

## VÁLASZ

**Dr. Kaizer József az MTA kémia tudományok doktorának**

„Új, szelektívebb, várhatóan rákellenes hatású gyógyszerjelölt fémkomplexek kifejlesztését támogató kémiai alap kutatások” című,

az MTA doktora cím elnyerésére benyújtott értekezésem bírálatára

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani opponensemnek Dr. Kaizer József egyetemi tanárnak az értekezésem alapos áttekintéséért és a bírálat elkészítéséért. Köszönöm és elfogadom a bírálónak a dolgozattal kapcsolatos jobbító szándékú kritikai észrevételeit, megjegyzéseit. Ugyancsak megköszönöm opponensemnek a dolgozatban bemutatott eredmények elismerését. A bírálatban megfogalmazott kérdésekre, megjegyzésekre az alábbi válaszokat adom:

*1. A Kutatómunka során felhasznált flavonolok biológiai hatása miben nyilvánul meg? Ezek között nem található polihidroxi-, illetve pirokatechin csoportot tartalmazó származék (pl. kvercetin), amelyek gyökfogó sajátsága jól ismert az irodalomból. Ezen vegyületek oldhatósága és gyökfogó sajátságának lehet-e szerepe a vizsgált rendszerekben?*

A flavonol típusú ligandumok számos biológiai hatása, egyebek mellett vírus- és baktériumellenes, neuro- és kardioprotektív, antioxidáns valamint rákellenes hatásuk is ismert. Utóbbi, egyes enzimek például protein kinázok vagy a topoizomeráz I és II enzimek gátlásán alapul. A vizsgált flavonolok között valóban nem voltak polihidroxi származékok, melyek közül a B gyűrűn 3-as és 4-es helyzetben OH-csoportokat tartalmazók gyökfogó tulajdonsága a legkifejezettebb [1]. Az esetleges gyökfogó tulajdonságokat nem vizsgáltuk, de az említett molekuláris részlet hiányában feltételezhető, hogy az alkalmazott flavonolok inkább enzim inhibitoroként fejthetik ki hatásukat. A szabad flavonolok vízoldhatósága nem kifejezetten jó, így komplexálásuk nemcsak oldékonyságukat növelheti, hanem – ezzel összefüggésben – jobb farmakokinetikai és farmakológiai hatékonyságot is eredményezhet.

[1] Samsonowicz et al, *Chem. Biol. Interact.*, 2017, 273, 245.

*2. Az aszkorbátok, mint ligandumok, reaktánsok szóba jöhetnek-e a vizsgált redox rendszerekben?*

Az aszkorbinsav pH 7,4-nél deprotonált formában van jelen és komponense az aszkorbát/dehidroaszkorbát redoxi puffernek; fontos szerepet játszik a sejtbeli megfelelő redoxipotenciál fenntartásában. Noha ligandumként való szerepétől nem lehet eltekinteni, komplexei nem igazán stabilisak, továbbá a komplexképződéssel párhuzamosan gyakran egyéb irreverzibilis folyamatok is lejátszódnak. Jól ismert például, hogy egyes fémionok katalizálni is képesek az aszkorbát anion aerob oxidációját. A fémkomplexek redoxi

sajátságainak felderítésekor gyakran vizsgált az aszkbát jelenlétében bekövetkező esetleges redukció is. Saját munkánk során a fémkomplexek és aszkbát közötti esetleges redoxi kölcsönhatást nem tanulmányoztuk.

3. A különböző hatásmechanizmusú rákos megbetegedések ellen használt komplexek mennyire fémspecifikusak? Mi dönti el, hogy a komplexet mire tesztelik?

Az újonnan előállított és kémiaiailag jellemzett fémkomplexeket általában nemcsak lehetséges rákellenes, hanem gyakran baktérium- vagy vírusellenes hatásra is tesztelik. Bízatos előzetes eredmény esetén az adott területen történik további vizsgálat. A szakirodalomban kevés, adott ráktípusra célirányosnak látszó tesztelési eredmény található. Az NCI-nál (National Cancer Institute, USA) elvben lehetséges egy megfelelően összeválogatott, mintegy 60 különböző sejtvonalat tartalmazó *in vitro* teszt (NCI-60 Human Tumor Cell Lines Screen; ezen sorok írásakor nem fogadnak mintákat USA-n kívüli országokból) elvégztetése, ami lehetőséget biztosít bizonyos tendenciák/trendek megfigyelésére, különböző fémkomplexek azonos kísérleti körülmények közötti hatásának összehasonlítására. Ugyanakkor érdemes megjegyezni, hogy egy adott fémion még nagyon hasonló szerkezetű komplexei esetén sem biztos, hogy a sejtbe való bejutás módja vagy a sejtbeli célpont és a hatásmechanizmus ugyanaz lesz. Példaként említhető a ciszplatin és az oxaliplatin, melyek közül az első a DNS replikáció gátlásával míg a második – újabb eredmények szerint – riboszóma biogenezis stresszt okozva fejt ki rákellenes hatását [1].

