

Міністерство освіти і науки України
Закарпатський угорський інститут ім. Ференца Ракоці II
Кафедра біології та хімії

Реєстраційний № _____

Кваліфікаційна робота
ТЕОРЕТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ
ПОЛЦИКЛИЧНИХ АРОМАТИЧНИХІ ВУГЛЕВОДІВ

ПЕТРАШ ЧОБО-ІШТВАН ШАНДОРОВИЧ

Студент IV-го курсу

Освітня програма: Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)

Спеціальність: 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)

Рівень вищої освіти: бакалавр

Тема затверджена на засіданні кафедри

Протокол № 3 / 25.10.2023 р.

Науковий керівники:

КОГУТ ЕРЖЕБЕТ ІМРІЙВНА

(доктор філософії, доцент)

Консультант: РЕІЗЕР ЕДІНА

(доктор філософії з хімія)

ФІШЕР БЕЙЛА

(доктор філософії з хімія

доктор філософії з технічні науки)

Завідувач кафедри:

Когут Ержебет Імрїївна

(доктор філософії, доцент)

Робота захищена на оцінку _____, «___» _____ 202_ року

Протокол № _____ / 202_

**Міністерство освіти і науки України
Закарпатський угорський інститут ім. Ференца Ракоці II**

Кафедра біології та хімії

**Кваліфікаційна робота
ТЕОРЕТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ
ПОЛІЦИКЛИЧНИХ АРОМАТИЧНИХ ВУГЛЕВОДІВ**

Рівень вищої освіти: бакалавр

Виконавець: студент IV-го курсу

ПЕТРАШ ЧОБО-ШТВАН ШАНДОРОВИЧ

освітня програма Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)

спеціальність 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)

Науковий керівник: **КОГУТ ЕРЖЕБЕТ ІМРІВНА**
(доктор філософії, доцент)

Консультант: РЕІЗЕР ЕДІНА
(доктор філософії з хімія)

ФІШЕР БЕЙЛА
*(доктор філософії з хімія
доктор філософії з технічні науки)*

Рецензент: **ЧОМА З.З.**,
(доктор філософії, доцент)

Берегове
2024

Ukrajna Oktatási és Tudományügyi Minisztériuma

II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola

Biológia és Kémia Tanszék

**POLICIKLIKUS AROMÁS SZÉNHIDOGÉNEK TOXICITÁSÁNAK
ELMÉLETI VIZSGÁLATA**

Szakdolgozat

Készítette: PETRÁS CSABA ISTVÁN

IV. évfolyamos

014 Középfokú oktatás (Biológia és az ember egészsége)

szakos hallgató

Témavezető: KOHUT ERZSÉBET

(PhD, docens)

Konzulensek: REIZER EDINA

(PhD, adjunktus)

FISER BÉLA

(PhD, tudományos főmunkatárs)

Recenzens: CSOMA ZOLTÁN

(PhD, docens)

Зміст

Зміст	4
Угорський зміст	5
Перелік умовних позначень.....	6
Вступ.....	7
Об'єктивний.....	8
I. Літературний огляд	9
1. Поліциклічні ароматичні вуглеводні.....	9
1.1. Основне про ПАУ	9
1.2 Фактори токсичності ПАУ	10
1.3 Наслідки токсичності ПАУ	11
2. Бензо(а)пірен	15
2.1 Характеристика бенз(а)пірену	15
2.2. Метаболізм бензо(а)пірену	18
II. Методи дослідження.....	21
1. Дослідження механізму реакції	21
2. Стикування молекул, що беруть участь у реакції до ДНК.....	24
3. Дослідження областей бенз(а)пірену	24
III. Результати досліджень та їх обговорення.....	26
Висновки	31
Резюме	32
Список літератури	35
Список рисунків.....	40
Список таблиць.....	41
Подяка.....	42

Tartalomjegyzék

Ukrán nyelvű tartalomjegyzék.....	4
Tartalomjegyzék.....	5
Rövidítések jegyzéke.....	6
Bevezetés.....	7
Célkitűzés.....	8
I. Irodalmi áttekintés.....	9
1. Policiklikus Aromás Szénhidrogének.....	9
1.1. A PAH-okról általánosan.....	9
1.2. A PAH-ok toxicitásának tényezői.....	10
1.3. A PAH-ok toxicitásának hatásai.....	11
2. Benzo(a)pirén.....	15
2.1. A benzo(a)pirén jellemzése.....	15
2.2. A Benzo(a)pirén metabolizmusa.....	18
II. Módszerek.....	21
1. A reakciómechanizmus vizsgálata.....	21
2. A reakcióban résztvevő molekulák dokkolása a DNS-hez.....	24
3. A b(a)p régióinak vizsgálata.....	24
III. Eredmények és értékelés.....	26
Összefoglalás.....	31
Резюме.....	32
Irodalomjegyzék.....	35
Ábrák jegyzéke.....	40
Táblázatok jegyzéke.....	41
Köszönetnyilvánítás.....	42

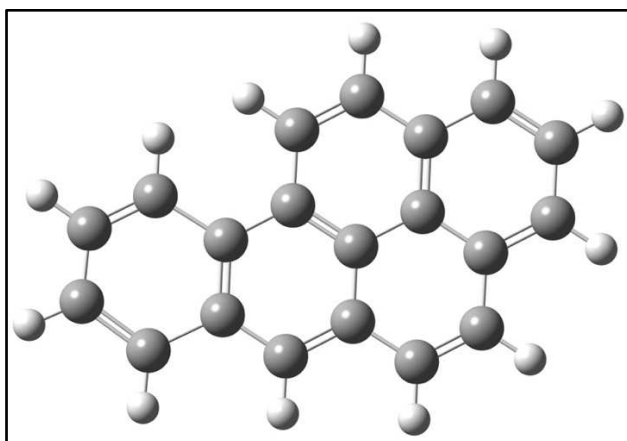
Rövidítések jegyzéke

- AHH – aril hidrogén hidroxiláz
- AhR – aril-szénhidrogén receptor
- ARNT – Ah Receptor Nuclear Translocator
- b(a)p – benzo(a)pirén
- b(a)p-e – benzo(a)pirén-epoxid
- BPDE – benzo(a)pirén-diolepoxid
- DE – diol-epoxid
- DFT – sűrűségfüggvény-elmélet
- GST – glutation-S-transzferázok
- I – közti termék (intermedier)
- IARC – Nemzetközi Rákkutató Intézet
- IP – ionizációs pálya
- IRIS – Amerikai Környezetvédelmi Ügynökség Integrált Kockázati Információs Rendszer
- MESP – molekuláris elektrosztatikus potenciál
- P – termék
- PAH – policiklusos aromás szénhidrogén
- R – reaktáns
- RC – reaktáns-komplex
- sz.f. – számolás folyamatban
- TS – átmeneti állapot (transition state)
- WHO – Egészségügyi Világszervezet
- XRE – xenobiotikus válaszelem

Bevezetés

A policiklusos aromás szénhidrogének olyan kondenzált aromás gyűrűkből álló szerkezetek, amelyek a környezetünk minden szférájában jelen vannak (GHOSAL et al. 2016). A Földön a legnagyobb mennyiségben a szerves anyagok tökéletlen égése során keletkeznek, viszont a csillagközi térben ettől eltérő folyamatok is PAH-okat eredményezhetnek (LOVAS et al. 2005; SZANYI, 2018). Életünk folyamán szinte minden nap találkozunk ilyen vegyületekkel, annak ellenére, hogy tudomást sem veszünk róluk. Számos hétköznapi folyamat (grillezés, közlekedés, fűtés) során a levegőbe emittálódnak, ahol a szálló porokra ráülepedve a forrásukhoz képest jóval távolabbra is eljuthatnak. A levegő belégzése során, az élő szervezetekbe is bekerülnek, ahol perzisztens szennyezőkként különböző szervekben akkumulálódni képesek.

Az alábbi dolgozatban az egyik legnagyobb toxicitással bíró PAH, a benzo(a)pirén (b(a)p) (1. ábra) számítógépes kémiai módszerekkel történő vizsgálata kerül bemutatásra.



1. ábra – A benzo(a)pirén 3 dimenziós szerkezete.

A benzo(a)pirén toxicitását sok esetben vizsgálták már, s bebizonyosodott, hogy karcinogén, mutagén és terratogén hatással rendelkezik (BOEHM, 1964; SAMANTA et al. 2002).

A vizsgálatok kimutatták, hogy a b(a)p képes a DNS-hez kapcsolódni és mutációt kiváltani (HERMAN et al. 1978; MUNOZ–ALBORES, 2011). E folyamat molekuláris mechanizmusa kerül feltárásra, mely során a DNS és a b(a)p kölcsönhatását kívánjuk vizsgálni különböző számítógépes kémiai módszerekkel. A kutatás során benzo(a)pirén-epoxid és benzo(a)pirén-diolepoxid kerül dokkolásra DNS-hez, az Autodock Vina programcsomag használatával, illetve a reakciómechanizmusban részt vevő molekulák termodinamikai paraméterei kerülnek meghatározásra különböző elméleti szinteken a Gaussian 09 program használatával.

Célkitűzés

Az alábbi dolgozat célja, hogy a benzo(a)pirén DNS-hez történő kötődésének mélyebb megértését elősegítse és ezáltal az egyik legrákkeltőbb PAH toxicitásának molekuláris mechanizmusát feltárjuk. A DNS és a b(a)p közötti kölcsönhatás kialakulásának feltétele az epoxid gyűrű felnyílása. A számítások lefutása időigényes folyamat a rendszer méretéből fakadóan, így ameddig a kvantumkémiai számítások eredményeit várjuk ún. molekuláris dokkolást is alkalmazunk, amellyel jellemezhető a b(a)p és az intermedierek kölcsönhatása a DNS-sel.

I. Irodalmi áttekintés

1. Policiklusos Aromás Szénhidrogének

1.1 A PAH-okról általánosan

Környezetünk minden szférájában jelen vannak a PAH-ok, azaz a policiklusos aromás szénhidrogének. Számos közegben azonosították már őket, mint például a talajban, a vízi környezetben: üledékekben, felszíni és felszín alatti vizekben és állati, illetve emberi mintákban egyaránt (GHOSAL et al. 2016; TÖRÖK, 2011). Továbbá a PAH-kat meteoritokban, üstökösökben, földönkívüli légkörben és a csillagközi térben is megtalálták (Fetzer, 2010). Szerves anyagok tökéletlen égése során keletkeznek legnagyobb mennyiségben a policiklusos aromás szénhidrogének (GHOSAL et al. 2016; SIMS et al. 1974). Több kondenzált aromás gyűrűből épülnek fel. A legegyszerűbb ilyen vegyület a naftalin, mely két benzolgyűrűből áll. Különböző folyamatok során tovább növekedhetnek, és végső méretük elérheti akár a kiindulási állapotuk százszorosát is (BOEHM, 1964). Általában színtelen, halvány sárga-zöld vagy fehér színű vegyületek a tiszta kémiai formájukban (GHOSAL et al. 2016). Jelentősen megváltozhat a tulajdonságuk, ha más atomok (pl. F, N) épülnek be a szerkezetükbe. A fluort tartalmazó PAH-ok alkalmazása gyakori az anyagtudományok terén n-típusú félvezetőként (Gotsu et al., 2018). Továbbá a gépjárművek üzemanyagégetése során keletkező nitro-PAH-ok toxicitása jelentősen növekszik az alapvegyülethez képest (pirén; 1-nitropirén) (SAMANTA et al. 2002).

A PAH-ok lebontásában fontos szerepe van a mikroorganizmusoknak, a gombáknak és algáknak. Általuk aerob környezetben szén-dioxiddá, anaerob közegben pedig metánná bomlanak. A lebontási sebesség több környezeti tényezőtől függ, mint például a hőmérséklet, a tápanyagok és a pH (Premnath et al., 2021).

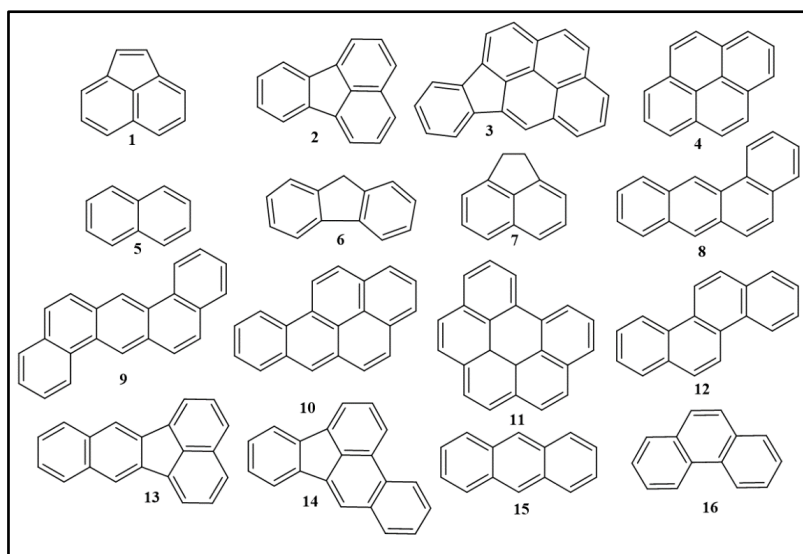
A PAH-okat több szempont alapján lehet kategorizálni, de a legkézenfekvőbb a képződési környezetük szerint, így megkülönböztetünk: diagén, pirogén, petrogén és biogén PAH-okat (BOEHM, 1964).

A *pirogén* PAH-ok olyan, magas hőmérsékletű folyamatok (természetes vagy antropogén) termékei, melyek során nem következik be a teljes égés. Általában 4-, 5- vagy több gyűrűs szerkezetek (SIMS–GROVER, 1974). Az öt gyűrűs PAH-ok elektronjai kevésbé stabillak a hat gyűrűsekhez képest (Fetzer, 2010). Pirogén PAH-ok jelentős mennyiségben képződnek gázüzemekben a gáz előállításakor, illetve a kőolaj és szén magas hőmérsékleten való feldolgozásakor (MAŠEK, 1971; SIMS–GROVER, 1974). A kátrány, mely

maradványanyagként szolgál akár 70-80 tömegszázalékban is tartalmazhat pirogén típusú PAH-okat magas naftalin és antracén koncentrációval (SIMS–GROVER, 1974).

