

**Buglyó Péter**

**„Új, szelektívebb, várhatóan rákellenes hatású gyógyszerjelölt fémkomplexek  
kifejlesztését támogató kémiai alapkutatások”**

című MTA doktori értekezésének bírálata

Buglyó Péter MTA doktori értekezése kutatói munkásságának elmúlt másfél évtizedét öleli fel. Ezen időszakban kutatásai fókuszában a fémtartalmú, potenciálisan kemoterápiás gyógyszerjelölt molekulák előállítására és jellemzésére állt. A rákkutatások egyik lényegi kérdése a jelenleg is leginkább alkalmazott ciszplatin helyettesítése hatékonyabb, és kevesebb mellékhatással bíró vegyülettel. Ilyen fémkomplexek kifejlesztése és tesztelése hosszú és időigényes feladat; a tanulmányozott rendszerek alapos jellemzését igényli kémiai és biológiai szempontból. Kémiai oldalról az adott közegben, adott pH-n kialakuló komplexek leírása, a stabilitási állandók meghatározása, szerkezeti és dinamikai jellemzése a feladat. Jelölt ilyen fontos és aktuális alapkutatói kérdéseket járt körbe több mint 60 vegyület esetében. A munka során a ligandumok és új fémkomplexek előállítása és analitikai jellemzése volt fő fókusz. A hangsúly a precízen kivitelezett pH-potenciometriás oldategyensúlyi vizsgálatokon volt, hiszen a komplexképződési folyamatok leírásához a stabilitási állandók és az adott – elsősorban fiziológiás - körülmények mellett jelenlevő részecskeeloszlás (speciáció) meghatározása kiemelten fontos. Ezekhez a szerkezeti információt oldatfázisú NMR spektroszkópiai mérések és kristályszerkezet meghatározása szolgáltatta. A további jellemzés elemösszetétel, tömegspektrometriás vizsgálatokkal történt, illetve a redoxi tulajdonságok jellemzésére ciklikus voltametriát alkalmazott. Bizonyos, ígéretes fémkomplexeket együttműködés keretében *in vitro* biológiai tesztekkel különböző humán ráksejt vonalakon is vizsgáltak.

A dolgozat 30 közleményen alapul, a cikkekben a Jelölt javarészt levelező szerző. Ehhez járul még két társszerzős összefoglaló közlemény. 8 közlemény az értekezés anyagához kapcsolódó – elsősorban biológiai tárgyú. Az elért eredményeket a Jelölt számos nemzetközi konferencián előadás formájában bemutatta.

*A mű szerkezete.* A 129 oldal terjedelmű értekezés felépítése logikus, elírás nem igazán fordul elő, az ábrák átláthatóak. Az irodalmi részben a sok felsorolás, bemutatás információáradatát jobb átláthatóság kedvéért a fejezet végén szerencsés lett volna táblázatosan összefoglalni. Az eredmények 76 oldalban kerülnek bemutatásra és értékelésre. Az Olvasót itt is nagymértékben segítené néhány összefoglaló ábra, séma, táblázat, ami a sok vegyület egyidejű összehasonlítását szolgálná. Több esetben is adott ábra/spektrum esetében a szerkezeti képlet felelevenítése a jobb követhetőséget biztosítaná. Az irodalomjegyzék 274 hivatkozást tartalmaz, ami átfogó képet nyújt a tématerületről.

Megfogalmazások tekintetében megjegyzéseim/javaslataim:

A dolgozat címében - és a szövegben is gyakran - a „várhatóan rákellenes hatású ...” megfogalmazás szerepel. Szerencsésebb volna a „potenciálisan rákellenes hatású...”

megfogalmazás használata. Egy kifejezés magyarázatát egyszer elég megadni. Például: oxigénhiányos állapot (hipoxia), későbbi szövegrészekben elég a hipoxia szót használni.

Az „NMR-el tanulmányozható” helyett: „NMR spektroszkópiai módszerekkel tanulmányozható” helyesebb.

Az aminosavak jelölése egy vagy hárombetűs kóddal történik (pld: A, Ala). Érthető, hogy a jelölt mire utal az alaH jelöléssel, de nem szerencsés választás, biokémiában, szerkezeti biológiában nem alkalmazott.