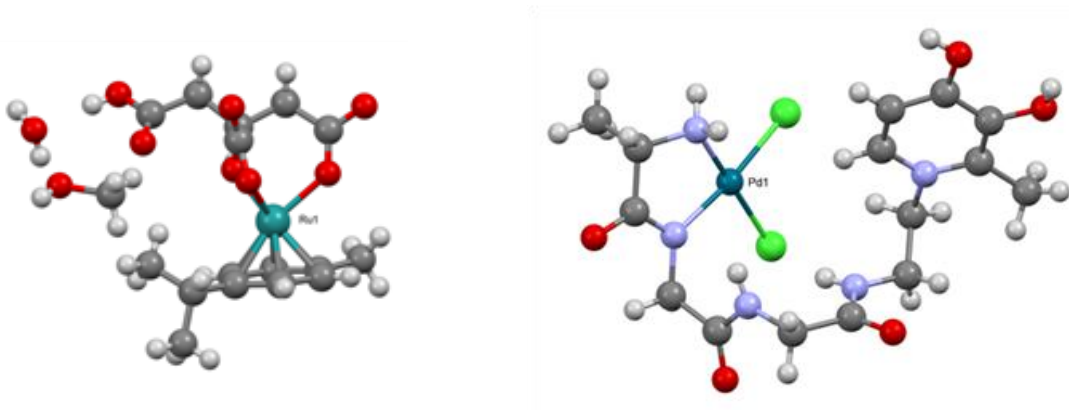
[1] Bruno et al, *Nat. Med.*, 2017, 23, 1.

4. A fémionok biológiai szerepét többnyire Lewis sav karakterével és/vagy a redoxi sajátságával magyarázzuk. Mennyire jön ez számításba a rákellenes komplexek tervezésénél?

A szerves molekulákkal összehasonlítva a fémkomplexeknek számos előnyös tulajdonsága van. A fémion oxidációs állapota és koordinációs geometriája alapján lehetnek semlegesek és pozitív vagy negatív töltésűek, ami a biomolekulákkal való kölcsönhatásukat befolyásolja. Az ellenion minősége ugyancsak segíthet tulajdonságaik (stabilitás, oldhatóság, membránon való áthaladás, aktivitás stb.) hangolásában. A komplexbeli koordinációs szám a 3D szerkezetek változatosságát eredményezi, ami például a fehérjékkel való specifikus kölcsönhatások során lehet fontos. A komplexek termodinamikai stabilitása és ligandumcsere folyamataik sebessége (megfelelő inertségük) egyedi hatásmódot tehet lehetővé (pl. oktaéderes Pt(IV) komplexek *in vitro* aktiválódása), kedvező szelektivitást biztosíthat, ami hozzájárulhat az esetleges mellékhatások csökkenéséhez. A fémkomplexek redoxi tulajdonságai döntő szerepet játszhatnak szerkezetbeli redoxi aktiválódásukban, katalitikus folyamatokban való részvételükben, reaktív részecskék (pl. ROS) képzésében. Az említett valamennyi tulajdonság szem előtt tartása, vizsgálata, lehetséges összefüggések feltárása fontos lehet várhatóan rákellenes hatású komplexek tervezése során.

5. A dolgozatban nagyszámú röntgenszerkezet található, többnyire a geometriát mutatva. A röntgenszerkezetekből levont következtetések pl. a kötéstávolságok, és a kelátokban lévő M–L kötések szimmetriája alapján mennyire vannak összhangban az oldatban uralkodó viszonyokkal?

