-ben. A citozin hidrolitikus dezaminálása során uracil jön létre, ami pontmutációhoz vezet. Az uracil egy másik módon is megjelenhet a DNS-ben: ha a sejtbeli dUTP szint megemelkedik és összemérhetővé válik a dTTP szinttel, akkor a DNS polimeráz adeninnel szemben uracilt is be tud építeni. A DNS-beli uracilt a bázis kivágási javító mechanizmus tudja eltávolítani, ami több lépésne keresztül helyre tudja állítani az eredeti, uracil-mentes és mutációmentes DNS-t.¹ Ha azonban a sejtbeli dUTP/dTTP arány tartósan magas, akkor a DNS-beli uracilok aránya nagyon megnövekedhet, és a javító mechanizmus kapacitása kimerülhet. Ilyen körülmények között a DNS kettősszál töréseket szenvedhet, a kromoszómák fragmentálódása pedig sejtthalálhoz vezethet. A dUTP/dTTP nukleotidszintek helyes fenntartásáért a dUTPáz enzimcsalád a felelős felel, amely tehát jelentős szerepet játszik a genom épségének fenntartásában. A dUTPáz enzim a dUTP → dUMP + PP_i reakciót katalizálja, így elbontja a sejtbeli dUTP-t, ezzel megakadályozza az uracil DNS-be való beépülését. A reakció terméke, a dUMP a dTTP szintézis kiinduló anyaga: a timidilát szintáz enzim katalizálja az uracil gyűrű metilezését, így a dTMP keletkezését és a dTMP aztán dTTP-ve foszforilálódik. A dUTPáz tehát egyrészt a dUTP szint csökkentésével, másrészt a dTTP szintézis elősegítésével állítja be a megfelelően alacsony dUTP/dTTP arányt.

* Főszerző. Tel.: +361 3826707, +361 463 1401; fax: +361 ; e-mail: vertessy@mail.bme.hu, vertessy.beata@ttk.mta.hu

A dUTPáz enzim genom integritásában betöltött védőfaktor szerepét a rákos sejtek is „kihasználják”, több esetben megfigyelhető, hogy rákos szövetekben a dUTPáz szintje megemelkedik, és a magas dUTPáz szint a tumorok rossz prognózisával társítható.^{2,3} Ezért nagyjelentőségű a dUTPáz ellenes inhibitorok fejlesztése, amivel a rákos sejtek életképességét csökkenteni lehet.⁴ Ezen túlmenően, a dUTPáz ellenes inhibitorok számos patogén mikroorganizmus (pl a tüdővész és a malária kórokozói) ellen is jelentős új gyógyszerjelölt molekulákat eredményezhetnek.^{1,5-8} Az inhibitorok tervezéséhez a dUTPáz szerkezetét és működési mechanizmusát kell megismernünk. Az 1. Ábra mutatja a dUTPázokra leginkább jellemző homotrimer szerkezetet, amelyet egykristály röntgendiffrakcióval határoztunk meg.^{9,10}



1. Ábra. A homotrimer dUTPáz enzim térszerkezete. Az egyes alegységek szalagmodellje (kék, sárga, zöld) jól mutatja a trimer szoros szerkezetét. A három aktív centrum helyét az odakötött szubsztrát (dUTP analóg) jelzi (atomi színézésű térkitöltő modell, N: kék, O: piros, C: szürke, P: narancs)

Az enzimatis reakciómechanizmus megértéséhez elengedhetetlen az egyes elemi lépések pontos jellemzése. Ehhez a reakcióút előrehaladását röntgenkristallográfiai „pillanatfelvételekkel” sikerült követnünk, melynek során jellemezni tudtuk az egyes intermedierek szerkezetét. Az intermedierek inhibitor jelölt molekulák tervezéséhez

nyújtanak fontos információt. Az intermedierek ilyen jellegű azonosítását az teszi lehetővé, hogy az enzimfehérje kristályos fázisában is képes katalizisra, csak jelentősen lelassult módon. A lassított felvétel képeit a kristályosított enzim-szubsztrát komplex különböző időpontokban történő röntgendiffrakciós szerkezeteiből nyertük. Következtéseinket számításon útton, QM/MM módszerrel is igazoltuk.¹¹

Köszönetnyilvánítás

Kutatásainkat az OTKA NK84008 és K 109486 pályázatai támogatták.

Hivatkozások

1. Vertessy, B.G.; Toth, J. *Acc Chem Res.* **2009**, *42*, 97-106.
2. Wilson, P.M.; Ladner, R.D.; Lenz, H.J. *Gastrointest Cancer Res.* **2007**, *1*, 237-46.
3. Peters, G.J. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2014**, *33*, 358-74.
4. Saito, K. et al. *Cancer Chemother Pharmacol* **2014**, *73*, 577-83.
5. Szabo, J.E. et al., Highly potent dUTPase inhibition by a bacterial repressor protein reveals a novel mechanism for gene expression control. *Nucleic Acids Res.* **2014**.
6. Peesi, I. et al. *PLoS One* **2012**, *7*, e37461.
7. Horvati, K. et al. *Bioconjug Chem.* **2012**, *23*, 900.
8. Whittingham, J.L. et al. *Structure* **2005**, *13*, 329-38.
9. Peesi, I. et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2011**, *108*, 14437-42.
10. Barabas, O. et al. *J Biol Chem* **2004**, *279*, 42907-15.
11. Barabas, O. et al. *Nucleic Acids Res.* **2013**, *41*, 10542.

Structural Biology of Preventive DNA repair

The International Year of Crystallography celebrates the 100th year anniversary of the discovery of Bragg's law. Crystallography of macromolecules and their complexes presents a highly useful and quite indispensable method to gain structural and functional information for drug design. Our group works towards understanding the mechanistic details of preventive DNA repair using protein crystallography, in combination with other techniques of structural cell biology. The enzyme family of dUTPases play a crucial role in maintaining genome integrity and these enzymes present a promising novel target for drug design against tumors and infectious pathogens. Our results led to a detailed description of dUTPase mechanism, providing the key information required for inhibitor design.

Imre Lajos (1900 - 1974)*

KÓNYA József** és M. NAGY Noémi

Debreceni Egyetem Kolloid- és Környezetkémiai Tanszék, Izotóplaboratórium, Egyetem tér 1. 4032 Debrecen, Magyarország

“Keress olyan mestert, akinek szelleme világos, tudása nagy és szíve jó...”

1. Bevezetés

A negyven éve eltávozott a mester, Imre Lajos, ilyen ember volt, és ő is ilyen mestert keresett magának Otto Hahn személyében.

Megemlékező cikkünkben felidézzük kivételes egyéniségét egy kivételesen nehéz korban. Életével, munkásságával részletesen foglalkozik A magyar tudomány és technika nagyjai című CD-sorozat egyik kiváló alkotása,¹ melyet szívesen ajánlunk az olvasók figyelmébe.

2. Életének főbb állomásai

A 19. század utolsó évében, 1900. március 21-én született Lítken (Nógrád megye) hétgyerekes család hatodik gyermekeként. Ez a születési dátum arra ítélte, hogy a 20. század minden viharát, változásait felnőtt fejjel érje meg. Apja ahhoz a generációhoz tartozott, akik Amerikában (USA) próbáltak pénzt szerezni és életük minőségét javítani. E kor Egyesült Államokban munkát kereső magyarjairól Oravecz Imre írónk számol be könyvében.² Ezeknek az embereknek jellemzően két útja volt: vagy meg tudták teremteni egzisztenciájukat ott, de mindig haza akartak jönni, ám ez ezt egyre halogatták, végül maradtak és asszimilálódtak. A másik út, hogy balesetet szenvedtek és rokkantan jöttek haza. Imre Lajos édesapjának útja ez utóbbi volt, így a család szegény maradt.

Elemi iskolai tanulmányait (6 osztály) a helyi iskolában végezte, a „Végbizonyítvány” szerint mind a 16 tárgyból kitűnő eredménnyel. Apja azt szerette volna, ha dolgozni megy és segít a család eltartásában, azonban tanítójának rábeszélésére tanulmányait tovább folytatta a Losonci Állami Főgimnáziumban. 1918-ban sikeres érettségi vizsgát tett, melyet a kötelező tárgyak mellett görög nyelvvel és irodalommal egészített ki. Az érettségi vizsgának ez az időpontja azt mutatja, hogy az első két gimnáziumi osztályból különbözeti vizsgát tett és töretlenül folytatta tanulmányait. Érettségi letétele után rögtön bevonult katonai szolgálatra és 1919-ben hadapródjelölt őrmesterként szerelt le.