A *diagén* PAH-ok csoportja természetes úton és alacsony hőmérsékleten keletkezik, legtöbbször a szerves vegyületek talajban és üledékben való lerakódásával. A folyamat az oxigén eltűnése után kezdődik, melyeket aromatizációs folyamatoknak nevezünk. Kevés ilyen vegyület létezik, az egyik ilyen az 5 gyűrűs perilén, mely a tengerek és tavak üledékében fordul elő.

A *biogén* PAH-ok keletkezése élő szervezetekhez köthető. Kevésbé ismertek ezek a folyamatok, viszont néhány PAH bioszintetizálódhat bizonyos prekursor vegyületek jelenlétében mikroorganizmusok által (BOEHM, 1964) . A PAH-ok kutatásában referenciaként használnak egy 16 policiklusos aromás szénhidrogént tartalmazó listát (**2. ábra**), amelyet az Amerikai Környezetvédelmi Ügynökség állított össze (SAMANTA et al. 2002). A listán szereplő PAH-okat „szülő” („parent”) vegyületekként tartják számon (REIZER et al. 2019). Ezen vegyületek koncentrációját vizsgálva határozzák meg egy-egy terület PAH szennyezettségét.

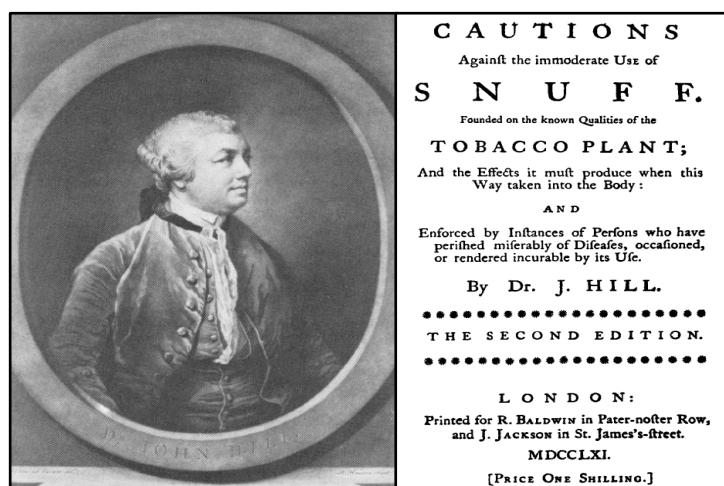


2. ábra – Az Amerikai Környezetvédelmi Ügynökség által kiválasztott ún. „szülő” („parent”) PAH-ok szerkezete. 1) acenaftilén; 2) fluorantén; 3) ideno(1,2,3-cd)pirén; 4) pirén; 5) naftalin; 6) fluorén; 7) acenaftén; 8) benz(a)antracén; 9) dibenz(a,h)antracén; 10) benzo(a)pirén; 11) benzo(ghi)perilén; 12) krizén; 13) benzo(k)fluorantén; 14) benzo(b)fluorantén; 15) antracén; 16) fenantrén.

A PAH-ok erősen lipofilek, ezért szerves oldószerekkel elegyednek. Ezenkívül a vízben való oldhatóság csökken minden gyűrűvel, melyet a szerkezetükhöz adunk. A PAH-ok nagyon jellegzetes UV-abszorbancia spektrummal rendelkeznek, ami különösen hasznos azonosításuk során. A legtöbb PAH fluoreszkál is és jellegzetes hullámhosszú fényt bocsát ki gerjesztésekor, melyet szintén előszeretettel használnak azonosításukra (KIM et al. 2013; Soós, 1972).

1.2. A PAH-ok toxicitásának tényezői

A PAH-ok magas egészségügyi kockázatot jelentenek, mivel erősen mutagén, karcinogén és mérgező vegyületeknek számítanak, a negatív hatásuk a mikroorganizmusoktól kezdve a fejlettebb szervezetekig tetten érhető (SAMANTA et al. 2002; SZANYI, 2018). Különböző dolgok járultak a PAH-ok toxicitásának bizonyításához. John Hill angol orvos (**3. ábra**) az 1761-ben megjelent könyvében arról számolt be, hogy a dohánytubákot használó páciensei közül sokuknál orrdaganatos megbetegedést dokumentált (REDMOND, 2010).



3. ábra – Dr. John Hill portréja és könyvének borítója.

A XVIII. században még nem volt ismeretes, hogy ezeknek a molekuláknak a méretük jelentősen befolyásolja toxicitásukat. Keletkezésük mellett, méretük szerint is csoportosíthatjuk a PAH-okat, így megkülönböztetünk kis és nagy molekulatömegű vegyületeket. Két vagy három gyűrű alkotja a kis molekulatömegű vegyületeket és ezek akut mérgezőek, ellenben a nagy molekulatömegűek négy vagy több gyűrűt tartalmaznak és genotoxikusak (GHOSAL et al. 2016). A policiklusos aromás szénhidrogének csoportjába tartozó anyagok egy részének magzatot és immunrendszert károsító, továbbá irritáló és allergizáló hatása van (Nébih).

A PAH-ok tanulmányozása során egyértelműen bebizonyosodott, hogy a karcinogenitásuk és mutagenitásuk bizonyos kémiai és fizikai jellemzők függvényei. Próbálták összekötni a karcinogenitást az elektronszerkezet és az orbitál számítások alapján kapott indexekkel, illetve kísérletileg megkapott rákkeltő hatás közötti korreláció révén. Végül a PAH-ok metabolizmusának vizsgálata jelentős eredményekkel szolgált (RACHIN–RALEV, 1985). A legújabb anyagcseretermékekkel foglalkozó vizsgálatok azt mutatták, hogy a PAH-ok rákkeltő hatását két tényező befolyásolja: az egyik a geometriájuk, a másik az

energetikai tényezőik. A nagyon aktív vagy extrémén aktív anyagok csoportjába a pirén származékok tartoznak (RACHIN–RALEV, 1985).

A kémiai rákkeltő anyagok sejt-makromolekulákkal, általában DNS-el reagálva fejtik ki hatásukat. A keletkezett karcinogén-DNS adduktok olyan mutációkat eredményezhetnek, melyek daganatképződéshez vezetnek. Általában a kémiai rákkeltő anyagok végső formái elektrofil reagensek (BOROSKY, 1999). Metabolizmusuk a citokróm P450 vegyes funkciójú oxidáz rendszeren keresztül valósul meg (SAMANTA et al. 2002). A P450 enzimsorozat epoxidokat hoz létre (GHOSAL et al. 2016). A PAH-ok toxicitásának kialakulásában részt vevő mechanizmus kritikus pontjának tartják az epoxid-gyűrű felnyílását. A metabolikus útvonalakon főként öböl-régiós diol-epoxidok (DE-ek) képződnek és ezeken keresztül fejtik ki mutagén hatásukat. Az ezekből az elektrofil DE-ből az O-protonált epoxid-gyűrű felnyitásával keletkező benzil-karbokationok képesek kovalens adduktumokat képezni a nukleinsavakkal. A DNS és RNS nukleofil helyeivel való reakció révén létrejövő adduktum képzés kulcsfontosságú lépése a PAH-ok mechanizmusának és ez elindíthatja a genetikai anyag megváltozását (BOROSKY–KENNETH, 2007). Valószínű, hogy a DNS elektrofil támadása epoxidok által SN1-szerű, és proton-stabilizált átmeneti állapotokon megy keresztül (BOROSKY, 1999).

1.3. A PAH-ok toxicitásának hatásai

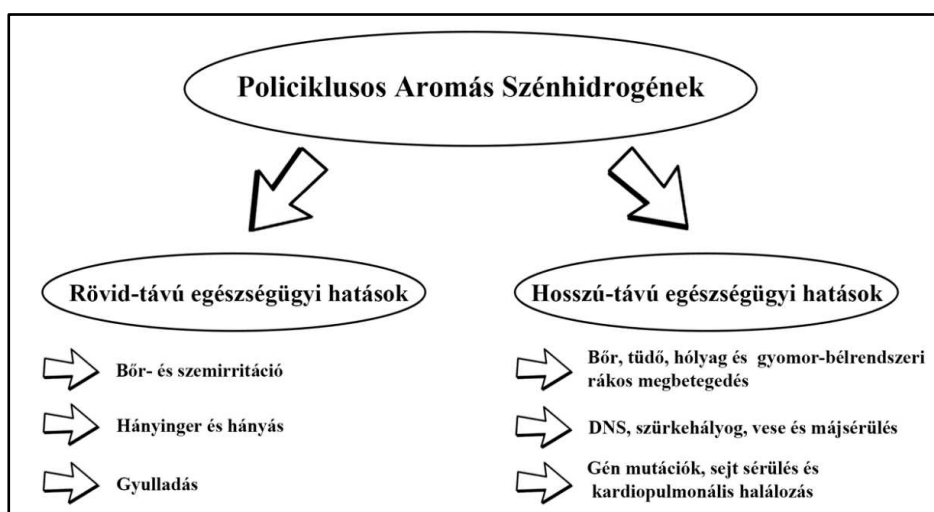
A policiklusos aromás szénhidrogének levegőben való előfordulása nagy aggodalomra adhat okot a mutagén és rákkeltő hatásuk miatt, igaz a PAH-ok kibocsátását és koncentrációját a levegőben már szabályozták, de továbbra is szükség van ennek az ellenőrzésére. Széles körben elterjedtek a légkörben és az olyan légszennyező anyagokhoz tartoznak, melyeket elsőként nyilvánítottak feltételezhetően rákkeltőnek. A légkörbe kerülő PAH-ok nagy távolságokra eljuthatnak, mielőtt a légköri csapadékon keresztül lerakódnának a talajra, a növényzetre vagy a vizekre (KIM et al. 2013). Mivel méretüket tekintve igen kicsik ezért a légkörben lévő 2,5 µm-nél kisebb részecskékkel a szervezetünkbe is bejuthatnak a légzés folyamán, majd az alveolusokon keresztül a véráramba (TSENG et al. 2021). Az Egyesült Királyság PAH-kibocsátására vonatkozó részletes becslések a National Atmospheric Emissions Inventory-ből érhetők el, amely azt mutatja, hogy 2010-ben a 16 kiemelt PAH teljes éves antropogén kibocsátása 621 tonna volt, ebből 3,23 tonna b(a)p (KIM et al. 2013).

A légkörben PAH-ok előfordulhatnak (reagálhatnak) olyan szennyező anyagokkal, mint az ózon, a nitrogén-oxidok és a kén-dioxid, és dionokat, nitro- és dinitro-PAH-okat, illetve szulfonsavakat eredményezve. Olyan tényezők, mint a már meglévő egészségi

állapot, személyes tulajdonságok, szokások, más szennyező anyagok jelenléte és az életkor szintén befolyásolhatják azokat a hatásokat, amelyeket a PAH-oknak való emberi expozíció okoz (ALEGBELEYE et al 2017).

A PAH-ok közvetett rákkeltő anyagok, amelyek csak azután válnak karcinogénné, miután xenobiotikus metabolizáló enzimek aktiválták őket, és reaktív metabolitokat képeztek (LUO et al. 2015). Az egyén genetikai hajlama befolyásolhatja a PAH rákkeltő hatását. Vannak emberek, akiknél nagyobb az esély a káros megnyilvánulásra és van, akiknél kevesebb. Ez a karcinogént metabolizáló enzimek (például citokróm P-450, glutation-S-transzferázok (GST-k)) génjeinek eltéréseiből adódik, továbbá a DNS-adduktum javítására szolgáló gének variációiból. A citokróm P-450 elsősorban a májban található, de jelen van a tüdőben, a bélnyálkahártyában és számos más szövetben is (IFEGWU–ANYAKORA, 2015).

Az emberi egészségre gyakorolt akut hatásai főként az expozíció mértékétől (például az időtartam hosszától), a koncentrációtól az expozíció során, a vegyület toxicitásától és az expozíció módjától függenek (lenyelés, belégzés, bőrrel érintkezés (4. ábra).



4. ábra – A policiklusos aromás szénhidrogének egészségügyi hatásai.

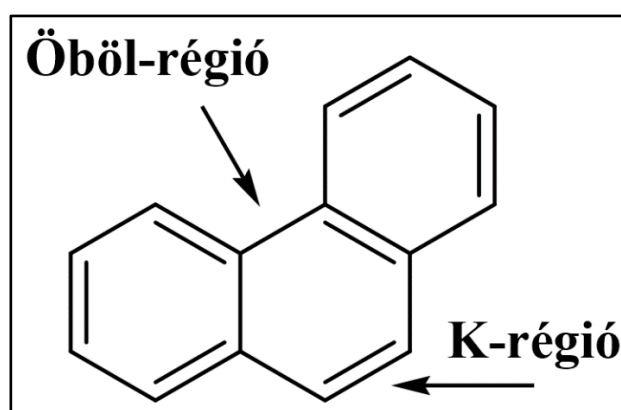
A rövid távú expozíciónál beszámoltak arról is, hogy asztmás betegeknél a PAH kitettség károsítja a tüdőfunkciót, és trombózis hatásokat okoz a szívkoszorúér-betegségben szenvedőknél, továbbá szem és bőr irritáció okozhat. A molekulatömeg növekedésével a PAH-ok karcinogenitása is növekszik az akut toxicitás csökkenésével (KIM et al. 2013. A hosszú távú PAH-expozíció eredményeként gyomor-, hólyag-, bőrdaganatokat és leukémiát is megfigyeltek. A felsoroltak mellett egyéb toxikológiai megnyilvánulásaik is vannak, beleértve a testtömeg-csökkenést, a máj megnagyobbodását sejtödémával, petesejt pusztulást és vesegyulladást (IFEGWU–ANYAKORA, 2015). Megállapították, hogy a

tüdőrákos megbetegedés legnagyobb eséllyel a kocsz, alumínium és acéliparban dolgozóknál alakul ki (MASTRANGELO et al. 1996).

