

## VÁLASZ

**Dr. Sipos Pál 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. Sipos Pál 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 dolgozatban több helyen is említi a Szerző többmagvú komplexek képződését (pl. 5.1 fejezet). Milyen kísérleti módszerekkel bizonyította be a kettő- ill. hárommagvú komplexek képződését?*

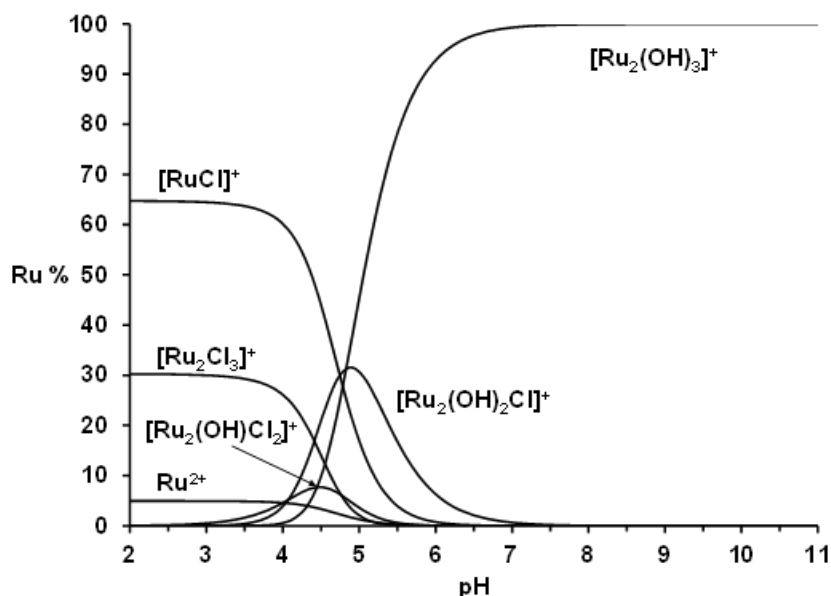
pH-effektussal járó és kellően gyors komplexképződési folyamatokban döntően pH-potenciometriás módszerrel határozzuk meg az oldategyensúlyi modellt. Különböző koncentrációjú, fémion-ligandum arányú mintákat mértünk és a fémion anyagmennyiségéhez viszonyított nem egész számú hidrogénion mennyiség felszabadulása utalt többmagvú komplex képződésre (pl. a Bíráló 3. kérdésében is szereplő hárommagvú  $[\text{Ru}_3\text{H}_{-2}\text{A}_3]^+$  (A = aha) képződésére). Az azonban jól ismert, hogy ezzel a módszerrel nem lehet megkülönböztetni  $(1:1)_n$  ( $n = 1, 2, \dots$ ) sztöchiometriájú részecskéket, mert a képződésük pH-effektusa azonos. Ilyenkor koncentrációfüggő UV-Vis mérések segíthetnek: amennyiben a két részecske moláris abszorbancia értéke egy adott hullámhosszon eltérő, a Lambert-Beer összefüggés érvényességének megszűnése nagyobb koncentrációk esetén a többmagvú részecske képződésére utal. Esetemben elsősorban a félszendvics szerkezetű platinafémionok hidrolízise során tételeztük fel kétmagvú komplexek képződését. A vizsgált fémionok kapcsán a 2:3 összetételű hidroxidokomplexek képződésére a jellegzetes 1,5 ekvivalens lúgfogyásból lehetett egyértelműen következtetni. A hidroxidokomplexek közül pl. a  $[\{\eta^5\text{-Cp}^*\text{Ir}\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$  vagy  $[\{\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6\text{Ru}\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$  molekulaszervezetét röntgendiffrakciós módszerrel is meghatározták [1,2].

[1] Robertson et al. *J. Organomet. Chem.*, **1976**, 116, C29.

[2] Dadci et al. *Inorg. Chem.*, **1995**, 34, 306.

2. A  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]^{2+}\text{-Cl}^-$  rendszerben (19. ábra) csak pozitív töltésű ionok képződését figyelték meg. Ez azért is meglepő, mert a méréseket 100-szoros kloridion feleslegben végezték el. Mi lehet ennek az oka? Nem tapasztaltak csapadékkiválást a mérések során?