Életének erről a szakaszáról Imre Lajos a helyi újságban, a Hajdú-bihari Naplóban, így számol be: „Nógrád-megyei zsellércsaládból származom. Apám Salgótarjánban volt bányász, majd a „másfélmillió” nincstelennel ő is útra kelt a remények Amerikájába. Ott munkaképtelenné vált; a kevéske pénzt, amit hazatértekor magával hozott, szüleim bankba rakták szaporodni. Ám jött az első világháború,

és mi koldusbotra jutottunk. Engem a tanítóm unszolására a losonci gimnáziumba adtak, apám nagy bosszúságára, hiszen azt szerette volna szegény, ha őt segítem otthon, ha fizikai munkát végzek. A gimnáziumban nehezen birkóztam az étellel. Akkoriban az úgynevezett „egyenlő lebegésű” kiképzés folyt az iskolákban, az volt a cél, hogy mindenki megszerezze az általános műveltséget, mindenhez egyformán értsen – s nekem bizony kitűnőnek kellett lennem, ha nem akartam, hogy visszavigyenek a faluba.”

Ezután következtek az egyetemi évek, amikor a tanulás mellett életfeltételeit is biztosítani kellett. Gépészmérnök hallgatónak iratkozott be a József Nádor Műegyetemre. Azonban hamarosan be kellett látnia, hogy az egyetemi tanulmányok mellett nem tudja megélhetését fedezni, ezért egyetemet kellett változtatnia. Tanulmányait a Pázmány Péter Tudományegyetem matematika-fizika szakán folytatta, mely akkor a Bölcsészettudományi Karhoz tartozott. Harmadéves volt, amikor kedvet kapott a kémiához, s így ezt a szakot is felvette. A középiskolai tanári képesítő vizsgán magyar nyelv és irodalomból, továbbá mennyiségtanból *disceretes*, természettanból *kitűnő* alapvizsgát, mennyiségtanból és természettanból pedig *disceretes* szakvizsgát tett. 1925. június 16-án abszolvált, 1926. májusában szerezte meg a középiskolai tanári oklevelét matematikából, fizikából és kémiából.

A mai olvasónak különösen hangzik, hogy még a tanári diploma megszerzése előtt, 1926. januárjában ledoktorált *summa cum laude* minősítéssel. Főtárgyként a kémiát, melléktárgyként a matematikát és a kísérleti fizikát választotta. Értekezésének címe: Adatok az actinium kémiájához. 1928. február 4-én *Sub auspiciis Gubernatoris* (Kormányzógyűlés doktor) megtisztelő címmel avatták doktorrá Bay Zoltánnal együtt. A doktoravatás időpontja éppen a *Sub auspiciis Gubernatoris* cím miatt tolódott két évet. A három szakos tanári diplomája és a doktori címe mellett, ahogy ezt ő maga mesélte, a vegyészmérnöki diplomához szükséges valamennyi tárgyat is teljesítette.

Az egyetemi tanulmányok befejeztével és a doktori cím megszerzésével Imre Lajos élete cseppet sem lett könnyebb. 1924. szeptember 1-től megbízott tanársegédként Weszelszky Gyula egyetemi magántanár irányításával dolgozott abban a kis laboratóriumban, melyet még Eötvös Lóránd alapított. Egészen 1937-ig volt tanársegéd, előléptetése annak ellenére egyre késett, hogy közben három évet (1928-1931) töltött állami ösztöndíjjal Berlin-Dahlemben, a Kaiser Wilhelm Institute für Chemie-ben Otto Hahn mellett,³ majd 1935-ben

* Imre Lajos halálának 40. évfordulója alkalmából

** Főszerző. Tel/fax: 36(52)512900/22263; e-mail: konya.jozsef@science.unideb.hu

habilitált. Nemzetközi elismertségét jól jellemzik Hevesy György 1933-ban kelt sorai: „Nem tudom, mi a csodálatosabb, az, hogy ezeket a nehéz kérdéseket egyáltalán fel tudta tenni, vagy azok a szép eredmények, amelyeket elért...” (fordítás: a szerzők). Ugyancsak fontos állomás, amikor Otto Hahn 1932-ben meghívta a következő évi Bunsengesellschaft kongresszusra, ahol Imre Lajos olyan kutatókkal együtt adhatott elő az adszorpció témakörében, mint Rutherford, Geiger, Lisa Meitner, Paneth, Hahn és Hevesy.

1938-ban adjunktussá, 1939-ben pedig intézeti tanárrá nevezik ki. 1943-ban Kolozsváron lesz egyetemi tanár, ahonnan 1949-ben a Vallás- és Közoktatásügyi Minisztérium hívására tér vissza Magyarországra. 1950. február 23-án az akkori Debreceni Tudományegyetemen tesz hivatali esküt. Feladata a Fizikai Kémiai Intézet megszervezése.

Habár Imre Lajos már 1939-től különböző magyar egyetemek professzora volt, a szocialista tudományos minősítési rendszer keretében 1952-ben csak a kémiai tudományok kandidátusává minősítették, amelyben valószínűleg közrejátszott a kor nagy fiziko-kémikusai, Erdey-Grúz Tibor, Schay Géza és Imre Lajos közötti személyes feszültség, amely még berlini éveikből eredt. 1955-ben Schay Géza, Szabó Zoltán és Szalay Sándor akadémikus opponensek véleménye alapján egyszerűsített eljárással, nyilvános védés nélkül, a kémiai tudományok doktorává nyilvánítták.

Az ötvenes évekre Imre professzor olyan nemzetközi és hazai tekintélyre tett szert a radiokémia területén, hogy nélküle elképzelhetetlen volt bármilyen monográfiát írni anélkül, hogy munkáira hivatkozzanak (Haisinssky, Starik). Munkásságát kiemelten elismerték az orosz radiokémikusok. Ezt mutatta, hogy 1959-ben részt vett a Szovjetunióban a dubnai kutatóközpont munkatervének kidolgozásában. A munkában a szocialista országok és Kína atomkutatói vettek részt. A kínaiak után a szovjet kutatók először mindig Imre Lajos véleményét kérték ki az adott kérdéstről, ezzel megadva a hozzászólások alaphangját. A szerzők egyikének (KJ) személyes élménye volt 1974 nyarán a moszkvai Karpov Intézet radiokémiai szemináriumán tett látogatása, ahol, mint Imre Lajos munkatársát, szakmai tekintélyét messze meghaladó figyelemben részesítették véleményét.

Magyarországon, a Központi Fizikai Kutató Intézetben meginduló izotóptermelés egyik fő irányítója volt. Munkásságának kiterjesztését segítő épült a Kossuth Lajos Tudományegyetem Izotóplaboratóriuma, amelyet 1960-ban adtak át és ötven éven át szolgálta a hazai nukleáris oktatást és kutatást. 1968-ig a Fizikai Kémiai Tanszék és az Izotóplaboratóriumot is vezette, majd 1968-70 között a tanszéki jogállású Izotóplaboratórium vezetője lett. Nyugdíjba vonulása után is minden nap dolgozott. Aktívan részt vett a Laboratórium munkájában egészen 1974 szeptemberében bekövetkezett haláláig.

3. Tudományos munkássága

3.1. Kezdeti évek

Tudományos munkásságának kezdeti szakaszában az aktínium és a cérium elemek kémiájával foglalkozott,

ezzel kapcsolatos extrakciós problémákat oldott meg.⁴⁻⁶ E területen kapott eredményeit a kémiai szakirodalom évtizedekig idézte és ma is számon tartja. A ²²⁷Th (akkori nevén radioaktínium) előállítására dolgozott ki extrakciós eljárást, az előállított készítmény bomlássebességi állandóját 0,0365 nap⁻¹-nek találta. Ezt az adatot a nemzetközi Radium Standard Komissio is elfogadta, és 1931-ben kiadott jelentésében, mint a radioaktínium bomlássebességi állandóját említi.^{6,7} Az általa meghatározott sebességi állandó értéke alig tér el a ma elfogadott értéktől (0,037 nap⁻¹).

Ezen első munkája kapcsán rögtön szembekerült az ún. hordozómentes izotópok kémiai viselkedésének problémájával, mely azután élete végéig elkísérte és mai is fontos kutatási területe a radioaktív izotópokkal való munkának (pl. a radioaktív hulladékok elhelyezése kapcsán). Az ultrahíg oldatokban (hordozómentes radioaktív izotópok oldatai) megfigyelhető rendellenességek vizsgálatával Imre Lajos nagyon nehéz kutatási területet választott, hiszen a nagyon híg oldatok viselkedésének problémája még ma sem teljesen megoldott.