Ahogy már beszéltünk, a talajokban is előfordulnak policiklusos aromás szénhidrogének, így erről sem szabad megfeledkeznünk. A mezőgazdasági talajokba kerülő PAH-ok környezeti kockázatot jelentenek a talaj élőlényekre, illetve a növények felszívhatják a tápanyagokkal együtt, így az emberre is veszélyt jelent (LAWAL, 2017).

Az Amerikai Környezetvédelmi Ügynökség szülő PAH-okat tartalmazó listáját (**2. ábra**) vizsgálva toxicitásuk szerint különböző szempontok alapján rangsorolni lehet a molekulákat. A listáról a naftalin az ivóvizekben jelentős mennyiségben előforduló szennyező anyag, mely képes kovalensen kötődni a vese és a tüdő szöveteihez, ezzel növelve a toxicitást. Továbbá a naftalinmérgezés nephrotoxicitáshoz és hemolitikus vérszegénységhez vezet (SAMANTA et al. 2002).

A listáról egy másik vegyület a fenantrén, mely enyhe allergén és mutagén, bizonyos körülmények között pedig, káros hatással van a baktériumokra. Mivel a fenantrénnek van a legkisebb öböl és K-régiója (**5. ábra**), ezért nem képződik erősen reaktív epoxidja, így előszeretettel használják mint szubsztrátként a rákkeltő PAH-ok vizsgálatakor.



5. ábra – A fenantrén öböl- és K-régiója.

Tovább haladva a listán a fluorantén és fluorén neurológiai problémákhoz vezethet (HOOD–LOGANATHAN, 2012). Az acenaftén toxicitása a naftalin és az antracén közzé tehető (MUNOZ–TARAZONA, 1993). Továbbá ismert, hogy rákkeltő tulajdonságokkal rendelkeznek a benzo(a)pirén, benzo(k)fluorantén, a benzo(b)fluorantén, a benzo(a)antracén és a dibenz(a,h)antracén SAMANTA et al. 2002).

A benzo(a)antracén esetében nem ismert, hogy állatok szervezetében dermális vizsgálatok során légzőszervi, kardiovaszkuláris, mozgásszervi, máj- vagy veseélettani elváltozások következtek volna be (RONALD, 2000). Viszont Ames-teszten, amely DNS-károsodást okozó rákkeltő anyagok rövid távú szűrésére szolgál, *Salmonella typhimurium*

TA98, TAI00 és S9 törzsek használata során mutagén tulajdonságokat mutatott ez a vegyület is (LAWAL, 2017; SALAMONE et al. 1979). Fontos megemlíteni, hogy a benzo(a)antracén és a benzo(a)pirén egyidejű alkalmazása során csökken a benzo(a)pirén metabolizmusa (RONALD, 2000).

Érdekes megemlíteni, hogy a többi PAH-al ellentétben a benzo(b)fluoranténnek más a metabolizmusa, nem alakul ki a dihidrodiol epoxid, helyette az 5-hidroxi származék kialakulásához vezető út a jellemző (MUMTAZ–GEORGE, 1995). Ez a vegyület mutagén volt rövid távú vizsgálatokban a *Salmonella typhimuriumban* a TAI00 és TA törzsekben (RONALD, 2000). Továbbá testvérkromatid cserét indukált kínai hörcsögöknél a csontvelősejtekben 450mg/kg testtömeg hashártyába történő beadás után (WHO, 1984). Arról nincs információ, hogy emberekben is rákkeltő-e a vegyület, de arról elég információ van, hogy egereknél mutatkozik ilyen tulajdonság, bár alacsonyabb a benzo(a)pirénnél (RONALD, 2000).

Nagyon kevés információ áll rendelkezésre a benzo(k)fluorantén szisztémás toxicitásáról (RONALD, 2000), továbbá az emberek esetén dermális úton való felszívódásról sincsen információ. Azonban más PAH-hoz hasonlóan ez a vegyület is képes behatolni néhány állat bőrébe, ezt kifejezetten az egereknél figyelték meg, már néhány óra kitettség után is (SARTORELLI, 1999). A benzo(k)fluorantén erős induktora az aril hidrogén hiroxiláznak (AHH) (SCHMOLDT et al. 1981). Feltételezhetően ennek a vegyületnek hasonló a metabolizmusa a benzo(b)fluorantén anyagcseréjéhez. Itt is végeztek vizsgálatokat a *Salmonella typhimuriumban* és TAI00 törzsében 10pg/lemez és TA98 törzsben 5pg/lemez koncentrációban exogén anyagcsere mellett mutációkat mutatott, emellett bizonyított, hogy gyenge tumorindító és rákkeltő anyag egereknél (RONALD, 2000).

Veszélyes anyag a dibenz(a,h)antracén, mivel a szemén és a bőrön égési sérüléseket okozhat, bár kívül további adatok nincsenek az akut toxicitásáról. MacNicoll rövid távú szervkultúrákban vizsgálta a dibenz(a,h)antracén metabolizmusát egerek bőrén (MACNICOLL et al. 1980). Kiderült a kutatásból, hogy a különböző PAH-ok metabolizálódásának sebessége és a bőr makromolekuláihoz kötődő mennyiségek eltérnek egymástól. Olyan dihidrodiol vegyületekké alakult át az összes PAH, melyek tovább metabolizálódhatnak diolepoxidokká (MACNICOLL et al. 1980).

Az Amerikai Környezetvédelmi Ügynökség Integrált Kockázati Információs Rendszere (IRIS) szerint DNS-károsodást és génmutációkat eredményezett baktériumokban és több emlős sejtkultúrában is a dibenz(a,h)antracén. Megvizsgálták emellett ennek a vegyületnek a mutagén aktivitását a Hep2G humán hepatóma sejtvonal sejteinek

felhasználásával (DIAMOND et al. 1984). Ebben a vizsgálatban is mutagénnek bizonyult a vegyület és az aktivitása nőtt a molekula egyik, vagy mindkét nem benzol öböl-régiójának metil-csoporttal történő helyettesítésekor. Ennek a vegyületnek a rákkeltő hatása az egerekben megegyezik a benzo(a)pirénnel (DIAMOND et al. 1984; SIMS, 1970).

A broncho-pulmonális onkogenezisben a dohányfüst lehet az egyik fő kiváltó ok (HUETZ–POUX, 2006). A dohányzással együttes alkoholfogyasztás az egészségre fokozottan káros hatással van. Kockázati tényezőt jelent a felső légúti és az emésztőtraktusi laphámok rákos megbetegedésében. Nehéz szétválasztani ezeket a tényezőket egymástól, de a fej nyaki daganatok 90%-ért felelnek hiányos étrend mellett (JOHNSON et al. 2011). A szivarfüst nagyobb koncentrációban tartalmaz karcinogén anyagokat, mint a dohányfüst, ezáltal nagyobb valószínűséggel okoz tüdő-, felsőlégúti-, vagy emésztőtraktus rákot (JOHNSON et al. 2011). Bebizonyított, hogy a rákos megbetegedések kialakítása mellett a dohányzás szerepet játszik annak felgyorsításában is (YOSHINO et al. 2007). A dohányfüstben jelen van és karcinogén hatású a benzén, a benz(a)antracén, a benzo(b)fluorantén, a benzo(b)fluorantén, a benzo(j)fluorantén, a benzo(k)fluorantén, a benzo(a)pirén, a dibenz(a,h)antracén, a dibenzo(a,e)pirén, a dibenzo(a,h)pirén, a dibenzo(a,i)pirén, a dibenzo(a,l)pirén és az ideno(1,2,3-c,d)pirén. Egy cigaretta tartalmazhat 320-40 nano gramm benzo(a)pirént is (JOHNSON et al. 2011).

Gyorsan komplex stresszváltozásokat indukál a dohányfüst a vaszkuláris endothelium sejtekben és a szervezetben keringő monocitákban a benzo(a)pirén tartalmától függetlenül (MURIEL et al. 2011). A benzo(a)pirén indukálja az epithéliás mezenchimális átmenetet (EMT), ez pedig segíti a betegség előrehaladását a tüdőrákos betegeknél (YOSHINO et al. 2007). Tehát szoros összefüggés van a tüdőrák előrehaladása és a benzo(a)pirén jelenléte között (GAO et al. 2020).

A policiklusos aromás szénhidrogének teratogén hatással is rendelkeznek, melyet megfigyelhetünk a benz(a)antracénnek, benzo(a)pirénnek és a naftalinnak kitett kísérleti állatoknál. Egereken végzett laboratóriumi vizsgálatok kimutatták, hogy a terhesség alatti nagy mennyiségű benzo(a)pirén bevitele születési rendellenességeket és csökkent testsúlyt eredményez az utódokban (KIM et al. 2013).

2. Benzo(a)pirén

2.1. A benzo(a)pirén jellemzése

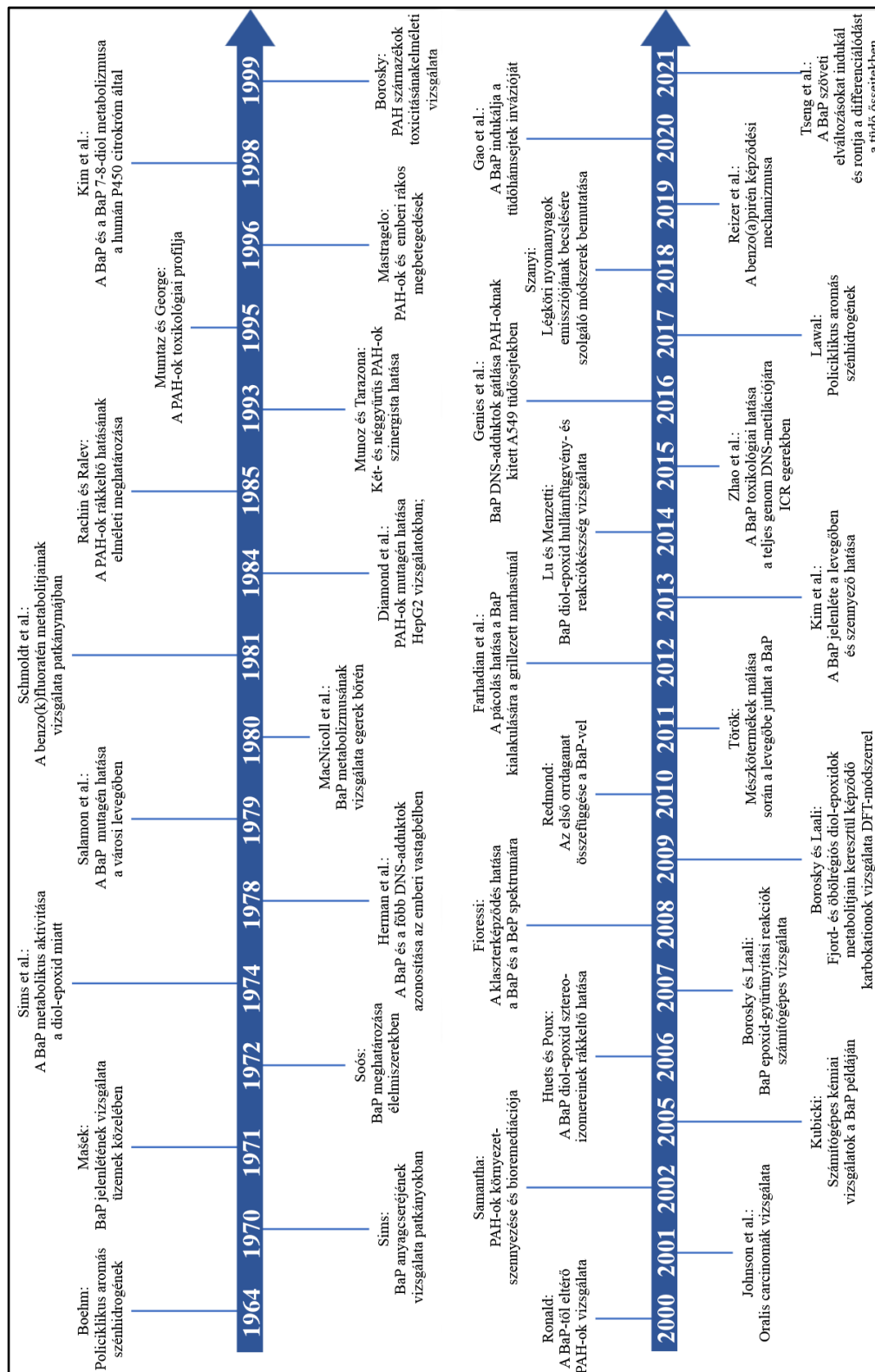
A 16-os lista legtoxikusabb vegyülete a benzo(a)pirén. Az emberre veszélyes rákkeltő anyagok első csoportjába sorolta ezt a vegyületet a Nemzetközi Rákkutató Intézet

(IARC) 2010-ben (FARHADIAN et al. 2012). Emellett a WHO (Egészségügyi Világszervezet) is karcinogén anyagnak tekinti. Mivel ez a vegyület felelős a leggyakoribb daganatos megbetegedésekért és a férfiak rákos megbetegedéseinek 18%-át teszik ki világszerte, ezért a PAH-ok és köztük a benzo(a)pirén tulajdonságainak mélyebb megértése különösen fontos (HUETZ–POUX, 2006).

Az elmúlt években számos kutatás történt a témával kapcsolatban, melyet az **6. ábra** kronologikusan próbál bemutatni az idő előrehaladtával.