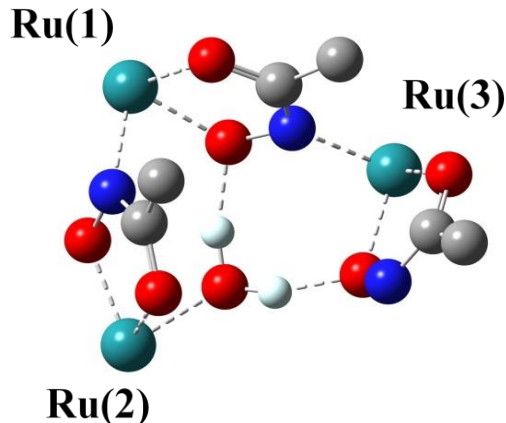
A  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]^{2+}\text{-Cl}^-$  rendszer pH-függő eloszlásgörbéi (1. ábra) azt mutatják, hogy pH = 2,0 esetén még jelentős kloridfelesleg mellett is van kevés akvakomplex, főleg  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{RuCl}(\text{H}_2\text{O})_2]^+$  és kevesebb  $\{[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]_2(\mu^2\text{-Cl})_3\}^+$  mellett. Érdekesség, hogy utóbbi képződésének a nagy kloridion-felesleg kedvez, ugyanakkor a kétmagvú szerkezete miatt pozitív töltésű. A vizsgált fémorganikus fémionok hidrolízise során a pH emelésével fő részecskeként pl. az organoruténium esetén a kétmagvú  $\{[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]_2(\mu^2\text{-OH})_3\}^+$  képződik, mely ugyancsak 1+ töltésű, így végig oldatban marad. Csapadék képződését egyedül a triizopropil-benzol aromást tartalmazó  $[(\eta^6\text{-arén})\text{Ru}]^{2+}$  ion esetén tapasztaltuk, ott a kloridionnal képződő só/ionpár válik ki nagyobb koncentrációk esetén. Ennek oka az aromás ligandum nagy mérete és erősen apoláris jellege lehet.



1. ábra A  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]^{2+}\text{-Cl}^-$  rendszerben 1:100 molaránynál képződő részecskék koncentráció eloszlási görbéi ( $c_{\text{Ru}} = 2,00 \text{ mM}$ ,  $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ; „Ru” =  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]^{2+}$ ).

3. A 24. ábrán egy hárommagvú Ru(II) komplex elméleti úton nyert optimalizált szerkezetét mutatja be. Mi lehet annak az oka, hogy csak az aha ligandum képes ilyen hárommagvú komplex képzésére, a többi tanulmányozott monohidroxamát nem?

A  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]^{2+}\text{-aha}$  rendszerben a titrálási görbék megfelelő illesztését jelentősen javította az  $[\text{Ru}_3\text{H}_2\text{L}_3]^+$  összetételű komplex feltételezése. Együttműködés keretében történt DFT számítások a 2. ábrán bemutatott szerkezetet valószínűsítik. A használt ahaH ligandum egy primer hidroxámsav, mely nemcsak az OH protonvesztésével hidroxamátó (O,O) koordinációra képes, hanem megfelelő körülmények között hidroximátó kelátot is képezhet az  $\text{-NH}$  molekularészlet protonvesztésével. A javasolt szerkezet, mely megfelel a komplex sztöchiometriájának, belső H-híddal stabilizált, a kisméretű ligandumok térbeli közelsége segítheti elő a részben hidroximátszerű koordinációt. Az ugyancsak vizsgált szekunder monohidroxámsavak a N-hez kapcsolódó H hiánya miatt hidroximátó kelát kialakítására nem képesek. A későbbiekben vizsgált aminosavak pedig szerkezetileg összetettebbek, a molekulákban ugyancsak jelenlevő a hidroxamáttal kelátképző helyzetben levő aminocsoport miatt.

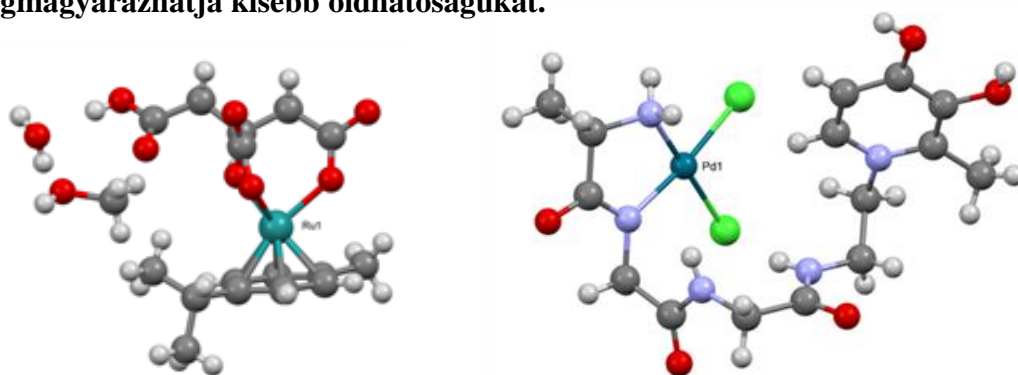


**2. ábra** Az organoruténium – aha rendszerben feltételezett  $[\text{M}_3\text{H}_2\text{L}_3]^+$  komplex B3P86/GEN elméleti szinten optimalizált szerkezete (jobbra); az átláthatóság kedvéért a hexahapto kötémódú  $p\text{-cym}$  ligandumokat nem tüntettem fel.