3.2. Adszorpciós kutatások Berlinben és Budapesten

A Berlin-Dahlemben, Otto Hahn professzor mellett töltött időszak rendkívül gazdag volt alapvető tudományos eredményekben és a későbbi évekre adott útravalóban. Ez az intézet az egyik legalkalmasabb kutatóhely volt a hordozómentes radioaktív izotópok viselkedésének vizsgálatára, beleértve az elegykristály-képződést és az adszorpciós folyamatokat.⁸⁻¹⁴

Imre Lajos berlini intézetben töltött éveire Otto Hahn tudományos önéletrajzában³ így emlékezik vissza: „Az adszorpciós törvény eredményeivel és következtetéseivel kapcsolatban Imre Lajossal további tüzetes vizsgálatokat végeztünk. Ezek a kutatások azt mutatták, hogy az ionadszorpció és a kolloid-adszorpció között elvi különbség van. Ezek az eredmények elvezettek az adszorpciós törvény érvényességének kiterjesztéséhez a rosszul oldható vegyületek irányába, valamint rámutattak az erősen és gyengén poláros kristályrácsokon történő adszorpció közötti különbségre.”

A berlin-dahlemi évek első dolgozatát⁸ Imre Otto Hahnmal közösen írta. A közlemény jelentős részben azokkal a kritikai észrevételekkel foglalkozott, amelyeket Fajans 1926-ban a Hahn-féle kicsapódási és adszorpciós szabályokkal szemben tett. A szerzők kísérleteik alapján rámutattak a régi Paneth-Fajans-féle szabály hiányosságaira. Hangsúlyozták, hogy a radioaktív anyagoknak nagyobb mennyiségű idegen csapadékokkal szemben mutatott viselkedése szempontjából különbséget kell tenni elegykristály-képződés és adszorpció között. Arra nézve, hogy adott esetben a két folyamat közül melyik játszódik le, a szerzők kvalitatív értelemben továbbra is fenntartották Hahnak azt az 1926-os feltevését, amely szerint valamely „végtelen” kis koncentrációban jelenlévő ion jól kristályosodó, makroszkópos mennyiségű csapadékkal csak akkor válik ki oldatából, ha az illető csapadékkal elegykristályt alkothat. Ha ez a feltétel nem teljesül, akkor a csapadék a kérdéses iont csak a felületén kötheti meg, de azt is csak abban az esetben, ha

a felületnek az illető ionéval ellentétes elektromos töltése van. A dolgozat egyik legjelentősebb megállapítása, hogy az ionadszorpció jelenségénél az adszorbeáló kristály poláros természetének is rendkívül jelentős szerepe van. E két tétel helyességét Fajans kétségbe vonta.

Dolgozatukban rámutattak arra is, hogy a radioaktív anyagok bizonyos körülmények között nemcsak mint ionok, hanem mint radiokolloidok is adszorbeálódhatnak a különböző felületeken.

Imre Lajos ezt követően kezdte meg az elektrolit-oldatokkal érintkező kristályos felületeken lezajló folyamatokra vonatkozó rendszeres kvantitatív vizsgálatait radioaktív mérőmódszerek segítségével.⁹ Ez a kutatási terület élete végéig érdekelte, s egyre kimagaslóbb eredményeket ért el. Feleletet keresett arra a kérdésre, hogy a kis mennyiségű radioaktív anyagok mennyire alkalmasak nyomjelzésre, vagyis valamely kémiai folyamat lezajlása követhető-e kvantitatív módon az abban résztvevő radioaktív anyag sugárzásának mérésével.

Első ilyen vizsgálatainál főként olyan módszereket keresett, amelyekkel a fázisképződés bonyolult folyamatát elemi reakciókra lehet felbontani. Az elemi folyamatokat az azokban résztvevő ionok vagy molekulák természetével igyekezett kapcsolatba hozni. Ily módon általános érvényű feleletet lehetett adni arra a kérdésre, hogy egyes ionok vagy molekulák adott esetben milyen viselkedést fognak mutatni bizonyos határfelületekkel, illetőleg a felületek egymásra halmozódása útján létesülő kristályhalmazokkal szemben.

Ezekre a vizsgálatokra, illetve Imre négy közleményére⁸⁻¹¹ hivatkozva Kolthoff általános szabályba foglalta az ionvegyérték szerepét az ionadszorpcióra és az együtteválásra vonatkozó elméleti megfontolásaiban. Ugyancsak Imre Lajosnak e megfigyelései nyújtottak alapot a Hahn-féle emanáló radioaktív készítmények emanáló tulajdonságának értelmezéséhez, illetőleg az előállításnál szerepet játszó tényezők tudatos kiválasztásához.

Imre^{12,13} következetesen és matematikai értelemben is szigorúan kifejti azt a nézetét, hogy a szilárd kristályfelületeken lejátszódó, gyakran igen bonyolult elektrolit-adszorpció jelenségeket általában úgy kell tekintenünk, mint elemi ionreakciók egymásutánját, amelyek végeredménye sok esetben elegykristályképződés, legalábbis a külső kristályrétegekben. Megállapította, hogy az ionadszorpció lassú részlépése két monomolekuláris reakcióra bontható. Ezeket a következő ún. „adszorpció-fokozatokként” írta le:

1) Az első fokozat az ionnak a felületre való közvetlen ráhelyeződése, amely a könnyen oldható ionoknál nagyrészt még hidratált, a nehezen oldható ionok esetében többé-kevésbé dehidratált állapotban történik. Ez a szűkebb értelemben vett adszorpció, mely rendszerint igen gyors.

2) A második fokozatban az adszorbeáló finom kristálypor átkristályosodása közben az adszorbeált ion körül új felület alakul ki, így az adszorbeált ion erősebben kötődik az adszorbenshez.

3) Az átkristályosodás folytán az adszorbeált ion tartalmazó kristályfelület fölé újabb felületrétegek rakódhatnak, ezáltal az adszorbeált ion lassan, néhány ionrétegnyi mélységig bejuthat az adszorbeáló kristálypor belsejébe is.¹³

Imre Lajos e németországi kutatásai, bár látszatra nincsenek közvetlen kapcsolatban Hahn professzor későbbi nagy tudományos felfedezésével, az ²³⁵U-magok hasításával, mégis döntő jelentőségűek voltak a hasítás felismerésében, illetve a hasadványok azonosításában. Ezt bizonyítja az a tény, hogy az urán és a neutronsugárzás kölcsönhatásaival kapcsolatos kísérleteinek állásáról Otto Hahn levélben többször is tájékoztatta Imre Lajost.

E korszak eredményeihez tartozik Imre részvétele a Hahn- és a Chlopin-iskola több évtizedig húzódó vitájában, melyben alapvető megállapításokat tesz a határfelületi reakciókra és a tömbfázis belsejében uralkodó megoszlási állapotokra vonatkozóan.

Imre Lajos hazajövele után (1931) Budapesten folytatta munkáját, melynek fő iránya a határfelületi reakciók termodinamikai értelmezése.¹⁵⁻¹⁷ Arra a kérdésre kereste a választ, hogy milyen tényezők határozzák meg a heterogén reakciók elemi lépéseit. Mindenekelőtt az első adszorpció-fokozat, a szoros értelemben vett adszorpció törvényszerűségeit kutatta. Kimutatta, hogy heterogén izotópcseré (ezt önadszorpciónak nevezi) esetében, azaz amikor maguk a kristályt alkotó ionok adszorbeálódnak a kristály felületén, végtelen kis koncentrációknál az adszorpció energiája számértékében egyenlő az ionok oldáshőjével. Ez arra mutat, hogy ilyen körülmények között az adszorpció és az oldódás reciprok folyamatok.

Rámutatott arra, hogy a heterogén izotópcseré-rendszerekben kis koncentrációk esetén érvényes ugyan a Langmuir-féle adszorpció izoterma-egyenlet, de csak úgy, ha abba a valóságos geometriai térfogatok helyett az ún. fázistérfogatot helyettesítjük be. Ez utóbbiban az adszorbeált részecske helykoordinátáin kívül a sebességi komponensek is kifejezésre jutnak.

A harmincas évek második felére letisztultak az adszorpció mechanizmusával kapcsolatos gondolatai. Heterogén izotópcseré-rendszerekben, melyekben a szilárd fázis heteropoláris ionkristály, az adszorpció sebességét kéttagú, az elsőrendű szimultán folyamatokra jellemző egyenlettel írta le. A két reakciót értelmezte is: az egyik egyszerű ioncsere az oldat és a szilárd fázis ionjai között, a másik pedig izoterm átkristályosodás.¹⁸ Az átkristályosodási folyamat eredményeképp a radioaktív izotóp betemetődését *pszeudo-diffúzió*^{18,19} nevezi. A *pszeudo-diffúzió* kinetikáját matematikailag is értelmezi.