A benzo(a)pirén molekulatömege 252,3 g/mol, összegképlete pedig $C_{20}H_{12}$. Számos elnevezésével találkozhatunk: benzo(a)pirén, 3,4 benzopirén, 3,4 benzpirén, 3,4-benzopirén, 3,4 benzpirén és b(a)p (PUBCHEM adatbázisa). Ahogy a legtöbb PAH esetében megszokott, a b(a)p is szerves anyagok tökéletlen égése során keletkezik (REIZER et al. 2019). Előfordul ipari hulladékokban, szénrel grillezett vagy füstölt készítményekben, dohányfüstben és a gépjárművek által kibocsátott gázokban, továbbá a talajban. Bejuthat az emberi szervezetbe bőrrel való érintkezés során, táplálék fogyasztásával, beléggzéssel és jelentős károkat okozhat a légzőrendszerben (FARHADIAN et al. 2012; MUNOZ–ALBORES, 2011). Mivel a benzo(a)pirén és a többi PAH is megtalálható az élelmiszerekben is, ezért a nemdohányzó embereknél a táplálkozás az egyik fő expozíció forrás (ROSE et al. 2015). A benz(a)pirénről ismert, hogy az emberi májban, tüdőben, izom- és zsírszövetekben raktározódik és koncentrálnak (GUO et al. 2015).

Bebizonyították, hogy a benzo(a)pirénnek való hosszú távú expozíció rákos elváltozások kialakulását okozza laboratóriumi állatokban. Ez a leggyakoribb PAH, amely állatokban rákot okoz, és ez volt az első kémiai rákkeltő anyag, amelyet felfedeztek (KIM et al. 2013). A gyomor, mint a lenyelt b(a)p-nek való kitettség elsődleges helye, a b(a)p által kiváltott karcinogenezis gyakori célpontja (WEI et al. 2016). Továbbá benzo(a)pirénnek való kitettség szerepet játszhat a nyelőcsőrák kialakulásának kockázatában (LAWAL, 2017).. A benzo(a)pirén felezési ideje a talajban 229-1500 nap (ALEGBELEYE et al 2017). Itt fontos megemlíteni, hogy a kis molekulatömegű PAH-okhoz képest a nagy molekulatömegűeket, például a benzo(a)pirént nehezebben bontják le a talajban őshonos mikrobák (QIAN–CHEN, 2012).

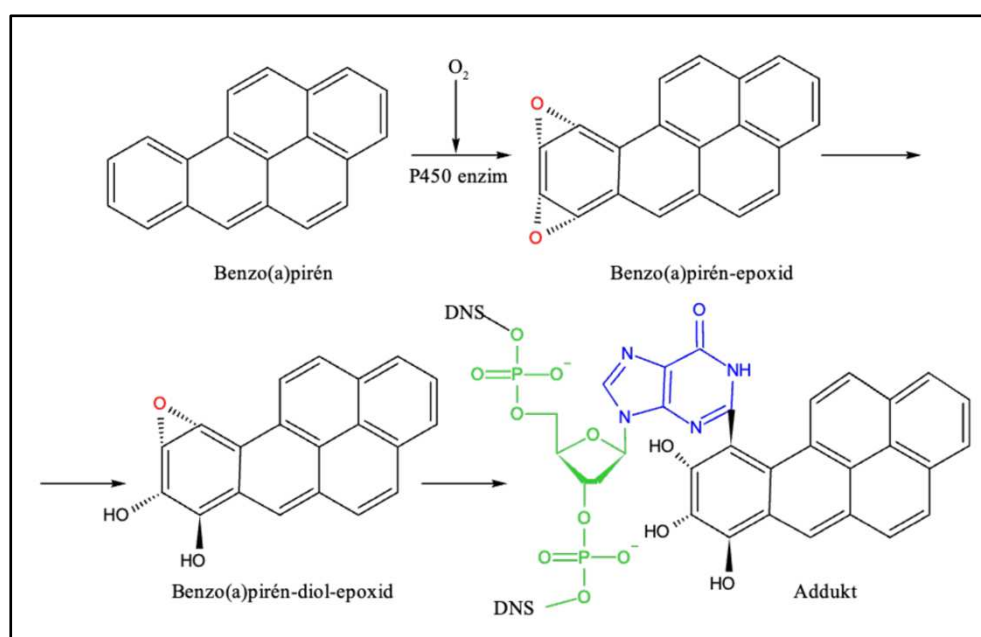


6. ábra – Válogatott benzo(a)pirénhez kapcsolódó kutatások kronológiája (BOEHM, 1964; BOROSKY, 1999; (BOROSKY–KENNETH, 2007, 2009; DIAMOND et al. 1984; FARHADIAN et al. 2012; FIORESSI et al. 2008; GAO et al. 2020; GENIES et al. 2016; HERMAN et al. 1978; HUETZ–POUX, 2006; KIM et al. 1998, 2013; JOHNSON et al. 2011; KUBICKI, 2005; LAVAL, 2017; LU–MANZETTI, 2014; MUNOZ–TARAZONA, 1993; MACNICOLL et al. 1980; MĂSEK, 1971; MASTRANGELO et al. 1996; MUMTAZ–GEORGE, 1995; RACHIN–RALEV, 1985; REDMOND, 2010; REIZER et al. 2019; RONALD, 2000; SALAMONE et al. 1979; SAMANTA et al. 2002; SCHMOLDT et al. 1981; SIMS, 1970; SIMS et al. 1974; SOÓS, 1972; SZANYI, 2018; TÖRÖK, 2011; TSENG, 2021; ZHAO, 2015)

2.2. A benzo(a)pirén metabolizmusa

A PAH-ok karcinogén hatásuk kifejtéséhez metabolikus aktiválást igényelnek, és az egyik fontos útvonal egy háromlépéses szekvencián keresztül megy végbe, ami diol-epoxidok képződését eredményezi, amelyek reakcióba lépnek a DNS-el, és olyan adduktumokat hoznak létre, amelyek mutációkat okozhatnak és beindítják a rákkeltő folyamatot (LAWAL, 2017)..

A benzo(a)pirénnél a leggyakoribb mechanizmus az öböl régióhoz kötődő dihidrodiol epoxidok kialakulása a P450 enzim jelenlétében (7. ábra) (KIM et al. 1998; MUNOZ–ALBORES, 2011). A végső aktív metabolit a 7,8-dihidrodiol-9,10-epoxid-2 diasztereomer öböl-régiójában nyilvánul meg (BOROSKY–KENNETH, 2007). . Számos egyéb enzim is szükséges például a CYP 1A1, 1A2, 1B1 és 3A4. A CYP 1A1 a benzo(a)pirénnel könnyen kölcsönhatásba lép és elősegíti a vegyület metabolizációját (MUNOZ–ALBORES, 2011). A kutatott vegyület képes kapcsolódni az aril-szénhidrogén receptorhoz (AhR) (HONG et al. 2016), amely jelen van a citoplazmában és komplexet képez a p23 és Hsp90 fehérjékkel. Miután az AhR-b(a)p komplex kialakul a Hsp90 felszabadul és az AhR a PAH-al együtt a sejtmagba vándorol. Itt kialakul egy heterodimer az ARNT-vel (Ah Receptor Nuclear Translocator), majd egy ún. xenobiotikus válaszelemen (XRE) keresztül a DNS-hez kötődik (MUNOZ–ALBORES, 2011). A BPDE a DNS guanozin csoportjához kapcsolódik kovalens adduktként (SHOU et al. 1993). A keletkező adduktumot számos in vitro és in vivo vizsgálatban kimutatták (GENIES et al. 2016; HERMAN et al. 1978; ZHAO, 2015).



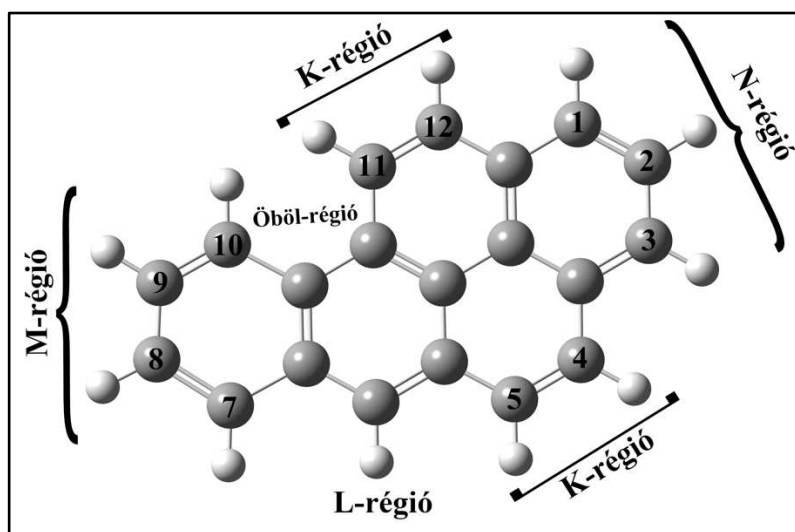
7. ábra - A benzo(a)pirén kölcsönhatása a DNS-el.

A kvantumkémiai számítások azt is kimutatták, hogy az epoxidgyűrű merőlegesebben hajlik a szöggyűrű síkjára több karcinogénizomer esetében, ami egy lehetséges geometriai összefüggésre utal az epoxidcsoport dőlése és a guanozin-csoporttal való kölcsönhatása között adduktáláskor. Az addukt képződés során az epoxidcsoport sav által katalizált gyűrűnyíláson megy keresztül, amely beindítja a kovalens kötést (LU-MANZETTI, 2014).

A BPDE 4 izomer formájában létezik, és a (+)-anti-7 α ,8 β -dihidroxi-9 α ,10 α -epoxi-7,8,9,10-tetrahidro-benzo(a)pirén (BPDE) a domináns izomer, ami enzimatikus vizsgálatokból derült ki (IFEGWU-ANYAKORA, 2015).

A biokémikusok jelenleg molekuláris modellezési technikákat alkalmaznak a szennyező anyagok és szervezetek közötti molekuláris szintű kölcsönhatások felmérésére. A molekuláris toxicitási mechanizmusok azért fontosak, mert általános elveket lehet levezetni annak előrejelzésére, hogy mely vegyületeknek lesz jelentős biológiai hatása (KUBICKI, 2005).

A benzo(a)pirén BPDE-vé történő átalakulásának első lépése a vegyület egyelektronos oxidációja gyökkationná. A gyökkation képződése a PAH ionizációs potenciáljától (IP) függ, küszöbértéke körülbelül 710 kJ/mol; ezért az IP-k kiszámítása az egyik kulcs annak meghatározásához, hogy ez a reakció folytatódik-e vagy sem. Az IP becslést két módszerrel számították ki, az alapállapot legmagasabb elfoglalt molekuláris pályájának (HOMO) energiájának felhasználásával és az alapállapot és a gyökkationpotenciálenergia közötti különbséggel (KUBICKI, 2005).



8. ábra – A benzo(a)pirén régiói

Egyelőre azonban nem teljesen világos hogyan függ össze a PAH-ok szerkezete a rákkeltő hatásukkal. Vuayalaksmi és Suresh vizsgálatukban a MESP-t (molekuláris

elektrosztatikus potenciált) határozták meg, hogy kiderüljön a régiók milyen mértékben befolyásolják a karcinogenitást (K-,L-,M-, öböl-régió) (8. ábra), kiderült, hogy minden régiónak jelentős szerepe van a rákkeltő hatás kialakításában (VUAYALAKSHMI–SURESH, 2008).

Számos elméleti tanulmány született, mivel számítógépes kémia sokrétű felhasználási körrel rendelkezik, melyek jelentősen megkönnyítik a kutatók munkáját.

Borosky és Kenneth több kísérletet is végeztek. 2007-ben 7,8-dihidrodiol-9,10-epoxid-2 öböl-régióját vizsgálták, a szerkezeteket teljesen optimalizálták és a minimumokat a harmonikus rezgési frekvenciák kiszámításával jellemezték. Kiszámolták az epoxid gyűrűnyitási reakciók energiaváltozásait. A számításokat a B3LYP/6-31G* szinten végezték. Megállapították, hogy fluorozás csökkenti az epoxidos nyitási reakció exotermitását, ezért a fluorozott vegyületek kevésbé aktívak, mint a kiindulási vegyület (BOROSKY–KENNETH, 2007).

2009-ben O-protonált öböl-régió és K-régió epoxid felnyílása benzilkarbokation képzését vizsgálták, amely képes kovalens adduktok kialakítására a nukleinsavakkal. A fjord-régiós karcinogén dibenz(a,l)pirén erősebb mutagénnek bizonyult, mint az öböl-régiós b(a)p és a PAH-ok közül a legveszélyesebb rákkeltőnek tartják (BOROSKY–KENNETH, 2007).

Fioressi a benzo(a)pirén klaszterképződését tanulmányozta. Az aggregáció befolyásolja kémiai, fotofizikai és biológiai tulajdonságait, ezért fontos tulajdonság. A sűrűségfüggvény-elmélet (DFT) a legelterjedtebb teljes elektron elméleti módszer, amelyet nagy molekulákra alkalmaznak, de a funkcionálisok jelenlegi generációja nem pontosan reprezentálja a van der Waals kölcsönhatásokat. A közelmúltban azonban ígéretes eredményeket hozott a diszperziós tagok hozzáadása a DFT energiákhoz. Ezután minden optimalizált szerkezetre MP2/6-31G* egy pontos számítást végeztek, hogy megkapják a relatív energiákat és a HOMO–LUMO elválasztást (FIORESSI et al. 2008).

A diolepid jelentős rákkeltő aktivitását is kimutathatjuk számításokkal. A kísérleti eredmények azt mutatták, hogy a benzo(a)pirén-7,8-diol-9,10-epoxid, amely erősen mutagén, nagy reakcióképessége miatt nehezen állítható elő. A BDPE hidrolízisének a protonálódás és a gyűrűnyitás összehangolt módon megy végbe azon általános savaknál, amelyek pKa értéke < 8. Mivel a diol-epoxid epoxid gyűrűje egyre instabilabbá válik a protonálódás szempontjából, és a gyűrűnyitás ΔH exoterm, a rákkeltő hatás fokozódik. A benzo(a)pirén erősen rákkeltő (BOROSKY, 1999).