4. A komplexkémiaiában gyakori feltételezés, hogy a szilárd állapotban kikristályosított vegyületben/komplexben az oldatbeli komplex szerkezetet találjuk meg, vagyis az oldatbeli szerkezet változatlan marad a kristályban. A Szerző mennyire élt ezzel a feltételezéssel a munkája során, akadt-e olyan eset, amikor ez hamisnak látszott?

**Egyetértek az Opponenssel:** saját tapasztalom is az, hogy az oldategyensúlyi területen kevésbé jártas kollégák egyes esetekben azt tételezik fel, hogy egy szilárdan kinyert és azonosított komplex visszaoldás után mindig megtartja azt a szerkezetet, kötémódot, melyet a kristály is tartalmazott. Az adott fémkomplex stabilitása és ligandumcsere folyamatainak sebessége döntheti el, hogy visszaoldás után milyen gyorsan és milyen részecskéket tartalmazó egyensúlyi rendszer alakul ki, melyben nem biztos, hogy a szilárd komplexnek

megfelelő összetételű részecske lesz a domináns. Ennek ellenére, az oldategyensúlyi munka során vizsgált rendszerek esetén igyekeztünk szilárdan is elkülöníteni az egyes komplexeket a kötémódok további tisztázására. Sok esetben az NMR is értékes információval szolgált a feltételezett oldatbeli kötémódok igazolására. Nyilvánvaló, hogy egy oldatból az adott körülmények között a legkevésbé oldódó komplex fog kiválni. A saját munka során pl. az aminohidroxamátokkal az oldatban is fő komponensként jelenlevő komplexek voltak szilárdan elkülöníthetők, de a  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]^{2+}$ -citrát rendszerben az  $[\text{RuHL}]$  összetételű (3. ábra, balra), nem pedig az igen stabil kötémódú  $[\text{RuH}_{-1}\text{L}]^{2-}$  (valamilyen sója) volt mind vízből mind metanolból kinyerhető. A Pd(II)-AGG-Hp mintákból savas pH-n sikerült egykristályokat izolálni, ahol a peptidlánc N-jei közül csak egy vesz részt a koordinációban, kelátot alkotva a terminális aminocsoporttal. Ugyanakkor a rendszerben a fő részecske nem ez, a  $[\text{PdH}_2(\text{LH}_{-1})\text{Cl}_2]$  (3. ábra, jobbra), hanem a  $[\text{PdH}_{-3}\text{L}]$ , mely  $(\text{NH}_2, \text{N}_{\text{amid}}, \text{N}_{\text{amid}}, \text{N}_{\text{amid}})$  kötémódú. Mindkét utóbbi esetben a szilárdan elkülönített komplexek semlegesek voltak, mely megmagyarázhatja kisebb oldhatóságukat.



**3. 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.

5. A 71. oldalon azt írja, hogy a  $\text{C}=\text{O}\cdots\text{Co}$  kötéstávolságok (1,89-1,92 Å) szignifikánsan nagyobbak voltak, mint a  $\text{C}-\text{O}\cdots\text{Co}$  kötéstávolságok (1,87-1,91 Å). Ez az egy-két század Å valóban szignifikánsnak tekinthető?

A kérdésben szereplő kötéstávolságok közötti különbség valóban nem tekinthető jelentős eltérésnek; ráadásul számos ligandummal az (O,O) koordináció kialakulásakor delokalizáció is megvalósulhat.

6. A Szerző az értekezés érdemi részei egyes fejezeteinek végén ismerteti az elvégzett biológiai vizsgálatok eredményeit. A kapott eredményeket összehasonlítva más kutatócsoportok eredményeivel, a dolgozatban bemutatott komplexek hogyan teljesítenek? Ebből rögtön adódik a másik kérdés, a

*hogyan tovább? Hogy látja a Szerző, mik azok az irányok, akár a dolgozatban érintett területek, akár azon kívül esők, amelyek a leginkább biztatónak tűnnek és meghatározóak lehetnek a rákellenes komplexek jövőbeni kutatásában?*

A biológiai tesztek eredményeit nem könnyű közvetlenül összehasonlítani egymással még egy adott sejtvonal kapcsán sem, mert gyakran a kísérleti körülmények eltérőek. Sokszor használják a ciszplatint vagy valamelyik újabb generációs származékát összehasonlításként a biológiai tesztek validálására, ami felfedheti ezen eredmények megbízhatóságát. A dolgozatban bemutatott munka inkább koordinációs kémiai jellegű, az előállított vegyületek *in vitro* biológiai tesztjére ezidáig viszonylag kevés esetben került sor együttműködő partnereink közreműködésével.