A budapesti időszak utolsó két dolgozatában^{20,21} kinetikai egyenletek alapján meghatározza az adszorpció aktív helyek számát és ezt összefüggésbe hozza a Langmuir-féle adszorpció egyenlet megfelelő paraméterével. A Langmuir-egyenlet másik konstansáról elméletileg bizonyítja, hogy az a heteropoláris ionkristályok vizes, illetve vizes-alkoholos oldataiban az oldékonyságnak felel meg. Összehasonlítja az oldékonyságból és a pszeudo-diffúzió sebességéből

meghatározott adszorpciós aktív helyek számát. A két módszerrel meghatározott eredmények viszonylag jó egyezést mutattak.

3.3. A szeretett Kolozsvár

A Kolozsváron töltött évek (1940-49) meglehetősen mozgalmasak voltak, sajnos nem tudományos, hanem politikai szempontból. Ez az az időszak, amikor hazánkban a II. világháború fegyveres harcai söpörtek keresztül, majd a békeszerződés újra elszakította hazánktól a kolozsvári egyetemet. A közmondás is azt tartja, hogy háborúban hallgatnak a múzsák. Ennek igazságát mutatja, hogy ez a 8-9 év mindössze hét dolgozatot eredményezett.²²⁻²⁸

Fontos változás Imre tudományos munkásságában, hogy a kolozsvári évek közleményeiben jelennek meg először munkatársak, mint társszerzők.²⁶⁻²⁸ Egyik itteni munkatársa a hetvenes években felkereste az Izotóplaboratóriumot és nagy szeretettel beszélt a kolozsvári évekről. A negyvenes évek történelmére jellemző, hogy ekkor már ez a kolléga is Pozsonyban dolgozott.

Ettől az időszaktól kezdve Imre meglehetősen rossz közlési politikát követett, kutatási eredményeit nem nagyhirű tudományos folyóiratokban, hanem helyi jelentőségű nyomtatványokban (pl. Acta Bolyaiana) jelentette meg.²⁴⁻²⁸ Ezt valószínűleg a politikai helyzet okozta.

Ekkor már teljesen önálló útra lépett a korábbi Hahn-iskolához képest, amelyet tudományos önéletrajzában Hahn is megjegyez.³ A kolozsvári években írott első dolgozata a Paneth-féle felület-meghatározás kritikájáról szólt.^{23,24}

A korábbi budapesti és a kolozsvári eredmények elvezették Imre Lajost a kolloidok stabilitásának, majd ezen keresztül a szilárd/folyadék határfelület elektromos tulajdonságainak értelmezéséhez. Megállapította, hogy igen híg oldatokban az anion és a kation aszimmetrikusan adszorbeálódik, ami potenciál-különbséget okoz.²⁴⁻²⁸

3.4. Debrecenben

Munkatársak nem jöttek vele Kolozsvárról, Debrecenben nála 20-30 évvel fiatalabb emberek várták. Sajnos a középnemzedék hiányzott. Így igen nagy volt a távolság Professor Úr és munkatársai között. A környező világ sem kedvezett a nyugodt alkotó légkörnek. A kutatásokat teljesen újonnan kellett indítani. Ugyanakkor a nukleáris kutatások a negyvenes évek végén, ill. az ötvenes évek elején világszerte igen elterjedté váltak és igen gyorsan fejlődtek. Hevesy ekkor már megkapta a Nobel-díjat, atomreaktorok működtek, megtörténtek a hadászati célú kísérleti atomrobbantások.

Imre Lajos Debrecenben töltött évei jelentették életének leghosszabb periódusát, mintegy 25 évet, itt adta ki legtöbb dolgozatát, és itt foglalkozott a legtöbb témával. Magyarországon elsőként alkalmazta az irreverzibilis és statisztikus termodinamikát határfelületi folyamatokra,²⁹ amelyről 1950-ben a Magyar Tudományos Akadémián tartott előadást. Ez tekinthető a debreceni korszak első tudományos megnyilvánulásának. Debrecenben megnövekedett munkatársainak száma, így kiterjeszthette kutatásait.

Ezeket a következő csoportokba lehet sorolni:

- a heteropoláros ionkristályok határfelületi folyamatainak alapelvi vizsgálata,²⁹⁻³⁸
- az elegykristályképződés termodinamikája³⁹⁻⁴²
- hordozómentes radioaktív izotópok keverék-adszorpciójának leírása,⁴³⁻⁴⁶
- hordozómentes radioaktív izotópok elektrokémiai leválasztása,⁴⁷⁻⁵⁰
- a galvanikus korrózió értelmezése,⁵¹⁻⁵⁴
- a felület-meghatározási módszerek továbbfejlesztése,⁵⁵
- a diffúzió vizsgálata,⁵⁶⁻⁵⁷
- a ²¹⁰Pb atommag felezési idejének meghatározása,⁵⁸⁻⁶⁰
- a kromatográfia kinetikájának vizsgálata⁶¹
- az ioncserélő gyanták cserefolyamatainak értelmezése.⁶²

A híg oldatokban a heteropoláros kristályokon lejátszódó adszorpciót és cserét egyaránt leírhatónak tartotta a Langmuir-féle izoterma-egyenlettel, ugyanis az oldékonyságra jellemző izoterma-paraméter mindkét esetben azonos. Megállapította, hogy a szokásos adszorpcióra vonatkozó aktív helyek száma (z) lényegesen kisebb, mint a szilárd falban az illető ionokra vonatkozó rácselemek száma (X), azaz a $z/X \ll 1$.

Felismerte, hogy heterogén izotópcseré rendszerekben a cserereakciók hőmérsékletfüggése a Paneth-elv alapján nem értelmezhető. Fontos megállapítása volt, hogy a radioaktív izotópok elektrolitikus leválásánál hasonló paraméterek játszanak szerepet, mint a sók telített oldatokból történő kicsapódásánál. Megmutatta, hogy a z/X faktornak jelentős szerepe van a heterogén reakciók kinetikájában is. Ezzel magyarázható vált a reakciósebesség időbeli változása. Mindezek az eredmények elvezettek ahhoz a feltételezéshez, hogy közvetlenül a szilárd felület közelében ($\sim 10^{-10}$ m) ún. átmeneti réteg alakul ki.

Az átmeneti réteg kialakulása a következőképpen képzelhető el: az oldatból a szilárd felületre törekvő részecske nem egyetlen lépésben veszti el energiáját és kötődik meg a szilárd felület megfelelő aktív helyén, hanem aperiódikus-anharmonikus rezgések sorozatában jön létre a kapcsolat. Ennek az az oka, hogy az illető adszorptívumnak más a rezgési frekvenciája az oldatban, illetve a szilárd felületen. Eközben az oldatból a szilárd fázisba átlépő szolvatált ion fokozatosan veszti el hidrátburkát. A felületközeli rezgések során, az adszorptívum többszöri áthaladása miatt felület közelében megnő az adszorptívum tartózkodási valószínűsége. Ennek következtében a részben dehidratált részecskék koncentrációjának növekedésével kell számolni. Ez a koncentráció-növekedés gátat jelent a felületre való ráhelyeződésben, illetve a visszaoldódásban. Az átmeneti rétegben tehát X/z arányban megnő a koncentráció az oldat belsejéhez viszonyítva. Imre különbséget tett az adszorpciós és a cserereakciók között,³⁷ mivel az utóbbi folyamatnál az átmeneti réteg entrópiája lényegében független a hőmérséklettől.