II. Módszerek

1. A reakciómechanizmus vizsgálata

A számítógépes kémia a módszerek tekintetében széles tárházzal rendelkezik. A módszerek három nagy osztályba sorolhatóak: *ab initio* vagy ún. hullámfüggény alapú módszerek, sűrűségfucionál alapú módszerek (DFT) valamint gyakoriak a kísérletekből származó korrekciókat is tartalmazó szemiempirikus módszerek. A kutatás célja olyan módszereket alkalmazni, amelyek pontosak és megfelelően alkalmazhatók a reakciók vizsgálatára (**1. táblázat**). Ezért a mechanizmus tanulmányozására az alábbi alkalmazásával kerül sor: egy *ab initio* (HF/6-31G(d)), két DFT (B3LYP/6-31G(d); ω B97X-D/6-31G(d)) és egy szemiempirikus (PM6) módszer. A számolásokat gázfázisban, illetve implicit vízmodell alkalmazásával is kiviteleztük.

1. táblázat: A kutatás során alkalmazott számítógépes kémiai módszerek.

Módszerek típusa	Módszer/bázis szet
<i>ab initio</i>	HF/6-31G(d)
DFT	B3LYP/6-31G(d)
	ω B97X-D/ 6-311++G(d,p)
szemiempirikus	PM6

A kutatás fókuszpontjában az erősen mutagén és karcinogén policiklusos aromás szénhidrogén, a benzo(a)pirén áll, amely a DNS-hez kapcsolódva rákos sejtek kialakulását eredményezi. E kapcsolat tanulmányozására specifikus eszközökre van szükség, amelyekkel mélyebben megérthető a molekuláris rendszer működése. Az alábbi részben a molekulatervező programok, a kvantumkémiai számításokhoz szükséges szoftverek és módszerek kerülnek bemutatásra, figyelembe véve a felhasználási sorrendjüket is.

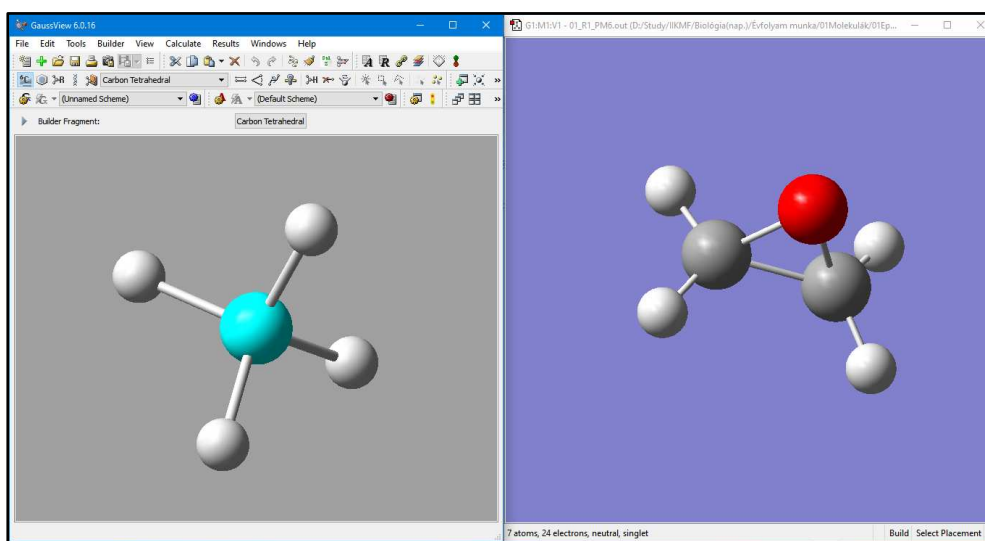
A kutatási folyamat első lépésében a vizsgálni kívánt reakciómechanizmus került megtervezésre és ábrázolásra. A molekuláris szerkezetek sematikus 2D-s ábrái (**7. ábra**) valamint a legfőbb PAH-okat bemutató **2. ábra** is a KingDraw program felhasználásával készült el (**9. ábra**).



9. ábra - A KingDraw program fejléce.

A molekulák a konvencionális Kekulé képletük szerint kerültek ábrázolásra. A KingDraw programban megtalálhatóak előre elkészített molekulák is, amelyek

felhasználhatóak komplexebb szerkezetek felépítéséhez. Ezzel a lehetőséggel élve, a PAH-ok ábrázolása benzolgyűrűk egymáshoz illesztésével lett megoldva. Az ábrák a KingDraw programból különböző képformátumokban exportálhatóak. Az elkészített ábrák későbbi esetleges módosítás céljából „king” kiterjesztésű formátumba is el lettek mentve, amely a software saját fájl típusa. A molekulák 2D-s szerkezetei mellett azok 3D-s modelljeit is elkészítésre kerültek, amelyhez a Gauss View 6 szoftver lett alkalmazva (**10. ábra**). További ábrák elkészítésére az Adobe Photoshop CC 2022 verziójú képszerkesztő program használata adott lehetőséget, amelyből a dokumentumok „.psd” és „.jpg” kiterjesztésbe lettek elmentve.



10. ábra - A Gauss View 6 program felhasználói felületei.

A Gauss View 6 programban a molekulák geometriája kémiai intuícióra alapozva kerültek megszerkeztésre. Ezt követően a fájlok „.gif” formátumban lettek elmentve, majd a Notepad++ program segítségével készültek el a Gaussian 09 programcsomag számára beolvasható input fájlok. Kiseb molekulák esetén (pl. H_2O , H_3O^+) a Gaussian 09 programcsomag asztali gépeken vagy laptopokon is jól használható, azonban nagyobb rendszerek számolásához nélkülözhetetlen a szuperszámítógép használata, ahol a program Debian Linux környezetben működik. Ennek következtében a kutatás során a parancssoros felhasználói felülettel is megismerkedtem.

Az input fájl helyes megszerkeztése kulcsfontosságú. Az input fájl első sora az ún. „root section”, amely egy „#” jellel kezdődik (**11. ábra**). Ebben a sorban kell feltüntetni az elméleti szintet a módszer és a bázis szet beírásával. A módszerek mellett egyéb parancsok is megadhatók, mint például az Opt és Freq, amelyek a molekula szerkezetének optimalizálását (Opt) és a frekvenciaszámolást (Freq) jelenti. Ezután egy üres sor következik, majd pedig az ún. „Title”, ahol az input fájlhoz megjegyzések fűzhetőek.

```

05_I2_B3LYP.gjf A dokumentum neve
1 # B3LYP/6-31G(d) Opt Freq
2 Módszer és Bázis set Parancsok
3
4
5 Epoxide+ Itt meglehet nevezni a fájlt
6
7 1 1 Töltés és Multiplicitás
8 C -0.64670100 0.50433800 0.04437700
9 C 0.45001000 -0.53546300 -0.04881900
10 O -1.82687700 -0.24090700 -0.01967000
11 H -0.55740800 1.04657500 0.97788800
12 H -0.57333400 1.20817700 -0.77730000
13 H Atomok 0.45086300 -1.20531500 0.79138000
14 H 0.46068800 -1.07018000 -0.98152600
15 H -2.57302300 0.34260000 0.03807400
16 O 1.75759500 0.18659500 0.06089400
17 H 2.48690600 -0.35429600 0.38093500
18 H 2.03970600 0.65368500 -0.73259000
19
20
Az atomok koordinátái

```

11. ábra – Az input fájl szerkezete.

Majd egy másik üres sor következik, amit a molekula töltése és multiplicitása követ. Ezt követően a molekulát alkotó atomok és a megfelelő koordináták kerülnek felsorolásra. Ez adja meg az atomok kiindulási helyzetét és ezek segítségével tudja a Gaussian elvégezni a számításokat. Az input fájl az asztali gépekre vagy laptopokra feltelepített Gaussian 09 programcsomagban „.gjf”, a szuperszámítógépen a „.com” kiterjesztésű inputok beolvasásával indul. Az input fájlok beolvasásakor a Gaussian 09 érzékeli a megadott parancsokat és ez alapján végzi a számításokat. A folyamat végén minden molekuláris szerkezethez egy output fájlt készít a program, amely a számítások menetét, valamint a legfőbb energetikai és termodinamikai eredményeket tartalmazza. Az output fájl bármilyen egyszerű szövegszerkesztő programmal megnyitható. Ez elsőként tartalmaz egy leírást a software verziójáról, és arról, hogy mikor volt elvégezve a számítás. Ezután megtalálható a kódsor, ami az input fájlban került megadásra. Majd a számításról végzett információk következnek. Innen nyerhetők ki a kutatás szempontjából releváns energetikai és termodinamikai értékek (zérus-ponti energia, termális energia, entalpia, szabadentalpia, entrópia, frekvencia) valamint azok korrekcióit (12. ábra).

```

02_RC_B3LYP_ok.log
3114 Zero-point correction= 0.094396 (Hartree/Particle)
3115 Thermal correction to Energy= 0.100501
3116 Thermal correction to Enthalpy= 0.101445 Korrekciók
3117 Thermal correction to Gibbs Free Energy= 0.065323
3118 Sum of electronic and zero-point Energies= -230.456225 Zérusponeti energia
3119 Sum of electronic and thermal Energies= -230.450120 Termális energia
3120 Sum of electronic and thermal Enthalpies= -230.449176 Entalpia
3121 Sum of electronic and thermal Free Energies= -230.485298 Szabadentalpia

```

12. ábra – Termodinamikai paraméterek a Gaussian 09 output fájlban.

2. A reakcióban résztvevő molekulák dokkolása a DNS-hez

A benzo(a)pirén és a DNS kölcsönhatása ún. molekuláris dokkolással is vizsgálható, melyhez az AutoDock Vina 1.1.2 programcsomag került alkalmazásra (Trott-Olson, 2010). A program segítségével egy ligandum és egy makromolekula, esetünkben a DNS kölcsönhatása határozható meg. Eredményként a legideálisabban illeszkedő ligandum-makromolekula komplex pozíciók kaphatóak meg, melyeket a kötési affinitásuk alapján rangsorol a program (Liu et al. 2018). A molekuláris dokkolás folyamatában a két kulcsfontosságú szereplő az energia és a geometria (Rengarajan, 2015).

Első lépésként a DNS molekula szerkezetét kell elkészíteni, ehhez a 1HF0 (RCSB PDB adatbázisa) makromolekula lett alkalmazva a számítások során, a RCSB Protein Databank adatbázisából (Anon n.d.-c. Eltávolításra kerültek a két fehérjelánc és a víz molekulák, mivel a számítások szempontjából ezek nem lényegesek, majd „pdbqt” formátumba lettek elmentve. Ezután a ligandumok kerültek elkészítésre, melyek geometriája PM6 szemiempirikus módszer számításai által kapott értékekkel lettek meghatározva. A torziós pontokon figyelembe lettek véve a ligandumok flexibilitása, majd szintén „pdbqt” formátumba történt a mentés. Következő lépésként a GridBox mérete került meghatározásra, mely a kutatási területet fedi le. Ún. vak dokkolás történt, mely lefedi a teljes molekulát és a ligandumokat. A GridBox mérete $25 \times 35 \times 10$ Å volt, míg az x-, y-, és z dimenziók értéke egységesen 126 volt. A térköz 0,603 Å volt.

A dokkoláshoz konfigurációs fájlokat kellett készíteni, melyek tartalmazzák a ligandumok és a makromolekula fájlnevét, továbbá a GridBox méreteit. Ezek .txt formátumba lettek elmentve. Mivel az AutoDock Vina szoftvernek nincs grafikus felülete, így parancssorból kell elindítani a számolást, melyben meg kell adni a konfigurációs fájl helyét és a log fájl nevét, majd számítás lefutását követően létrejön egy output és egy log fájl.

Az output fájl a PyMol programban került megnyitásra és a szemléltetés szempontjából legjobbnak tűnő vizualizáció elkészítésében töltött be szerepet, majd a szerkezetek képként lettek elmentve.

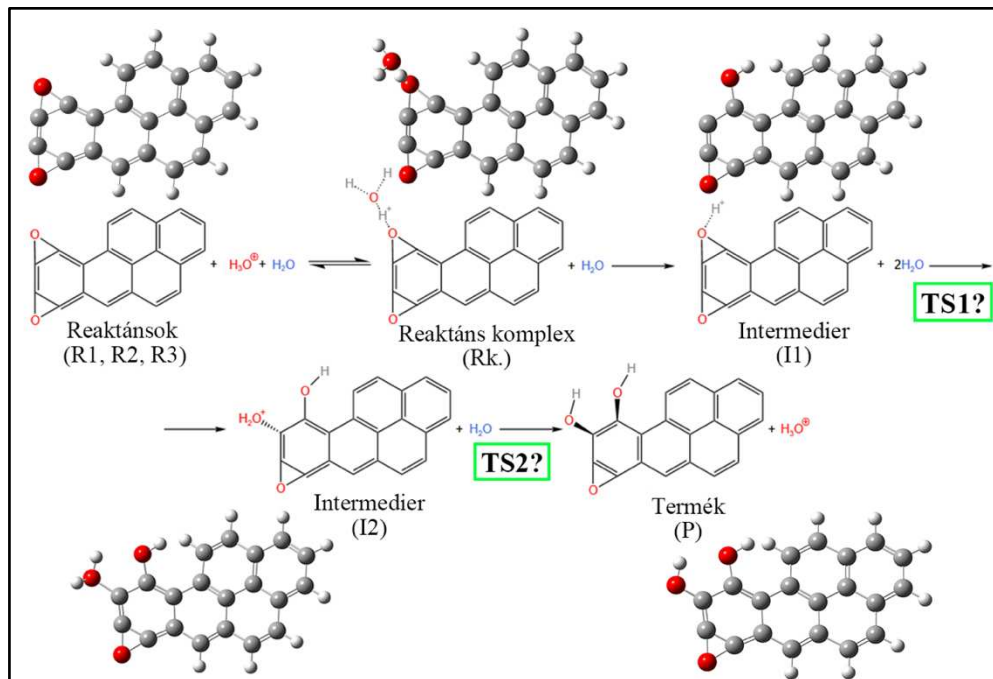
3. A b(a)p régióinak vizsgálata

A benzo(a)pirénből a P450 enzim aktivitásának hatására kialakul a benzo(a)pirén epoxid. Kulcsfontosságú lépés a molekula epoxid gyűrűjének felnyílása a karcinogén DNS addukt képződése során.