A vizsgált organoruténium és -irídium komplexek közül sem a hidroxamátó sem az aminohidroxamátó komplexek nem mutattak aktivitást (egy esetben mértünk  $IC_{50} = 79 \pm 2 \mu M$  értéket), amit a komplexek labilis voltával értelmezünk (noha termodinamikai stabilitásuk nagy volt). Ugyanakkor érdekes megfigyelés volt, hogy a  $[(\eta^5-Cp^*)Ir(\alpha-alaha)Br]$  és a ciszplatin A2780 sejtekbe való bejutását összehasonlítva az találtuk, hogy a sejtek a platinánál 2,4-szer több irídiumot vettek fel, ami arra utal, hogy az Ir-vegyület sejtmembránon való áthatolása könnyebb. Így az inaktivitás arra utalhat, hogy a komplex biológiai célpontokkal csak korlátozottan lép kölcsönhatásba.

A tesztelt Co(III) komplexek  $IC_{50}$  értékeit irodalmi adatokkal összehasonlítva lényegében hasonló értékeket (4-100  $\mu M$ ) mértünk. A kurkumint (13-39  $\mu M$ ) [1], monohidroxamátot (40-58  $\mu M$ ) [2], trisz((pikolinamido)etil)amint (17-26  $\mu M$ ) [3], 1,10-fenantrolin származékot (2-14  $\mu M$ ) [4], vagy  $(2xO)+(2xN)$  donor Schiff-bázist (7-23  $\mu M$ ) [5] tartalmazó szakirodalmi Co(III) komplexekhez képest a legaktívabb flavonolátó komplexeink értékei az 5,2-15,0  $\mu M$  tartományba estek és összemérhetőek voltak a ciszplatinra azonos körülmények között meghatározott 1,8-5,6  $\mu M$  közötti  $IC_{50}$  értékekkel. A kétmagvú, quinizarint tartalmazó Co(III) komplexeink a vizsgált öt ráksejtvonal közül négy esetén bizonyultak aktívabbnak, mint a referenciaként használt karboplatin (15-56  $\mu M$  vs. 21-83  $\mu M$ ).

A kétmagvú Co/platinafém komplexekre ezidáig még csak kevés teszt készült. A  $[(\eta^6-p-cym)RuCl(phen)Co(tpa)](PF_6)_3$  négy sejtvonalon mutatott a ciszplatinéval összemérhető aktivitást (16-30  $\mu M$  vs. 6,7-42  $\mu M$ ), ami biztató a munka folytatását tekintve. Egy rokon ligandumú, de csak organoruténium kationt tartalmazó komplex esetén is hasonló (21 $\pm$ 6  $\mu M$ )  $IC_{50}$  értéket határoztak meg H460 sejtvonalon [6].

A munka folytatásában szeretnénk kiterjeszteni a teszteket további már kémiaileg jellemzett komplexekre. A fémkomplex alapú rákellenes hatású szerek fejlesztése kapcsán fontos a

szelektivitás növelése, az, hogy a citosztatikum csak a tumorban fejtse ki hatását. Munkánk során hipoxia-aktiváláson alapulhat a szelektivitás megvalósulása. Így a kutatás folytatásában – figyelembe véve az eddigi eredményeket – a Co(III) hordozó komplexek szerkezeti módosítását tervezzük a tpa komplexek stabilitásának és/vagy a tren ligandumú komplexek lipofil jellegének a növelésére. Jelenleg a szerkezet-hatás összefüggések jobb megértésére olyan új ambidentát ligandumok előállításán és jellemzésén dolgozunk, amelyek új típusú (N,N) kelát kialakítására képesek. Az enziminhibítor sajátságú hidroxamátot tartalmazó fémionmegkötő egységek beépítése az ambidentát ligandumokba ugyancsak terveink között szerepel. Ezen ligandumok fémkomplexeinek előállítása és kémiai jellemzése valamint – együttműködés keretében – biológiai vizsgálata képezheti a kutatás folytatásának egyik lehetséges irányát.

[1] Hambley et al, *Metallomics*, **2017**, 9, 699.

[2] Yamamoto et al. *J. Med. Chem.*, **2012**, 55, 11013.

[3] Hartinger et al, *Supramolecular Chemistry*, **2024**, 34, 436.

[4] Deka et al, *Dalton Trans.*, **2024**, 53, 4952.

[5] Liao et al, *Biomaterials*, **2021**, 34, 277.

[6] Walton et al, *ChemPlusChem*, **2016**, 81, 1276.

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