A fémion-ligandum rendszerekből elkülönített egykristályok röntgendiffrakciós módszerrel meghatározott molekulaszervezete egyértelmű információval szolgál. A speciációs vizsgálatok feltárták, hogy nem minden esetben az adott körülmények között domináns komplexféleség izolálható az oldatból, ami a különböző oldatbeli részecskék töltésével és méretével és ezzel összefüggésben az oldékonyságukkal függ össze. Például az organoruténium-citrát rendszerből a [RuLH] összetételű komplex kristályosodott ki (1. ábra, balra), míg a domináns komplex a [RuLH<sub>-1</sub>]<sup>2-</sup> volt. A Pd(II)-AGG-Hp mintákból savas pH-n nyertünk olyan egykristályokat, ahol a peptidlánc N-jei közül csak egy vesz részt a koordinációban, kelátot alkotva a terminális aminocsoporttal. Oldatfázisban ugyanakkor a fő részecske nem ez, a [PdH<sub>2</sub>(LH<sub>-1</sub>)Cl<sub>2</sub>] (1. ábra, jobbra), hanem a [PdH<sub>-3</sub>L], mely (NH<sub>2</sub>, Namid, Namid, Namid) kötésmódú. A félszendvics szerkezetű platinafémionokat és monohidroxamátokat tartalmazó mintákban szilárd fázisban kétmagvú komplexek voltak nyerhetők, míg oldatban monomerek képződtek. Ugyanakkor az inert Co(III) komplexek esetén az oldat- és a szilárd fázisú komplex szerkezetek oktaédres geometriája – az esetlegesen észlelhető kismértékű torzulásoktól eltekintve – azonos.



1. ábra A  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}(\text{citrH})]\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot\text{CH}_3\text{OH}$  (balra) és az AGG-Hp-val képződő  $[\text{PdH}_2(\text{LH}_{-1})\text{Cl}_2]$  (jobbra) molekulaszervezete.

6. A felhasznált fémeket mennyire tolerálja a szervezet (Mellékhatások stb)?

A használt platinacsoportbeli fémionok (Ru, Os, Rh, Ir, Pd) nem esszenciálisak, így komplexeik szervezetbe juttatása – az alkalmazott koncentrációtól és farmakokinetikai tulajdonságaiktól függően – mellékhatásokat, akár mérgezést is okoz(hat). Megfelelő szelektivitás esetén a már hatásos dózis is kisebb lehet, ami csökkentheti a káros mellékhatásokat. A kobalt esszenciális nyomelem, a B<sub>12</sub> vitamin egyik komponense. A táplálékból való felvétele és feleslegének kiürülési mechanizmusa is adott. Ugyanakkor

rendkívül kis mennyiség optimális a szervezet számára, így a nagyobb szervezetbeli kobalt-koncentráció mérgező lehet. Ismert, hogy a szervetlen Co(II)-sók ROS képzés miatt mérgezőek. A tesztelt Co(III) komplexeink megfelelő inertsége és termodinamikai stabilitása optimális esetben lehetőséget biztosítana kiürülésükre az egészséges sejtekből/szövetekből még bioredukciójuk előtt. A tumor hipoxiás környezetében szelektíven képződő Co(II) pedig még előnyös is lehet a biológiai hatás szempontjából.

*7. Megfigyelték, hogy egy adott flavonolát tpa komplexére mindig kisebb IC<sub>50</sub> értéket kaptak, mint a szabad ligandumra, tehát a ligandumok aktivitása növelhető komplexálásukkal. Feltételezik, hogy a Co(III) komplex redukcióját a szabad gyökök képződése kíséri, növelve a citotoxikusságot. Van erre valami bizonyíték?*

Jelenleg a szabad gyökök képződésére nincs közvetlen bizonyítékunk. Mivel a vegyes ligandumú tpa származékok aktívabbak, mint a megfelelő szabad ligandumok, így a hatás feltehetően nem kizárólag az aktív flavonol ligandum felszabadulásához rendelhető, ugyanakkor a megnövekedett citotoxikus hatás a szabaddá vált prekursoroknak sem tulajdonítható, mert azok inaktívak voltak a vizsgált koncentráció tartományban. Ebből kiindulva képzelhető el az, hogy a quinizarin komplexekhez hasonlóan a redukciót a flavonoláto vegyületeknél is reaktív szabad gyökök képződése kíséri, amely további rákellenes hatást eredményez. A másik feltételezésünk szerint az aktivált Co(II)-tpa-flavonoláto komplexeknek más lehet a sejtbeli célpontja, mint a szabad ligandumoknak vagy a tren analógoknak de ez további, részletesebb biológiai vizsgálatokat igényel.

Végezetül ismételten szeretném megköszönni opponensemnek, hogy elkészítette az értekezésem bírálatát és hogy jobbitó szándékú megjegyzéseivel, hasznos észrevételeivel járult hozzá a kutatómunka tervezett folytatásához.

Debrecen, 2025. február 5.



**Buglyó Péter**  
egyetemi tanár