A policiklusos aromás szénhidrogének szerkezetét vizsgálva több régiót különíthetünk el és ezek eltérő tulajdonságokkal rendelkeznek a karcinogenitást figyelembe véve, így a benzo(a)pirén vizsgálata során ezzel is számolni kell. Ahhoz hogy ezt megtehessek összesen 14 benzo(a)pirén-epoxid került megrajzolásra a GaussView 06 programmal, mivel a *syn* és *anti* izomerek is figyelembe lettek véve. A következő *syn* és *anti* izomerek kerültek megrajzolásra: 1,2-b(a)p-epoxid, 2,3-b(a)p-epoxid, 4,5-b(a)p-epoxid, 7,8-b(a)p-epoxid, 8,9-b(a)p-epoxid, 9,10-b(a)p-epoxid és 11,12-b(a)p-epoxid (**1. ábra**). A megrajzolt szerkezeteket optimalizáltuk kvantumkémiai módszerekkel, mely során a már ismertett Gaussian 09 program került alkalmazásra. A legpontosabb eredmények érdekében a számítások során, az alkalmazott módszerek közül a legmagasabb elméleti szintű ω B97X-D módszer, 6-311++G(d,p) bázis szettel került alkalmazásra. A számítások lefuttatására a magas elméleti szint alkalmazása miatt csak szuperszámítógépen volt lehetőség. A kapott output fájlból ki lettek gyűjtve a termodinamikai paraméterek, a kutatás fő fókuszában azonban a benzo(a)pirén-epoxid szabadentalpia értékei álltak. Első sorban az epoxid gyűrű helyzetéhez köthető energiaértékek kerültek összehasonlításra, így megkapva azt a régiót, ahol legnagyobb a valószínűség arra, hogy epoxid képződik és ezáltal ott történhet meg a gyűrű nyitási reakció, ezzel megindítva a karcinogén addukt képződést a DNS-el.

III. Eredmények és értékelés

Az alábbi dolgozat fő célja a benzo(a)pirén erősen reaktív benzo(a)pirén-diol-epoxiddá történő átalakulása során lejátszódó reakciómechanizmus vizsgálata különböző számítógépes kémiai módszerekkel (13. ábra).



13. ábra – A vizsgált reakciómechanizmus.

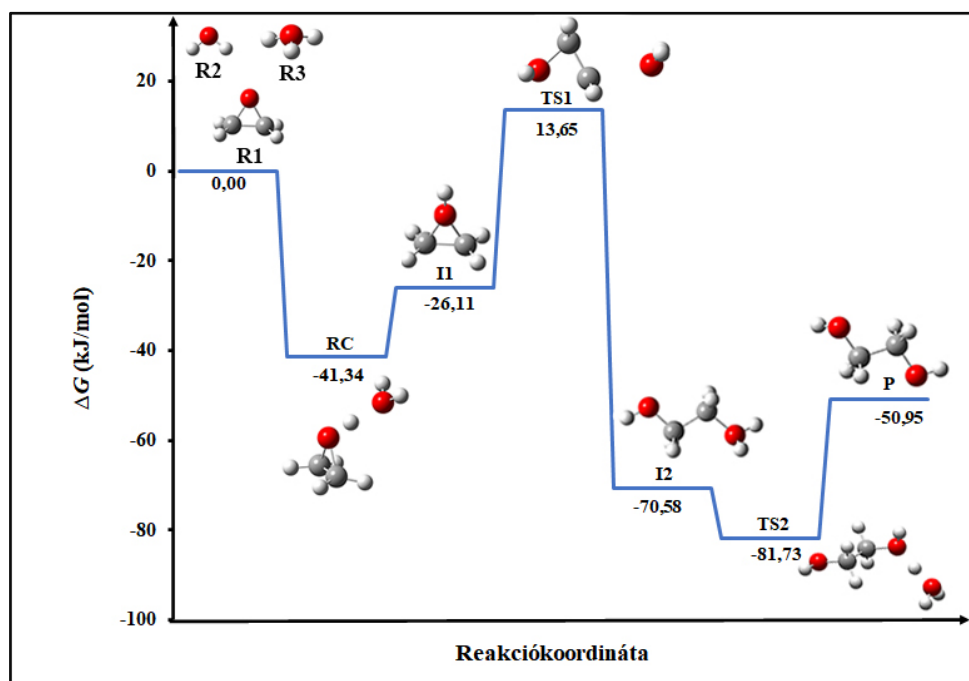
Három reaktáns, két intermedier, két átmeneti állapot és maga a termék található meg a reakciómechanizmusban. A folyamat öt lépésen megy keresztül, mely közül az elsőben a benzo(a)pirén-epoxid (R1) reagál az oxónium-ionnal (R2) és a vízzel (R3), mely következtében kialakul a reaktáns komplex (Rk.). A következő lépésében víz eliminációja révén kialakul az első intermedier (I1), azaz első közti termék protonált b(a)p-epoxid képeben. Feltételezhetően vízdaddíció következtében keletkezik az első átmeneti állapot (TS1), melyen keresztül képződik a második intermedier (I2). A két intermedier között megfigyelhető változás, az epoxid gyűrű felbomlása, melynek kulcsfontosságú szerepe van a reakció lefolyásában. A második közti termék és a termék között feltételezhetően egy második átmeneti állapot is létezik (TS2), mely során a második intermedier leadja a felesleges protonját egy víznek, így képződik egy oxónium-ion és a termék (P), ami nem más, mint az erősen reaktív benzo(a)pirén-diolepid.

A módszerek részben ismertett elméleti szinteken futottak le a számítások. Továbbá minden számítás gáz fázisban és implicit oldószer modell alkalmazásával is kivitelezre kerül. A dolgozat írásának pillanatnyi idejében a PM6 és PM6 vizes közegben történő előzetes számítások már lefutottak, melyek alapján elkezdődött a többi módszerrel

is a számolás, de a módszerek időigényessége miatt, egyelőre még eredmények nem születtek. Sikerült lokalizálni lehetséges átmeneti állapotokat, viszont nem azokat, amelyek, feltételezhetően ebben a reakciómechanizmusban játszódnak le.

Egy modellrendszer alapján már végeztem számításokat. A modellrendszert a b(a)p epoxid gyűrűje alkotta, s a fent vázolt reakciómechanizmus során lejátszódó gyűrűnyitási folyamatot vizsgáltam. Az eredményeket a HF/6-31G(d)-t implicit oldószermodell alkalmazásával kaptam. Meghatároztam a reakció termodinamikai paramétereit és a hozzá tartozó potenciális energiagörbét megrajzoltam (**14. ábra**).

Megfigyelhetjük, hogy a reakció első lépésben a reaktáns komplex képződése kedvezményezett ($\Delta G = -41,3$ kJ/mol). A következő lépésben 15,2 kJ/mol-lal növekszik a rendszer szabadentalpiája, amikor kialakul a protonált etilén-oxid (II). Az első átmeneti állapot 39,8 kJ/mol-lal helyezkedik el magasabban az II-hez képest, azonban a kiindulási állapothoz képest csupán 13,7 kJ/mol a gátmagasság. Ezután jelentős stabilizálódás következik, amit az is mutat, hogy a második intermedier relatív szabadentalpia értéke -70,6 kJ/mol-lal van a belépő szint alatt. A teljes mechanizmust nézve ez a lépés jár a legnagyobb energiaváltozással. Ezt követően a TS2 esetén a relatív szabadentalpia tovább csökken -11,2 kJ/mol-lal. A proton transzfer után pedig megkapjuk a végterméket, aminek -50,95 kJ/mol-lal alacsonyabb a relatív szabadentalpiája, mint a kiindulási állapotnak. Ezzel elmondhatjuk, hogy a reakció lefutása kedvezményezett és megtörténhet az addukt képződés.



14. ábra A vizsgált modell reakció egyes lépéseinek relatív szabadentalpia értékei a HF/6-31G(d) elméleti szinten vizes fázisban.

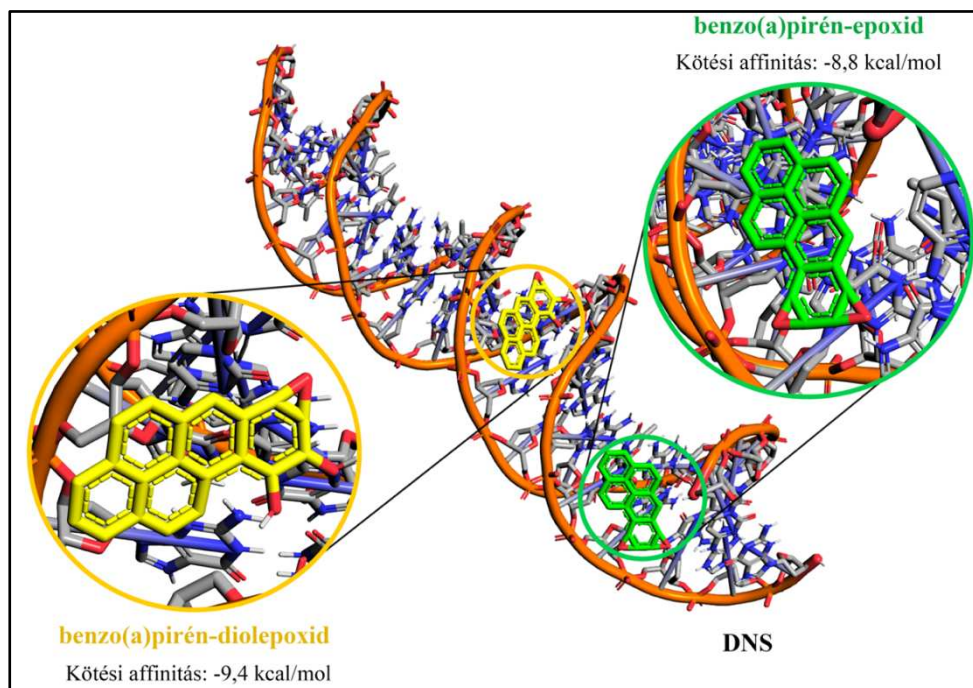
Az előzetes számítások alapján készültek el a dokkoláshoz szükséges ligandumok: benzo(a)pirén-epoxid, benzo(a)pirén-diolepid, továbbá a modellrendszerként alkalmazott epoxid és etán-diol szerkezete is felhasználásra került. Az AutoDock Vina programmal a dokkolás elvégzése után a **2. táblázatban** szereplő kötési affinitás értékeket kaptam, melyet kiegészítettem a benzo(a)pirénnel, amelyet már korábban vizsgáltak (SÖJTÖR et al. 2022).

2. táblázat: A dokkolás során kapott kötési affinitás értékek

Név	Kötési affinitás (kcal/mol)
Epoxid	-2,4
Etán-diol	-3,4
Benzo(a)pirén	-8,5
Benzo(a)pirén-epoxid	-8,8
Benzo(a)pirén-diolepid	-9,4

A dokkolás során a program több kötési módot határoz meg, esetünkben 9-et, ezek lehetnek a legjobban illeszkedő szerkezetek, melyeket az eredményként kapott output fájl tartalmaz. Minden esetben a legkisebb kötési affinitás érték volt a mérvadó. A kötési affinitás nem más, mint a receptor-ligandum kölcsönhatás erősségére jellemző energia mennyiség. Minél kisebb ez az érték annál stabilabb kötés jön létre. Minden esetben kedvezményezett volt az addukt képződés.

A modellrendszer esetében volt a kötési affinitás a legkisebb, az epoxid esetében -2,4 kcal/mol, a felnyílt epoxid gyűrű következtében keletkezett etán-diol esetében pedig -3,4 kcal/mol. A kapott értékeket figyelembe véve kiderül, hogy a modellrendszer alkalmazása indokolt volt a kutatás során. A benzo(a)pirén -8,5 kcal/mol energiaértéket ért el, így kijelenthető, hogy már a „szülő” PAH esetében is jelentős az addukt képződés. A citokróm P450 enzim hatására képződött benzo(a)pirén-epoxid (**15. ábra**) kötési affinitása -8,8 kcal/mol, így már a reakciómechanizmusban résztvevő reaktáns is jelentős kölcsönhatás kialakítására képes, viszont, ahogy sejteni lehetett a benzo(a)pirén-diolepid (**15. ábra**) rendelkezik a legkisebb kötési affinitás értékkel, ami -9,4 kcal/mol. Ez az érték tökéletesen reprezentálja, hogy miért is annyira fontos ennek a kifejezetten reaktív molekulának a tanulmányozása és miért születik számos tanulmány a témával kapcsolatban.



15. ábra – A 22 nukleotid hosszúságú emberi DNS-lánchoz dokkolt *b(a)p*-epoxid és *b(a)p*-diolepoxid.

A benzo(a)pirén-diol epoxid 9 kötési mód közül 5 alkalommal köt be a 12-16. bázispárok (Guanin-Citozin; Adenin-Timin) közelében, melyek a következők sorrendben: G—C; G—C; C—G; A—T; A—T, miközben a reaktáns benzo(a)pirén-epoxid ugyanezen helyre 2-szer köt be. Továbbá a BPE és BPDE 2-szer köt be a 7-11. bázispárok közelében: T—A; G—C; A—T; A—T; A—T. Így levonható az a következtetés, hogy szakirodalmi forrásoknak megfelelően a citozin és guanin bázisokkal előszeretettel létesít kapcsolatot a BPDE és létrejön a karcinogén addukt.