A 23. ábrán bemutatott  $^1\text{H}$  spektrum értelmezése (42. oldal) során helytelen megfogalmazások: „... pH 1,95-nél két jel figyelhető meg, *a szabad fémion* (1,32 ppm) mellett a másik jel a kialakuló komplexhez tartozik (...) *nagyobb térerő* irányába történő eltolódás.”

A „pH emelése” helyett inkább pH növelése kifejezés használata célszerű.

„ $d^6$ -DMSO-ban rögzített  $^1\text{H}$ -NMR spektruma” helyett „az  $^1\text{H}$ -NMR spektrum DMSO- $d_6$  oldószerben”.

*Új eredmények.* Új eredménynek ismerem el az alább felsorolt területeken végzett kutatások kimenetelét:

1. Potenciometria, NMR spektroszkópia, UV-látható spektrofotometria és ESI-TOF-MS módszerek kombinált alkalmazásával - elsőként a szakirodalomban - részletesen jellemezte egyes félszendvics szerkezetű organoruténium(II), -ozmium(II) és -irídium(III) kationok vizes közegben lejátszódó hidrolitikus folyamatait, meghatározta a képződő részecskék összetételét és termodinamikai stabilitási állandóit.

2. Jellemezte az említett négy fémorganikus kation valamint a Pd(II) kation mintegy 50, elsősorban O donoratomú kis (bio)ligandummal való komplexképződését, meghatározta a képződő részecskék stabilitási szorzatát és az oldatbeli szerkezetet. Részletesen vizsgálta a ligandumok O donoratomjainak más (N vagy S) donoratomokkal való kiegészítésének vagy cseréjének lehetőségét és hatását a fémion megkötésre. Számos rendszerben a képződő komplexek kötémódját egykristály molekulaszervezetének meghatározásával is alátámasztotta.

3. A tervezett heterodinukleáris komplexek építőköveiként új, potenciálisan hipoxia-aktiválódásra képes  $[\text{Co}(4\text{N})(2\text{O})]^{n+}$  illetve  $[\text{Co}(2\text{N})_2(2\text{O})]^{n+}$  (4N = tripodális amin, 2N = (N,N) donor kelátképző ligandum, 2O = (O,O) donor (bio)ligandum) általános összetételű kobalt(III) komplexeket állított elő, és jellemezte a redoxi tulajdonságaikat befolyásoló legfontosabb tényezőket.

4. A tervezett heterodinukleáris, potenciálisan hipoxia-aktivált komplexek előállításához szükséges új, ambidentát, (N,N) és (O,O) kelátok képzésére egyaránt alkalmas ligandumokat állított elő, jellemezte és vizsgálta félszendvics szerkezetű fémorganikus fémionokkal, Pd(II)-ionnal valamint  $[\text{Co}(4\text{N})]^{3+}$  és  $[\text{Co}(2\text{N})_2]^{3+}$  ionokkal való kölcsönhatásukat, ezáltal a fémionok donoratom preferenciájáról gyűjtött információkat.

5. Hazai és nemzetközi együttműködés keretében vizsgálta számos új komplex, prekursor és ligandum *in vitro* citotoxicitását különböző humán ráksejt vonalakon.

*Kérdések.* A dolgozat olvasása során felmerült kérdéseim/megjegyzéseim:

1. A stabilitási állandók meghatározása klasszikusan 25°C-on, állandó ionerősség mellett történik. A bemutatott mérésekben főleg 0,20 M KNO<sub>3</sub>, vagy 0,20 M KCl volt az ionerősség. Hogy alakulna a kép, ha fiziológias körülmények mellett dolgoznánk és 37°C-on? Milyen koncentrációban kellene jelen lennie a fémionnak? Hogyan változik a speciáció egyik tanulmányozott rendszerben, ha a vér/plazma közeget utánzó összetételt is figyelembe vesszük?

2. A stabilitási szorzatok számszerű meghatározásánál NMR paramétereket is felhasználtak?

3. Oldategyensúlyi mérésekkel leírták a félszendvics szerkezetű  $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]^{2+}$  kationok részletes hidrolitikus folyamatait. Biológiai szempontból előnyt jelent-e, hogy fiziológias pH-n túlnyomórészt a hidroxó komplex van jelen (19. ábra)? A képződő részecskék szerkezetének, illetve a különböző fémionok viselkedésének összehasonlításánál hasznosnak bizonyulhatnak a <sup>13</sup>C környezetek kémiai eltolódás értékei. Állnak-e ilyen NMR spektroszkópai adatok rendelkezésre?