A határfelületi reakciók kinetikai viselkedését is befolyásolja a félig-meddig dehidratált átmeneti réteg kiépülése. A radioaktív izotópok adszorpciójánál illetve cseréjénél, különösen hordozómentes radioaktív anyagok esetén, stacionárius állapotban többnyire a diffúziós részfolyamat a sebesség-meghatározó lépés. A rendszerben a határfelületi folyamat sebessége $t = 0$ időben a Nernst-

féle heterokinetikai egyenlettel írható le. Amint kiépül az átmeneti réteg, a koncentráció növekedése miatt a folyamat sebessége lecsökken, mégpedig stacionáris állapotban az eredeti sebesség z/X -ed részére.^{30,32,34,35,37}

Az ötvenes évek második felére megszorodott az alkalmazható radioaktív izotópok száma. Ennek következtében Imre Lajos is bővíti a vizsgált rendszerek körét, és bevonja kutatásaiba a fém/elektrolitoldat rendszereket is. Ebben az időben rendkívül divatos téma volt a fém/fémion heterogén izotópcseré rendszerek, valamint a radioaktív ionok nemesfémeken történő adszorpciójának tanulmányozása. Imre nagyon jó érzékkel a heterogén izotópcseré rendszerek közül az Ag/Ag^+ -ion rendszert választotta, mely nagy csereárama miatt „jól tudja az elektrokémiát”.^{33,35}

A határfelületi folyamatok híg oldatokra vonatkozó alapelveit leíró dolgozatok³⁰⁻³⁷ betetőzéseként eljutott a szilárd felületek aktivitási koefficiensének problémáig. Megállapítja, hogy az aktivitási koefficiens ugyancsak az aktív helyek és a teljes felületi részecskék számának hányadosával függ össze.³⁸

Tovább folytatta kedves témáját, az elegykristály-képződés termodinamikai tanulmányozását. Kezdetben a két elméleti kép, a Henderson–Kracek-féle lineáris összefüggés és Doerner–Hoskins-féle logaritmikus összefüggés között kereste a kapcsolatot.³⁹⁻⁴² Megállapította, hogy a Doerner–Hoskins-féle logaritmikus törvény érvényesülésénél nincs teljes termodinamikai egyensúly. Az irreverzibilis termodinamika elveire támaszkodva kimutatta, hogy a határfelületi egyensúlyok összessége a radioaktív mikrokomponenseket tartalmazó elegykristályok végső összetételét is meghatározza. Ez a megállapítás mindkét típusú, a lineáris és a logaritmikus eloszlású, elegykristályra egyaránt érvényes.

Az egyre bővülő eredmények rámutattak arra, hogy a radioaktív izotópok híg oldataiból történő adszorpciója nem írható le egyetlen komponensre figyelembe vevő Langmuir-féle izotermával. Ezért figyelme a keverék-adszorpció felé fordult. Az átmeneti réteg elmélet alapján kimutatta, hogy az adszorpció aktív helyek száma a különböző adszorptívumok, ill. koncentráció viszonyoknál eltérő lehet. Ez a megállapítás ellentétes a keverék-adszorpcióra kifejlesztett Langmuir-hipotézisen alapuló elvekkel.⁴³⁻⁴⁶

Másik kutatási területe a hordozómentes radioaktív izotópok elektrokémiája. Abból indul ki, hogy híg oldatokban az elektrolitikus leválás sebességét a határfelületi átmeneti réteg befolyásolja.⁴⁷ Ez annak felismeréséhez vezet, hogy a hordozómentes izotópok elválasztásának hatékonyságát aszimmetrikus elektródrendszer alkalmazásával növelni lehet.⁴⁸ Világossá válik, hogy a platinaelektrod felületén történő leválásnál cserereakcióval is számolni kell, mivel a leválás a legegyszerűbb esetben is hidroxóniumionokból álló monoionos rétegen vagy monomolekulás oxidrétegen történik.⁵⁰ Ezeknek a kutatásoknak az eredményeit a radioaktív izotópok termelésének szolgálatába állította.^{49,63}

Korróziókinetikai vizsgálatai kolozsvári kutatásaiban gyökereznek.²⁴⁻²⁸ Megállapítja, hogy híg oldatokban a Nernst-féle elektródpotenciál formula érvényét veszti, mivel a redukált forma aktivitási koefficiens nem egységnyi; a kis

anyagmennyiség miatt nincs teljes felületi borítottság. Imre szerint a felületi aktivitás számításánál ismét az aktív helyek és a teljes felület arányát kell figyelembe venni.⁵¹⁻⁵⁴

Újra elővette a felület meghatározásának problémáját.^{55,64} Különböző szemcseméretű Pt-porok felületét mérte $^{212}\text{Pb(II)}$ -ion adszorpciója alapján. A korábban közölt felület-meghatározáshoz képest a módszer egyszerűbb volt, ugyanis nem az aktív helyek hőmérsékleti gradiense alapján számolta a felület nagyságát, hanem a kinetikai görbéből meghatározta a z/X értékét egy adott hőmérsékleten, majd ugyanolyan körülmények között adszorpció izotermát vett fel, és ebből számította az aktuális adszorpció aktív helyek számát (z).

Igen sajnálatos, hogy ez volt az utolsó olyan dolgozata, melyet nemzetközi folyóiratban jelentetett meg, majd megszakadt kapcsolata a nemzetközi tudományos közvéleménnyel. Ennek következménye, hogy bár elsők között alkalmazta az irreverzibilis termodinamikát a határfelületi jelenségekre, ez nem ment át a köztudatba.

Imre Lajos vizsgálta a heterogén rendszerekben történő anyagtranszportot a fémek tömbfázisában, ill. a felületi atomrétegekben. Ennek kapcsán tanulmányozta a *pszeudodiffúziót*,⁵⁶ a gázdifúziót⁵⁷ és egy kromatográfiai problémát.⁶¹

A *pszeudodiffúzió*nak fémekben történő tanulmányozása⁵⁶ lényegében a korróziós kutatásokat segítette volna elő. Ilyen vizsgálatokat az Ag/Ag^+ -ion rendszerben végzett. Ezen kutatások fontos elméleti problémát kívántak tisztázni, nevezetesen azt, hogy az átmeneti réteg szabadentalpiáját milyen mértékben befolyásolja a határfelületi folyamatra jellemző fázistérfoogat nagysága.

Vizsgálta ^{222}Rn gáz diffúzióját homokban és bentonitban. Ez utóbbi kutatás részben a neutronok diffúziójának tanulmányozását készítette volna elő, de ennél közelebbi cél volt annak megállapítása, hogy a gázok adszorpciójánál is számolni kell-e az átmeneti rétegekkel.

Az ötvenes évek elején a szerves kémiai elválasztásoknál kiterjedten alkalmazták a kromatográfias eljárást. Úgy tűnt, hogy ez a módszer az egyre szélesebb körű radioaktív izotóptermelésnél is alkalmazásra kerülhet. Mivel a kromatográfia esetében is határfelületi folyamatok játszódnak le, így azt alapvető szempontból vizsgálta.⁶¹ A híg oldatokra vonatkozó adszorpció és ioncsere kinetika alapegyenleteit alkalmazta a kromatográfias oszlopból és a rajta átfolyó oldatból álló rendszerre. A kromatográfias elválasztás széleskörű radiokémiai alkalmazására végül is abban az időben nem nagyon került sor, így a témának sem volt különösebb folytatása.

Az eddig bemutatott kutatási területek mind a határfelületi folyamatok termodinamikájának, illetve kinetikájának radioaktív nyomjelzéssel történő vizsgálatáról szóltak. Meg kell azonban emlékezni még néhány fontos magkémiai alap- és gyakorlati kutatásról.

Már említettük a Th-227 (radioaktínium) bomlássebességi állandójának meghatározását.⁶⁷ A ^{210}Pb -izotóp felezési idejének meghatározása^{58-60,65,66} tekinthető e témakörben

megjelent másik eredményének. Imre Lajos 1,85 GBq aktivitású emanáló rádiumpreparátumot készített az ötvenes évek elején. Ebből 20 éven keresztül rendszeresen leválasztotta a ^{222}Rn -t, hermetikusan lezárta, és azonnal megmérte a leválasztott ^{222}Rn mennyiségét. Majd kb. 20 év múlva egyszerre felbontotta ezeket a preparátumokat, melyek ekkor már csak ^{210}Pb -t, ^{210}Bi -t és ^{210}Po -t tartalmaztak. Kioldotta a radioaktív anyagot, majd abszolút b- és a-méréssel meghatározta a ^{210}Bi - és ^{210}Po -izotópok mennyiségét. Az így nyert adatokból kiszámította az ^{210}Pb mennyiségét, ezekből pedig a bomlás sebességi állandóját ($9,921 \times 10^{10} \text{ s}^{-1}$, $t_{1/2} = 22,14 \text{ év} \pm 2 \%$). Ez az adat szintén közel áll a ma elfogadott értékhez: 22,3 év). Sajnos ez a meghatározása sem megfelelő szakfolyóiratban jelent meg.

Az 1940-es évek végén az izomer atommagok problémájával foglalkozott. Adsorpción és ioncserén alapuló kémiai eljárást dolgozott ki a különböző energiaállapotú magizomerek szétválasztására.^{67,68} Megállapította, hogy a $^{234\text{m}}\text{Pa}$ (UX₂) és a ^{234}Pa (UZ) atommagok izomériája nem mutatható ki, vagyis Imre szerint az UZ nem létezik.