A PAH-ok különböző szerkezetén különböző régiók különíthetők el, ez nincs másként a *b(a)p* esetében sem (**8. ábra**). A különböző régiókban eltérő energetikai tulajdonságok lehetnek, ezáltal nem mindegy, hogy melyik régióban helyezkedik el az epoxid-gyűrű. Megvizsgáltam 7 pár *b(a)p* epoxid *anti*- és *syn*-izomerjeinek a szabadentalpiaértékeit. Az *N*-régióban található az 1,2-*b(a)p*-epoxid és a 2,3-*b(a)p*-epoxid; a *K*-régióban a 4,5-*b(a)p*-epoxid és a 11,12-*b(a)p*-epoxid; az *M*-régióban a 7,8-*b(a)p*-epoxid és a 8,9-*b(a)p*-epoxid, végül az öblrégióban pedig, a 9,10-*b(a)p*-epoxid.

A lehető legpontosabb eredmények érdekében a számításokat az általam alkalmazott legmagasabb elméleti szintű módszerrel a ω B97X-D és a 6-311++G(d,p) bázis szettel végeztem el. Az egyes régiókban az *anti*- és a *syn*-izomerek közötti energiakülönbség közel nulla, ami megfelel az elvárásoknak.

A **3. táblázatban** látható az b(a)p-epoxid anti- és syn-izomerek energiakülönbségei az egyes régiókban. A legmagasabb energiaérték 0-val való egyenlítése után, annak különbsége adja meg az eltérést a régiók energiaértékei között.

3.táblázat: *A különböző régiókban elhelyezkedő b(a)p-epoxidok és izomerjeinek szabadentalpia különbségei*

	Név	Anti (kJ/mol)	Syn(kJ/mol)
K-régió_01	4,5-b(a)p-epoxid	0,00	0,00
K-régió_02	11,12-b(a)p-epoxid	18,80	18,80
M-régió_01	7,8-b(a)p-epoxid	40,61	40,62
Öböl-régió	9,10-b(a)p-epoxid	40,96	40,96
N-régió_01	1,2-b(a)p-epoxid	63,53	63,53
N-régió_02	2,3-b(a)p-epoxid	92,65	92,66
M-régió_02	8,9-b(a)p-epoxid	125,88	125,87

Jól látható, hogy az egyes régiókban nem igazán van különbség az izomerek között, viszont az epoxid-gyűrű helyzete érdekes értékekkel szolgál a különböző pozíciókban. A várakozásokkal ellentétben ugyanis, nem az öböl régiós 9,10-b(a)p-epoxid rendelkezik a legalacsonyabb szabadentalpiaértékekkel, hanem a K-régióban található 4,5-b(a)p-e. Sőt az öböl-régiós b(a)p-epoxidnál további két molekula is alacsonyabb energiaértékkel rendelkezik. A legalacsonyabb szabadentalpia értékhez viszonyítva a 9,10-b(a)p-e értéke 40,61 kJ/mol-lal magasabb, így a középmezőnyben helyezkedik el. Az N-régióban elhelyezkedő epoxidok pedig kevésbé aktívak, itt az energiakülönbség 63,53 és 92,65 kJ/mol a 4,5-b(a)p-epoxid értékeihez viszonyítva. A legnagyobb szabadentalpia értékkel rendelkező molekula a 8,9-b(a)p-e az M-régióban található, közvetlenül a 7,8-b(a)p-e szomszédságában, melynek energiakülönbsége csupán harmada a 4,5-b(a)p-epoxidhoz képest. Nem beszélhetünk nagy energiakülönbségekről, ennek ellenére kérdéseket vethet fel, hogy egy régióban, mi okoz ilyen eltéréseket, illetve az öböl régiós epoxid helyzete sem magyarázható ezzel a megközelítéssel.

Összefoglalás

A policiklusos aromás szénhidrogének (PAH-ok) életünk szerves részét képezik és számos kutatás bizonyította, hogy közülük több molekula is erősen karcinogén, terratogén és mutagén, így monitorozásuk és kutatásuk kiemelten fontos. A tökéletlen égés következtében keletkeznek, így a környezetbe rendkívül változatos módon képesek bekerülni. Legnagyobb mennyiségben a légkörben vannak jelen, ahonnan belégzés által könnyen bejuthatnak az élő szervezetekbe.

A benzo(a)pirén az egyik leginkább rákkeltő PAH, melynek a szerkezete öt kondenzált gyűrűből áll, metabolizmusa során epoxid gyűrűk keletkeznek a szerkezetén, további lépések következtében pedig kialakul az erősen reaktív benzo(a)pirén-7,8-dihidrodiol-9,10epoxid (BPDE). A reakció a P450 enzim segítségével következik be és a molekula képes karcinogén adduktot létesíteni a DNS guanin-bázisával.

Jelen dolgozat témája ennek a reakciómechanizmusnak a vizsgálata számítógépes kémiai módszerekkel. Először a reakcióban résztvevő molekulák 3D-s szerkezete került megrajzolásra. Majd különböző elméleti szinteken számítások kerültek elvégzésre a Gaussian 09 programmal. A PM6 módszerrel kapott előzetes eredmények jó kiindulási alapnak bizonyultak a pontosabb számításokhoz.

Az előzetes eredmények felhasználásával epoxid, etilén-oxid, benzo(a)pirén-epoxid és BPDE lignadumok kerültek dokkolásra a 22 nukleotidból álló megfelelően választott emberi DNS-lánchoz (PDB ID: 1HF0) az Autodock Vina 1.1.2 programcsomag használatával. Ennek során kiderült, hogy az előző kutatásokban alkalmazott modellrendszernek volt létjogosultsága. Az eredményként szolgáló kötési affinitás értéke, a benzo(a)pirén-epoxid esetében -8,8 kcal/mol volt, míg a BPDE esetében -9,4 kcal/mol. Így kijelenthető, hogy a BPDE sokkal stabilabb komplexet hoz létre a DNS-el, mint a benzo(a)pirén és a benzo(a)pirén-epoxid, így nagyobb a valószínűség arra, hogy a b(a)p karcinogén hatása ettől az adduktól függ leginkább.

A K-régióban elhelyezkedő epoxid-gyűrű jelenlétében rendelkezik a legalacsonyabb szabadentalpiaértékkel a b(a)p, amely további kérdéseket vethet fel. Például, hogy mi lehet ennek az oka és az öböl régióban elhelyezkedő epoxiddal rendelkező b(a)p, miért helyezkedik el a középmezőnyben.

Laboratóriumi kísérleteknél a b(a)p vizsgálata nehéz a toxicitása miatt, így a számítógépes kémia fontos szerepet játszik a témával kapcsolatos kutatásokban. A kapott eredményeket látva megérthető a reakció molekuláris lefutása és ezáltal különböző módszerek tervezhetők, amelyekkel csökkenthető a PAH-ok toxicitása.

Резюме

Поліциклічні ароматичні вуглеводні (ПАВ) є невід'ємною частиною нашого життя, багато досліджень довели, що деякі з цих молекул є сильними канцерогенами, тератогенами та мутагенами, тому їх моніторинг і дослідження надзвичайно важливі. Вони утворюються в результаті неповного згоряння, тому можуть потрапляти в навколишнє середовище різноманітними шляхами. Вони найбільш поширені у повітрі, звідки легко потрапляють в організми через вдихання.

Бензо(а)пірен є одним із найбільш канцерогенних ПАВ, структура якого складається з п'яти конденсованих кілець, під час метаболізму на його структурі утворюються епоксидні кільця, а подальші реакції призводять до утворення високореактивного бензо(а)пірен-7,8-дигідродіол-9,10-епоксиду (BPDE). Реакція відбувається за участю ферменту P450, а молекула здатна утворювати канцерогенний аддукт з гуаніновою основою ДНК.

Темою даної курсової роботи є дослідження механізму цієї реакції комп'ютерними хімічними методами. Спочатку була намальована тривимірна структура молекул, які беруть участь у реакції. Потім за допомогою програми Gaussian 09 були виконані розрахунки на різних теоретичних рівнях. Попередні результати, отримані за допомогою методу PM6, виявилися хорошою основою для більш точних розрахунків.

Використовуючи попередні результати, епоксид, етиленоксид, бензо(а)піренепоксид і ліганди BPDE були приєднані до відповідним чином обраного ланцюга ДНК людини з 22 нуклеотидів (PDB ID: 1HF0) за допомогою пакета програм Autodock Vina 1.1.2. У процесі з'ясувалося, що модельна система, використана в попередніх дослідженнях, має право на існування. Отримана афінність зв'язування становила -8,8 ккал/моль для епоксиду бензо(а)пірену та -9,4 ккал/моль для BPDE. Таким чином можна стверджувати що BPDE утворює більш стабільний комплекс ДНК ніж бензо(а)пірен і бензо(а)пірен-епоксид, тому ймовірніше, що канцерогенний ефект b(a)p залежить від цього аддукту.

За наявності епоксидного кільця, розташованого в К-області, b(a)p має найнижче значення вільної ентальпії, що може викликати додаткові запитання. Наприклад, що може бути причиною цього і чому b(a)p з епоксидом, розташованим в області рифм, займає проміжне положення.

Лабораторні експерименти для вивчення b (a) p є складними через його токсичність, тому комп'ютерна хімія відіграє важливу роль у відповідних

дослідженнях. З отриманими результатами можна зрозуміти молекулярний перебіг реакції та розробити різні методи для зниження токсичності ПАУ.

Irodalomjegyzék

ALEGBELEYE, O.O. – OPEOLU, B. O. – JACKSON, V. A. (2017): Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Critical Review of Environmental Occurrence and Bioremediation. – *Environmental Management* 60(4): 758-783.

BOEHM, P. D. (1964): Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). In: Morrison R. D. és Murphy B. L. (szerk.) *Environmental Forensics*. – Elsevier. p. 313-337.

BOROSKY, G L. (1999): Theoretical Study Related to the Carcinogenic Activity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Derivatives. – *Journal of Organic Chemistry* 64(21):7738–44.

BOROSKY, G. L. – KENNETH K. L. (2007): Oxidized Metabolites from Benzo[a]Pyrene, Benzo[e]Pyrene, and Aza-Benzo[a]Pyrenes. A Computational Study of Their Carbocations Formed by Epoxide Ring Opening Reactions. – *Organic & Biomolecular Chemistry* 5(14):2234–42.

Borosky, G. L. – Kenneth K. L. (2009): A DFT Model Study of the Carbocations Formed via the Fjord- and Bay-Region Diol Epoxide Metabolites of Isomeric Dibenzopyrenes and Naphthopyrene. – *European Journal of Organic Chemistry* (20):3331–39.

DIAMOND, L. – CHERIAN, K. – RONALD G. H. – DIGIOVANNI J. (1984): Mutagenic Activity of Methyl- and Fluoro-Substituted Derivatives of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in a Human Hepatoma (HepG2) Cell-Mediated Assay – *Mutation Research/Genetic Toxicology* 136(1):65–72.

FARHADIAN, A. – JINAP, S. – FARIDAH, A. – ZAIDUL, I. S. M. (2012): Effects of Marinating on the Formation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (Benzo[a]Pyrene, Benzo[b]Fluoranthene and Fluoranthene) in Grilled Beef Meat. – *Food Control* 28(2):420–25.

FIORESSI, S. E. – BINNING, R. C. – BACELO, D. E. (2008): Effects of Cluster Formation on Spectra of Benzo[a]Pyrene and Benzo[e]Pyrene. – *Chemical Physics Letters* 454(4–6):269–73.

GAO, H. – GUOZHU, Y. – LIN, Y. – CHI, Y. – DONG, S. (2020): Benzo[a]Pyrene at Human Blood Equivalent Level Induces Human Lung Epithelial Cell Invasion and Migration via Aryl Hydrocarbon Receptor Signaling. – *Journal of Applied Toxicology* 40(8):1087–98.

GENIES, C. – AMANDINE, J. –LEFEBVRE, E. – REVOL, M. – MAITRE, A. –DOUKI, T. (2016): Inhibition of the Formation of Benzo[a]Pyrene Adducts to DNA in A549 Lung Cells Exposed to Mixtures of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. – *Toxicology in Vitro* 35:1–10.

GHOSAL, D. – GHOSH, S. – TAPAN, K. D. –YOUNGHO, A. (2016): Current State of Knowledge in Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Review. – *Frontiers in Microbiology* 7(336):1–27.

GUO, J. – XU, Y. – WEIWEI, J. – SONG, L. – DAI, C. – ZHAN, L. (2015): Effects of Exposure to Benzo[a]Pyrene on Metastasis of Breast Cancer Are Mediated through ROS-ERK-MMP9 Axis Signaling. – *Toxicology Letters* 234(3):201–10.

HERMAN, A. – BENJAMIN, F. T. – ALAN, M. J. – CURTIS, C. (1978):Metabolism of Benzo(a)Pyrene and Identification of the Major Benzo(a)Pyrene-DNA Adducts in Cultured Human Colon1. – *Cancer Res* 38(11):3689–96.

HONG, C. H. – LEE, C. H. – YU, H. S. – HUANG, S. K. (2016): Benzopyrene, a Major Polyaromatic Hydrocarbon in Smoke Fume, Mobilizes Langerhans Cells and Polarizes Th2/17 Responses in Epicutaneous Protein Sensitization through the Aryl Hydrocarbon Receptor. – *International Immunopharmacology* 36:111–17.

HOOD, D. B. – LOGANATHAN, B. G. (2012): Global Environmental Distribution and Human Health Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. In: Loganathan B.G. és Lam P. K.-S. (szerk.): *Global Contamination Trends of Persistent Organic Chemicals*. – CRC Press, Taylor & Francis Group, p. 97–128.

HUETZ, P. – POUX, V. (2006): Carcinogenicity of Benzo[a]Pyrene Diol Epoxide Stereoisomers: A Linear Free Energy Relationship Study. – *Theochem* 764:167–76.

IFEGWU, O. C. – ANYAKORA, C. (2015): Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Part I. Exposure. – *Advances in Clinical Chemistry* 72:277–304.

JOHNSON, N. W. – GUY’S, K. – THOMAS, S. (2001): Az Oralis Carcinomák Etiológiája És Rizikófaktorai, Különös Tekintettel a Dohányzásra És Az Alkoholfogyasztásra. – *Magyar Onkológia* 45(2):115–22.

KIM, J. H. – STANSBURY, K. H. – WALKER, N. J. – TRUSH, M. A. – STRICKLAND, P. T. – SUTTER, T. R. (1998): Metabolism of Benzo[a]Pyrene and Benzo[a]Pyrene-7,8-Diol by Human Cytochrome P450 1B1. – *Carcinogenesis* 19(10):1847–53.

KIM, K. H. – JAHAN, S. A. – KABIR, E – BROWN, R. J. C. (2013): A Review of Airborne Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and Their Human Health Effects. – *Environment International* 60:71–80.

KUBICKI, J. D. (2005): Computational Chemistry Applied to Studies of Organic Contaminants in the Environment: Examples Based on Benzo[a]Pyrene. – American Journal of Science 305(6–8):621–44.

LAWAL, A. T. (2017): Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. A Review. – Cogent Environmental Science 3(1).

LIU, Z. – LIU, Y. – ZENG, G. – SHAO, B. – CHEN, M. – LI, Z. – JIANG, Y. – LIU, Y. – ZHANG, Y. – ZHONG, H. (2018): Application of Molecular Docking for the Degradation of Organic Pollutants in the Environmental Remediation: A Review. – Chemosphere 203:139–50.

LOVAS, F. J. – MCMAHON, R. J. – GRABOW, J.-U. – SCHNELL, M. – MACK, J. – SCOTT, L. T. – KUCZKOWSKI, R. L. (2005): Interstellar Chemistry: A Strategy for Detecting Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Space. – Journal of the American Chemical Society 127(12):4345–49.

LU, T. – MANZETTI, S. (2014): Wavefunction and Reactivity Study of Benzo[a]Pyrene Diol Epoxide and Its Enantiomeric Forms. – Structural Chemistry 25(5):1521–33.

LUO, K. – GAO, Q. – HU, J. (2015): Derivatization Method for Sensitive Determination of 3-Hydroxybenzo[a]Pyrene in Human Urine by Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry. – Journal of Chromatography A 1379:51–55.

MACNICOLL, A. D. – GROVER, P. L. – SIMS, P. (1980): The Metabolism of a Series of Polycyclic Hydrocarbons by Mouse Skin Maintained in Short-Term Organ Culture. – Chemo-Biological Interactions 29(2):169–88.

MAŠEK, V. (1971): Benzo(a)Pyrene in the Workplace Atmosphere of Coal and Pitch Coking Plants. – Journal of Occupational Medicine 13(4):193–98.

MASTRANGELO, G. – FADDA, E. – MARZIA, V. (1996): Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Cancer in Man. – Environmental Health Perspectives 104(11):1166–70.

MUMTAZ, M. – GEORGE, J. (1995): Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. – Georgia, 458 pp.

MUNOZ, B. – ALBORES, A. (2011): DNA Damage Caused by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Mechanisms and Markers. In: Chen C. (szerk.): Selected Topics in DNA Repair. – InTech, p. 125–144.

Munoz, M. J. – Tarazona, J. V. (1993): Synergistic Effect of Two- and Four-Component Combinations of the Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Phenanthrene,

Anthracene, Naphthalene and Acenaphthene on *Daphnia Magna*. – Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 50:363–68.

MURIEL, V. T. – CAMILLI, T. – ARON, Y. – MEPLAN, C. – HAINAUT, P. – . POLLA, B. S –WEKSLER, B. (2001): Effects of Tobacco Smoke and Benzo[a]Pyrene on Human Endothelial Cell and Monocyte Stress Responses. – Am J Physiol Heart Circ Physiol 280(3):H1239–1300.

Nébih hivatalos honlapja. Interneten: <https://portal.nebih.gov.hu/-/a-policiklusos-aromas-szenhidrogenekrol>

PUBCHEM hivatalos honlapja.

Interneten: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2336>

QIAN, L. – CHEN, B. (2012): Enhanced Oxidation of Benzo[a]Pyrene by Crude Enzyme Extracts Produced during Interspecific Fungal Interaction of *Trametes Versicolor* and *Phanerochaete Chrysosporium*. – Journal of Environmental Sciences (China) 24(9):1639–46.

RACHIN, E. – RALEV, N. (1985): A Method for Determining the Theoretical Carcinogenicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. – Quantitative Structure-Activity Relationships 4(3):116–22.

RCSB Protein Data Bank hivatalos honlapja. Interneten: <https://www.rcsb.org/>

REDMOND, D. E. JR. (2010): Tobacco and Cancer: The First Clinical Report, 1761. – The New England Journal of Medicine 282(1):18–23.

REIZER, E. – CSIZMADIA, I. G. – PALOTÁS, Á. B. –VISKOLCZ, B. – FISER, B. (2019): Formation Mechanism of Benzo(a)Pyrene: One of the Most Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH). – Molecules 24(6):1040.

RENGARAJAN, T. – RAJENDRAN, P. – NANDAKUMAR, N. – LOKESHKUMAR, B. – RAJENDRAN, P. – NISHIGAKI, I. (2015): Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons with Special Focus on Cancer. – Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 5(3):182–89.

RONALD, W. P. (2000): Toxicity of Polyaromatic Hydrocarbons Other than Benzo(A)Pyrene: A Review. – Journal of Toxicology: Cutaneous and Ocular Toxicology 19(1):55–67.

ROSE, M. – HOLLAND, J. – DOWDING, A. – PETCH, S. R. G. – WHITE, S. –FERNANDES, A. – MORTIMER, D. (2015): Investigation into the Formation of PAHs in Foods Prepared in the Home to Determine the Effects of Frying, Grilling, Barbecuing, Toasting and Roasting. – Food and Chemical Toxicology 78:1–9.

SALAMONE, M. F. – HEDDLE, J. A. – KATZ, M. (1979): The Mutagenic Activity of Thirty Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) and Oxides in Urban Airborne Particulates. – *Environment International* 2(1):37–43.

SAMANTA, S. K. – SINGH, O. V. – JAIN, R. K. (2002): Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Environmental Pollution and Bioremediation. – *Trends in Biotechnology* 20(6):243–48.

SARTORELLI, P. – CENNI, A. – MATTEUCCI, G. – MONTOMOLI, L. – NOVELLI, M. T. – PALMI, S. (1999): Dermal Exposure Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: In Vitro Percutaneous Penetration from Lubricating Oil. – *International Archives of Occupational and Environmental Health* 72(8):528–32.

SCHMOLDT, A. – JACOB, J. – GRIMMER, G. (1981): Dose-Dependent Induction of Rat Liver Microsomal Aryl Hydrocarbon Monooxygenase by Benzo[k]Fluoranthene. – *Cancer Letters* 13(3):249–57.

SHOU, M. – HARVEY, R. G. – PENNING, T. M. (1993): Reactivity of Benzo[a]Pyrene-7,8-Dione with DNA. Evidence for the Formation of Deoxyguanosine Adducts. – *Carcinogenesis* 14(3):475–82.

SIMS, P. – GROVER, P. L. – SWAISLAND, A. – PAL, K. – HEWER, A. (1974.): Metabolic Activation of Benzo(a)Pyrene Proceeds by a Diol-Epoxyde. – *Nature* 252(5481):326–28.

SIMS, P. – GROVER, P. L. (1974): Epoxides in Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Metabolism and Carcinogenesis. – *Adv. Cancer Res.* 20(C):165–274.

SIMS, P. (1970): Qualitative and Quantitative Studies on the Metabolism of a Series of Aromatic Hydrocarbons by Rat-Liver Preparations. – *Biochem. Pharmac.* 19(3):795–818.

SOÓS, K. (1972): Poliaromás Szénhidrogének Meghatározása Ásványolajtermékekben És Élelmiszerekben. – *Élelmiszervizsgálati Közlemények* XVIII(6):45–55.

SÖJTÖR, B. – RACHID H. – FISER B. (2022): Computational Study of the Interaction of Short DNA Structures with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Computational Study of the Interaction of Short DNA Structures with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. – Miskolci Egyetem, Miskolc, 17 pp.

SZANYI, K. (2018): A Légtörő Nyomanyagok Emissziójának Becslésére Szolgáló Módszerek Bemutatása. – Eötvös Loránd Tudományegyetem Földrajz- és Földtudományi Intézet, Budapest, 40 pp.

TÖRÖK, Á. (2011.): Mésző Műemlékek Kőanyagának Mállása. – Magyar Tudományos Akadémia, Budapest, 19 p.

TROTT, O. – OLSON, A. J. (2010): AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. – *Journal of Computational Chemistry* 31(2):455–61.

TSENG, Y. H. – CHEN, Y. C. – YU, A. L. – YU, J. (2021): Benzo[a]Pyrene Induces Fibrotic Changes and Impairs Differentiation in Lung Stem Cells. – *Ecotoxicology and Environmental Safety* 210.

VUAYALAKSHMI, K. P. – SURESH, C. H. (2008): Theoretical Studies on the Carcinogenicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. – *Journal of Computational Chemistry* 29(11):1808–17.

WEI, Y. – ZHAO, L. – HE W. – YANG, J. – GENG, C. – CHEN, Y. – LIU, T. – CHEN, H. – LI, Y. (2016): Benzo[a]Pyrene Promotes Gastric Cancer Cell Proliferation and Metastasis Likely through the Aryl Hydrocarbon Receptor and ERK-Dependent Induction of MMP9 and c-Myc. – *International Journal of Oncology* 49(5):2055–63.

WHO. (1984): Polynuclear Aromatic Compounds. Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. – *IARC MONOGRAPHS* 32:147–53.

YOSHINO, I. – KOMETANI, T. – SHOJI, F. – OSOEGAWA, A. – OHBA, T. – KOUSO, H. – TAKENAKA, T. – YOHENA, T. – MAEHARA, Y. (2007): Induction of Epithelial-Mesenchymal Transition-Related Genes by Benzo[a]Pyrene in Lung Cancer Cells. – *Cancer* 110(2):369–74.

ZHAO, L. – ZHANG, S. – AN, X. – TAN, W. – PANG, D. – OUYANG, H. (2015): Toxicological Effects of Benzo[a]Pyrene on DNA Methylation of Whole Genome in ICR Mice. – *Cellular and Molecular Biology* 61(5):115–19.

Ábrák jegyzéke

1. ábra - A benzo(a)pirén 3 dimenziós szerkezete.	7
2. ábra - Az Amerikai Környezetvédelmi Ügynökség által kiválasztott ún. „szülő” („parent”) PAH-ok szerkezete. 1) acenaftilén; 2) fluorantén; 3) ideno(1,2,3-cd)pirén; 4) pirén; 5) naftalin; 6) fluorén; 7) acenaftén; 8) benz(a)antracén; 9) dibenz(a,h)antracén; 10) benzo(a)pirén; 11) benzo(ghi)perilén; 12) krizén; 13) benzo(k)fluorantén; 14) benzo(b)fluorantén; 15) antracén; 16) fenantrén.	10
3. ábra - Dr. John Hill portréja és könyvének borítója.	11
4. ábra - A policiklusos aromás szénhidrogének egészségügyi hatásai.	13
5. ábra - A fenantrén öböl- és K-régiója.	14
6. ábra - Általam feldolgozott benzo(a)pirénhez kapcsolódó kutatások kronológiája	18
7. ábra - A benzo(a)pirén kölcsönhatása a DNS-el.	19
8. ábra - A benzo(a)pirén régiói.	20
9. ábra - A KingDraw program fejléce.	22
10. ábra - A Gauss View 6 program felhasználói felületei.	23
11. ábra - Az input fájl szerkezete.	24
12. ábra - Termodinamikai paraméterek a Gaussian 09 output fájlban.	24
13. ábra - A vizsgált reakciómechanizmus.	27
14. ábra - A vizsgált modell reakció egyes lépéseinek relatív szabadentalpia értékei a HF/6-31G(d) elméleti szinten vizes fázisban.	28
15. ábra - A 22 nukleotid hosszúságú emberi DNS-lánchoz dokkolt b(a)p-epoxid és b(a)p-diolepoxid.	30

Táblázatok jegyzéke

1. táblázat: A kutatás során alkalmazott számítógépes kémiai módszerek.....	22
2. táblázat: A dokkolás során kapott kötési affinitás értékek.....	29
3.táblázat: A különböző régiókban elhelyezkedő b(a)p-epoxidok és izomerjeinek szabadentalpia különbségei	31

Köszönetnyilvánítás

Témavezetőim Dr. Reizer Edina és Dr. Fiser Béla segítségével ez a munka nem jöhetett volna létre, így nagyon hálás vagyok nekik. Szeretném megköszönni, hogy foglalkoztak velem és folyton hasznos és új információval bővítették tudásomat. Hálával tartozom a sok türelemért, amelyet tanúsítottak felém a közös munka során és, hogy bármikor fordulhattam hozzájuk kérdéssel, ha elakadtam valahol. Szeretném még megköszönni a II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskolának és a Miskolci Egyetemenek, hogy minden segítséget megadtak ahhoz, hogy a dolgozat elkészülhessen. Köszönöm szépen szüleimnek és barátnőmnek a támogatásukat és biztatásukat!

Звіт про перевірку схожості тексту Oxsico

Назва документа:

Petrás_Csaba_biológia_szzakdolgozat.pdf

Ким подано:

Шірокаї-Кудрон Ласло Габорович

Дата перевірки:

2024-05-22 16:00:50

Дата звіту:

2024-05-22 18:48:32

Ким перевірено:

I + U + DB + P + DOI

Кількість сторінок:

43

Кількість слів:

9406

Схожість 0%	Збіг: 50 джерела	Вилучено: 50 джерела
Інтернет: 10 джерела	DOI: 0 джерела	База даних: 0 джерела
Перефразовування 0%	Кількість: 33 джерела	Перефразовано: 76 слова
Цитування 20%	Цитування: 442	Всього використано слів: 10870
Включення 0%	Кількість: 0 включення	Всього використано слів: 0
Питання 0%	Замінені символи: 0	Інший сценарій: 3 слова