Az ötvenes évek végén és a hatvanas évek elején részt vett a magyarországi izotóptermeles irányításában. Ez a munka a gyakorlati felhasználáson túl elméleti eredményeket is hozott. Az izotóptermeles során Imre Lajos felhasználta korábbi határfelületi reakciókra vonatkozó elméleti eredményeit.^{63,69,70} Az elektrokémiával kapcsolatos eredmények felhasználása az izotóp-elválasztás terén szabadalmaztatásra került.

Imre Lajos foglalkozott a gyógyvizek radon-tartalmának meghatározásával,⁷¹ illetve a radioaktivitással kapcsolatos középiskolai kísérletek bemutatásával is.⁷² Szabadalmaztatott eljárást dolgozott ki „*Eljárás és készülék a rádiumemanációnak (radonnak) folyadékokban való elnyelésére és az adszorbeált állapotban való pontos adagolására*” címmel.

4. Az oktató

Imre Lajos munkássága teljes idejét egyetemen töltötte, így elengedhetetlen, hogy tudományos munkássága mellett oktatói habitusáról is megemlékezzünk. Gondolkodására erősen rányomta bélyegét saját egyetemi képzése. Matematika-fizika szakos tanárként kezdte első két egyetemi évét, és csak harmadéves korában vette hozzá a kémiát. Ez a képzési sorrend olyan irányt adott oktatásának, kutatásának, hogy csak a szigorú precizitást és a kémiai jelenségek matematikai leírását tudta elfogadni és magáévá tenni. Békésy György Nobel-díjas fizikusunk a kémiai stúdiumokkal kezdte tanulmányait és életéről való beszámolójában ennek hátrányáról beszél. Budapesten a Radiológiai Intézetben természetesen a radioaktivitás oktatása volt a feladata. Weszelszky Gyula egyik felterjesztésében az írja, hogy Imre Lajos „érdemei igen nagyok a gyakorlatokhoz elengedhetetlenül szükséges kísérleti eszközök előteremtésében”.

A kolozsvári években széleskörű oktatási tevékenységet folytatott. Megérkezése után megszervezte az Általános

és Fizikai-kémiai Intézetet. Az oktatómunka teljes tárgyi, szellemi és személyi feltételeinek megteremtése Imre professzor munkáját igényelte. A létrehozott intézetet a háború viharai tönkretették, ezért 1947-ben ezt a munkát újra kellett kezdeni, csak éppen sokkal nehezebb feltételek mellett, mint először. Emellett Imre nagy óraszámokban oktatott általános kémiát, fizikai kémiát, áruismereteket, mechanikai és kémiai technológiát. Továbbképzéseket vezetett üzemi vegyészeknek, ismeretterjesztő előadásokat tartott, doktori munkákat irányított és tankönyveket írt.⁷³⁻⁷⁶ Megjelent a Sugárzó atommagok,⁷⁴ Anyag és kultúra, a bölcsék követőitől az atombombáig⁷⁵ c. kötete, valamint a Bevezetés az általános kémiába⁷⁶ című egyetemi tankönyve.

1949-ben Debrecenben ismét szembe került azzal a feladattal, hogy a semmiből meg kell teremteni a magas szintű képzést.⁷⁷⁻⁸² Előtte a Debreceni Egyetemen nem folyt fizikai-kémiai oktatás. Munkatársai fiatalok voltak, kellő tapasztalat, ismeret hiányában. Laboratóriumi eszközök sem álltak rendelkezésre megfelelő minőségben és mennyiségben. Emellett a kari vezetésben dékáni, dékán-helyettesi feladatot is vállalt. A gazdaságpolitikai helyzet változása miatt 1953-ban az egyetemeken igen jelentős leépítést hajtottak végre az oktatók létszámában és az oktatott szakok számában egyaránt. Ez érintette a Fizikai-kémiai Intézetet is. Mindössze öt oktató maradt, akik közül az egyik tragikus körülmények között meghalt, egy másik elment az iparba dolgozni. 1957-től újraindultak a korábban megszüntetett szakok, köztük a vegyész szak is. Imre Lajos számára ez megint azt jelentette, hogy újra új gárdával kellett kezdeni az oktatást és a kutatást. 1960-ban pedig, kutatásainak fontosságát elismerve, felépítették az Izotóp Laboratóriumot,^{83,84} mely az első olyan hely volt az országban, amelyet a tervezés pillanatától kezdve radioaktív munkahellyé alakítottak. A kialakítási munkák szakmai irányítása és a tudományos munka elindítása az új laboratóriumban megint csak órá várta. Emellett magas szintű előadásokat tartott és a számonkérésnél hasonlóan magas szintet követelt. Az egyetemi hallgatók számára radiokémia speciális előadást tartott, amely a széleskörű érdeklődés hatására posztgraduális képzéssé alakult, anyaga három félévnyire duzzadt.⁸⁵⁻⁸⁷ Az Országos Atomenergia Bizottság szervezésében ezt az anyagot Budapesten is oktatta. Az oktatáshoz igénybe vette az akkori legfejlettebb technikai eszközöket, magnetofont, diavetítőt használt.

A kiterjedt szervezési és oktatómunka természetesen rányomta bélyegét a publikálásra: a kolozsvári évek alatt megjelent tankönyvekkel és ismeretterjesztő művekkel szemben Debrecenben csak ideérkezése után mintegy tíz évvel írta az első jegyzetet.⁸⁵⁻⁸⁷ A hatvanas évek végén jelentette meg négykötetes fizikai kémia jegyzetét.⁸⁸⁻⁹¹ Ebben következetesen alkalmazta a fizikai kémia matematikai alapon történő kezelésének elvét, amelyet egyetemi előadásain is követett. Sajnálatos, hogy élete utolsó évében írt radiokémia könyve kéziratának sorsa jelen dolgozat szerzői számára ismeretlen.

A dolgozatban nem szereplő, de Imre Lajos munkásságához tartozó egyéb közleményeket az Irodalomjegyzékben szintén felsoroljuk.⁹²⁻¹⁰²

5. Imre Lajos, az ember

Már korábban is említettük, hogy Imre Lajos matematika-fizika szakon kezdte tanulmányait, kutatásaiban és az oktatásban mindig ragaszkodott a szigorú matematikai pontossághoz. Ezt a vegyész kollégák és a hallgatók gyakran nehezen tudták követni, ami időnként rányomta a bélyegét emberi kapcsolataira is. Alapvetően zárkózott ember volt, csak hosszabb idő után került közvetlenebb kapcsolatba munkatársaival. Követlenebb beszélgetésekre általában az esti órákban került sor. Ő vezette be a kávézás szokását az izotóplaboratóriumban, ahol leginkább csak hallgatója volt a beszélgetéseknek. Érdekes azonban, hogy mint több nyelvet jól beszélő ember, rendszeresen hallgatta a nyugati rádiók adásait, és az ott elhangzott politikai információkról rendszeresen beszélt. Így hallottunk például nagyon hamar Hruscsovna az ENSZ-beli ma már jól ismert kirohanásáról. A politikai légkör az izotóplaboratóriumban rendkívül szabad volt; dicséretére legyen mondva a laboratórium akkori munkatársainak, beleértve az egyetemi hallgatókat is, hogy ebből soha senkinek semmi baja nem származott. Ilyenkor osztotta ki a hivatalos levelek megválaszolásának feladatát a fiatal munkatársaknak, akik, tapasztalatlanáguk okán, sokszor nem éppen adekvát válaszokat adtak. Ezeket aláírta, továbbította, néha annyit jegyzet meg utólag, hogy „már megint annyi marhaságot írtak, úgy letolt a rektor úr...”; a dolog ezzel el is volt intézve. Hasonló mentalitást mutatott az a szokása, hogy bár mindennap megvitatta az aktuális feladatokat kollégáival, azokkal, akik nem dolgoztak kellő odaadással, egyáltalán nem beszélt a tudományos munkáról, de rosszállását sem fejezte ki.

Érdekes módon, ünnepek előtt a tudományos feladatok valahogy mindig nagyon megszorodtak. Ennek bizonyára az volt az oka, hogy Imre professzor életének nagy részét magányosan töltötte, csak idősebb korában élt vele az unokahúga. Az ünnepek ezért megpróbáltatást jelenthettek számára, ezért igyekezett az egyedül töltött órák számát lehetőség szerint csökkenteni. Ugyanakkor nagyon bensőséges kapcsolatban volt öccsével és annak családjával.

A formális összejöveteleket nem kedvelte, azonban évente egyszer a tanszék valamennyi munkatársát vendégül látta. Ilyen alkalmakkor hódolt egyik kedvenc elfoglaltságának, a zenélésnek is. A komolyzenét rendkívül szerette, ő maga vonós hangszeren (hegedűn, brácsán) játszott saját örömeire. Időnként különböző kamaraegyüttesekben zenélt, amelyekben például professzortársai, de diákok is részt vettek. Egy egyetemi ünnepélyen egy negyventagú szimfonikus zenekart is vezényelt.

Imre professzor vizsgáiról ma is legendák keringenek: szigorúságáról, de időnként megnyilvánuló emberi „gyengességéről-nagyságáról” szólnak. Ezek egy része biztosan nem történt meg, de a történetek mind tükrözik személyiségének lényegét, úgyhogy akár megtörténtnek is tekinthetjük őket.

Hivatkozások

1. Stubnya Gy, Árvayiné Kucsra J. (szerk): *Imre Lajos, 1900-1974*, A magyar tudomány és technikai nagyjai CD-sorozat, BME OMIKK: Budapest, 2004, ISBN 963593460-2 ISSN 1586-7609.

2. Oravec I. *Kaliforniai fűrj*, Jelenkor Kiadó: Pécs, 2013.
3. Hahn, O. *Vom Radiothor zur Uranspaltung*, Friedr. Vieweg&Sohn: Braunschweig, 1962.
4. Imre, L. *Z. Anorg. Allg. Chem.* 1927, 164, 214-218.
5. Imre, L. *Z. Anorg. Allg. Chem.* 1927, 166, 1-15.
6. Imre, L. *Magyar Kémiai Folyóirat* 1928, 34, 49-56.
7. Imre, L., Weszelszky, Gy. *Z. Anorg. Allg. Chem.* 1928, 175, 141.
8. Imre, L., Hahn, O.: *Z. Phys. Chem. A.* 1929, 144, 161-186.
9. Imre, L. *Z. Phys. Chem. A.* 1930, 146, 41-62.
10. Imre, L. *Z. Phys. Chem. A.* 1931, 153, 127-142.
11. Imre, L. *Z. Angewandte Chem.* 1930, 43, 875-877.
12. Imre, L. *Z. Phys. Chem. A.* 1931, 153, 262-286.
13. Imre, L. *Z. Phys. Chem. A.* 1933, 164, 327-342.
14. Imre, L. *Z. Elektrochem.* 1932, 38, 535-543.
15. Imre, L. *Z. Phys. Chem. A.* 1933, 164, 343-363.
16. Imre, L. *Z. Phys. Chem. A.* 1933, 164, 364-376.
17. Imre, L. *Z. Phys. Chem. A.* 1934, 171, 239-256.
18. Imre, L. *T. Faraday Soc.* 1937, 33, 571-583.
19. Imre, L. *T. Faraday Soc.* 1939, 35, 751-758.
20. Imre, L. *Kolloid Z.* 1939, 87, 12-21.
21. Imre, L. *Kolloid Z.* 1940, 91, 32-39.
22. Imre, L. *Kolloid Z.* 1942, 99, 147-157.
23. Imre, L. *Kolloid Z.* 1944, 106, 39-46.
24. Imre, L. *Múzeumi füzetek* 1943, 1, 302-312.
25. Imre, L.; Sarusi, F. *Acta Bolyaiana* 1946, 1, 15-27.
26. Imre, L. *Acta Bolyaiana* 1948, 2, 17-30.
27. Imre, L.; Szabó, Á. *Acta Bolyaiana* 1948, 2, 31-32.
28. Imre, L.; Szabó, Á. *Studii so cercetari stiintifice* 1953, 4, 155-161.
29. Imre, L. *Akadémiai Értesítő* 1950, 57, 40.
30. Imre, L. *Kolloid Z.* 1953, 131, 21-38.
31. Imre, L. *Kolloid Z.* 1954, 135, 161-176.
32. Imre, L. *Acta Universitatis Debreceniensis* 1954, 1, 163-186.
33. Imre, L. *Kolloid Z.* 1957, 154, 119-130.
34. Imre, L. *Magyar Kémiai Folyóirat* 1958, 64, 260-262.
35. Imre, L. *Kolloid Z.* 1959, 166, 122-135.
36. Imre, L. *Acta Universitatis Debreceniensis* 1958, 4, 137-145.
37. Imre, L.; Nagy, J. *Acta Universitatis Debreceniensis* 1965, 10, 5-49.
38. Imre, L. *Acta Physica et Chimica Debrecina* 1971, 17, 119-140.
39. Imre, L. *Előadás a Magyar Tudományos Akadémián*, 1955.
40. Imre, L.; Bartha, L. *Acta Universitatis Debreceniensis* 1956, 3, 63-78.
41. Imre, L.; Tóth, B. *Acta Physica et Chimica Debrecina* 1969-70, 15-16, 127-147.
42. Imre, L. *Kémiai Közlemények* 1971, 35, 33-67.
43. Imre, L. *Acta Physica et Chimica Debrecina* 1963, 9, 29-40.
44. Imre, L.; Nagy, J. *Proc. Conf. Aspects of Phys. Chem.* Budapest, 1966, 645.
45. Imre, L. *Proc. Conf. Aspects of Phys. Chem.* Budapest, 1966, Plenary Lecture
46. Imre, L. *Kémiai Közlemények* 1968, 29, 217-243.
47. Imre, L.; Fejes, G. *Acta Universitatis Debreceniensis* 1955, 2, 176-188.
48. Imre, L.; Fejes, G. *Acta Universitatis Debreceniensis* 1961, 7, 71-83.
49. Imre, L.; Csongor, J. *Acta Physica et Chimica Debrecina* 1963, 9, 41-51.
50. Imre, L.; Fejes, G. *Acta Physica et Chimica Debrecina* 1967, 13, 41-66.
51. Imre, L.; Tóth, G. *Acta Universitatis Debreceniensis* 1958, 5, 207-216.
52. Imre, L.; Kónya, J. *Proc. Conf. on some Aspects of Physical Chemistry*, Budapest, 1966, 149-161.
53. Imre, L.; Kónya, J. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* 1967, 53, 219-240.
54. Kónya, J.; Imre, L. *Magyar Kémikusok Lapja* 1971, 26, 313-319.

55. Imre, L.; Nagy, J. *Kolloid Z.* **1962**, *183*, 134-141.
56. Imre, L. *Acta Universitatis Debreceniensis* **1965**, *11*, 47-78.
57. Imre, L.; Kónya, J., Imre, J. *Acta Physica et Chimica Debrecina*, **1963**, *9*, 17-28.
58. Imre, L.; Fábry, Gy.; Dézsi, I. *MTA KFKI Közlemények* **1961**, *9*, 233-250.
59. Imre, L.; Fábry, Gy.; Dézsi, I. *MTA Kémiai Osztályának Közleményei* **1963**, *19*, 1-24.
60. Imre, L.; Fábry, Gy. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1966**, *50*, 245-261.
61. Imre, L.; Nagy, J. *Acta Universitatis Debreceniensis* **1955**, *2*, 167-175.
62. Imre, L.; Mádi, I. *Acta Universitatis Debreceniensis* **1960**, *6*, 79-88.
63. Imre, L. *MTA KFKI Közlemények*, **1959**, *7*, 3-22.
64. Kónya, J.; Imre, L. *Magkémiai Szimpózium*, Debrecen, **1980**, 126.
65. Imre, L.; Nagy, J. *Acta Physica et Chimica Debrecina* **1976**, *20*, 99.
66. Imre, L.; Nagy, J., Bolyós, A. *Mezsdunarodnij Szimpozium SzEV* **1979**, *8/2*.
67. Imre, L. *MTA Matematikai és Természettudományi Értesítő* **1940**, *59*, 480-499.
68. Imre, L. *Naturwissenschaften* **1940**, *28*, 158.
69. Imre, L. *MTA KFKI Közlemények* **1958**, *6*, 530.
70. Imre, L.; Tóth, B. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1958**, *64*, 266-267.
71. Imre, L. *Orvostudományi Közlemények* **1941**, *2*, 268-270.
72. Imre, L. *Fizikai és Kémiai Didaktikai Lapok* **1937**, *8*, 1.
73. Imre, L. *In Fizikai-kémiai praktikum*; Prosz, J.; Erdy-Grúz, T. Sopron, **1941**, 371-401.
74. Imre, L. *Sugárzó atommagok*. Minerva:Kolozsvár, **1946**.
75. Imre, L. *Anyag és kultúra. A bölcsek követőitől az atombombáig*, Józsa Béla, Athenaeum: Kolozsvár, **1947**.
76. Imre, L. *Bevezetés az általános kémiába*, Kolozsvár, **1948**.
77. Imre, L. *Fiziko-kémia*, Jegyzetkészítő Iroda: Debrecen, **1950**.
78. Imre, L. *Kolloidika*, Jegyzetkészítő Iroda: Debrecen, **1950**.
79. Imre, L. *Fiziko-kémia*, Jegyzetkészítő Iroda: Debrecen, **1951**.
80. Imre, L. *Kolloidika*, Jegyzetkészítő Iroda: Debrecen, **1951**.
81. Imre, L. *Fizikai Kémia, Debreceni Tudományegyetem Fizikai-Kémiai Intézet jegyzete. 1951/52. tanév 2. félév*. Tankönyvkiadó Jegyzet-sokszorosító: Debrecen, **1952**.
82. Imre, L. *Fizikai Kémia, Debreceni Tudományegyetem Fizikai-Kémiai Intézet jegyzete. 1952/53. tanév 1/2. félév*. Közoktatásügyi Jegyzet-ellátó: Budapest, **1952**.
83. Imre, L.; Nagy, J. *Magyar Kémikusok Lapja* **1963**, *19*, 141-147.
84. Imre, L.; Nagy, J. *Magyar Kémikusok Lapja* **1964**, *19*, 185-188.
85. Imre, L. *Izotópia. I-II.* Országos Atomenergetikai Bizottság, Atomtechnikai Tanfolyam: Budapest, **1961**.
86. Imre, L. *Radioaktív nyomjelzős módszerek elvi alapjai*. Országos Atomenergetikai Bizottság, Atomtechnikai Tanfolyam, Budapest, **1961**.
87. Imre, L. *Radioaktív nyomjelzős módszerek elvi alapjai*. Országos Atomenergetikai Bizottság, Atomtechnikai Tanfolyam: Budapest, **1962**.
88. Imre, L. *Fizikai-kémia I. rész. Kémiai termodinamika*, Tankönyvkiadó: Budapest, **1968**.
89. Imre, L. *Fizikai-kémia II. rész. Elektrokémia*, Tankönyvkiadó: Budapest, **1968**.
90. Imre, L. *Fizikai-kémia III. rész. Reakciókinetika*, Tankönyvkiadó: Budapest, **1969**.
91. Imre, L. *Fizikai-kémia IV. rész. Atom- és molekulaszervezetan*, Tankönyvkiadó: Budapest, **1969**.
92. Imre, L. *Z. Phys. Chem.* **1936**, *177*, 409-426.
93. Imre, L. *Compt. Rend. Congr. Internat. Stat-baln.* **1937**, 178.
94. Imre, L. *Szabadalmi Közlöny*, **1938**, 3723.
95. Imre, L. *Weszelszky Gyula dr. 1872-1940*. A Kis Akadémia negyvenkét esztendeje az ezredik előadásig. 1899-194: Budapest, **1941**, 478-481.
96. Imre, L. *Emlékezés Weszelszky Gyuláról*. A Kis Akadémia negyvenkét esztendeje az ezredik előadásig. 1899-1941: Budapest, **1941**, 568-572.
97. *Termodinamika*. Imre Lajos előadásai és útmutatásai alapján összeállította Paulini Rudolf: Cluj-Napoca, **1944**. (Kézirat)
98. Imre, L. *Acta Universitatis Debreceniensis* **1954**, *1*, 154-162.
99. Imre, L. *Acta Universitatis Debreceniensis*, **1957**, *6*, 137-144.
100. Imre, L. *Acta Universitatis Debreceniensis* **1959/60**, *6*, 79-88.
101. Imre, L.; Kincses, I.; Szalay, T.; Kocsis, S.; Nagy, I. Patent HU 157 007, **1965**
102. Kónya, J.; Imre, L. *Acta Physica et Chimica Debrecina*, **1974**, *XIX*, 151-163.

“Find a master having light spirit, great knowledge and good heart”

This paper is devoted to the 40th anniversary of Professor Lajos Imre's death. His life, scientific and educational work as well as some aspects of his personal character is evoked.

A 120. évfolyam szerzői:

Ábrahám Nóra	72	Kormányos Attila.....	67
Aranyi Anita	45, 60	Kukovecz Ákos	106, 136
Bali Krisztina.....	127	Lautner Gergely.....	32
Baranyai András	38	M. Nagy Noémi.....	178
Bata Péter.....	89	Madácsi Ramóna	95
Batta Gyula.....	122	Mészáros Szilvia.....	106
Bencsik Gábor	67	Metzinger Anikó.....	50
Berki Péter	83	Mizsey Péter	17
Bombicz Petra	171	Nagy Tibor.....	17
Bugris Valéria	106	Németh Krisztián.....	83
Dékány Imre	72	Németh Zoltán	83
Dorkó Zsanett.....	4	Notheisz Ferenc.....	89
Dömötör Orsolya.....	127	Nyitray László	159
Endrődi Balázs.....	67	Pálinkó István	106
Enyedey Éva Anna	127	Pataj Zoltán.....	45, 60
Fejes Dóra.....	83	Peintler-Kriván Emese.....	67
Ferencz Zsolt	106	Péter Antal	45, 60
Forró Enikő.....	26	Peter Kluson	89
Fülöp Ferenc.....	26	Pópity-Tóth Éva.....	55
Galbács Gábor	50	Puskás László G.	95
Görbe Tamás.....	116	Rákosi Kinga	122
Gyevi-Nagy László.....	102	Réti Balázs.....	83
Gyurcsányi E. Róbert	32	Schneider Gyula	116
Gyuris Máriaó	95	Schönstein László.....	26
Harmat Veronika.....	155	Schuszter Gábor.....	55
Haspel Henrik.....	136	Sebők Dániel	72
Hernádi Klára	83	Sija Éva.....	132
Hetényi Anasztázia	127	Simándi Béla	23
Hollóczki Oldamur	10	Sipiczki (Ádok) Mónika.....	106
Horvai György.....	4	Sipos Pál	106
Horváth Dezső.....	55	Sipos Péter	95
Horváth Viola	4	Srankó Dávid Ferenc	106
Huszthy Péter.....	144	Szabados Márton	106
Ilisz István	45, 60	Szabó Nikoletta	116
Iványi Zoltán	116	Székely Edit.....	23
Janáky Csaba	67	Szöllősi György	77
Jedlinszki Nikoletta	50	Tasi Gyula.....	102
Jedlovsky Pál	4	Tóbiás Roland József.....	102
Kálmán Alajos	167	Tóth Ágota.....	55
Kanizsai Iván.....	95	Tóth Blanka	4
Kégl Tamás	14	Tóth K. Gábor.....	122
Kele Zoltán	122	Várad Györgyi.....	122
Kiss Anita	116	Vértessy G. Beáta	176
Kónya József	178	Visy Csaba.....	67
Kónya Zoltán	106, 136	Wölfling János	95, 116
		Zsigmond Ágnes.....	89

A kiadvány a Magyar Tudományos Akadémia támogatásával készült

Főszerkesztő: Sohár Pál

Szerkesztő: Huszthy Péter

Technikai szerkesztő: Nagy Tibor Zsigmond

A szerkesztőség címe:

ELTE Általános és Szervetlen Kémiai Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/A

telefon: 372-2910; fax: 372-2909; e-mail: mkf@para.chem.elte.hu

URL: <http://www.mkf.mke.org.hu>

Kiadó:

Magyar Kémikusok Egyesülete, 1015 Budapest, Hattyú u. 16. II/8.; Felelős kiadó: Androsits Beáta

telefon: 201-6883; e-mail: androsits@mke.org.hu

URL: <http://www.mke.org.hu>

Internetes változat: <http://www.mkf.mke.org.hu>

Nyomda:

Press+Print Kft., Kiskunlacháza, Gábor Áron u. 2/a; telefon/fax: 24-433-433

Felelős vezető: Tóth Imre

Terjeszti a Magyar Kémikusok Egyesülete

Előfizetési díj egy évre MKE tagoknak 1400,- forint, közületeknek 5000,- forint.

Közleményeink kivonatossan is csak a lapunkra való hivatkozással vehetők át.

Egyes cikkek teljes egészben való átvételéhez a szerkesztőség külön engedélye szükséges.

A folyóiratot az MTMT indexeli, és a REAL archiválja.

Index: 25.540

HU ISSN 1418-9933