4. A 23. ábrához tartozó pH függő részecske eloszlás ábrázolása nagymértékben segítené az Olvasót. Hogy alakul például a *malt* -CH<sub>3</sub> szingulett jelének változása a pH függvényében? Így az 1:1 arányú oldatösszetételnél az „M” és L részéről is követhetők volnának a változások és a levont következtetések helytállósága sem kérdőjelezhető meg.

5. Az eredmények ismertetése során többször találkozunk a „feltételezett szerkezet” kifejezéssel. Az organoruténium(II)-*citr* rendszer tanulmányozásánál (49. oldal) az [ML]<sup>-</sup> komplex feltételezett szerkezetében (**B**) intramolekuláris H-kötés kialakulását valószínűsítik. Az intramolekuláris hídban levő H egyik jellegzetessége a nagy <sup>1</sup>H kémiai eltolódás érték. A Jelölt utal részletes NMR spektrum vizsgálatokra, de ezeket sajnos nem találtam. Milyen spektrális bizonyítékok támasztják alá a felrajzolt szerkezeti modelleket?

6. Az organoruténium(II)-*mal* komplex esetében (51. oldal) meghatározza a *mal* ligandumban a <sup>3</sup>J<sub>AX</sub> és <sup>3</sup>J<sub>BX</sub> csatolási állandó értékeit (7. táblázat). Ezen mért <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> csatolási állandók értékes információt szolgáltatnak a torziós szög nagyságáról a Karplus összefüggés alapján. Ezt figyelembe véve kísérletesen is igazolható volna a kristályszerkezet és oldatszerkezet közötti összefüggés (példa hivatkozások: Minch, M. J. (1994). "Orientational Dependence of Vicinal Proton-Proton NMR Coupling Constants: The Karplus Relationship". Concepts in Magnetic Resonance 6, 41-46.; Wang, A. C., and Bax, A. (1996) Determination of the Backbone Dihedral Angles in Human Ubiquitin from Reparametrized Empirical Karplus Equations. J. Am.Chem. Soc. 118, 2483-2494.)

7. Komplexképződés tanulmányozásához (COO<sup>-</sup>, NH<sub>2</sub>) kötés módra képes ligandumként szabad aminosavakat használ, az eltérő viselkedésű alanint és szerint (55-56. oldal). Mit gondol, hogy befolyásolná a fémion-ligandum kölcsönhatást, ha az alanin, vagy a szerin a peptidlánc részeként lenne jelen?

8. Az *idaP* ligandumokkal történő kölcsönhatás vizsgálatok esetében a <sup>31</sup>P NMR mérések jelenthetnek jó támpontot. A kis koncentrációjú minták esetében is jó minőségű a spektrum, és

a mérési idő is rövid. A foszfor rezonanciajel kémiai eltolódása a protonáltságról és a komplexképződésről is információt szolgáltat. Próbálkoztak-e ilyen megközelítésekkel?

9. Az organoruténium His aminosavval való komplexképződését több ligandummal is vizsgálta. Az eltérő CD görbék (38. ábra) magyarázata: „koordinációs módok eltérése”. Az említett NMR spektroszkópiai mérések ezt milyen módon támasztják alá? Mit jelent a lassú folyamat a heptapeptiddel történő komplex képződésénél? Vizsgálták-e bármely - a dolgozatban bemutatott - komplex és a humánszérum albumin (HSA) kölcsönhatását CD vagy NMR spektroszkópiai módszerekkel? Esetleg milyen irodalmi adatok állnak rendelkezésre? A HSA  $\text{Cu}^{2+}$  és  $\text{Zn}^{2+}$  fémionok fiziológiás transzportere. A  $\text{Zn}^{2+}$  kötő motívumok a His oldalláncok. Hogyan befolyásolja a tanulmányozott komplexképződést a  $\text{Zn}^{2+}$  jelenléte?

10. Az organoródiium-*PyPropHp* rendszer vizsgálatánál (91-92. oldal) 61. ábrán hasznos volna a referencia spektrumot is feltüntetni. Hogy nézi ki a spektrum többi része, a diasztereomerek jelenlétét hogy tükrözi a többi rezonanciajel? Az (O,O), vagy (N,N) koordináció  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  illetve  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HMBC spektrumok segítségével igazolható volna. Történtek ilyen kísérletek, ha igen, milyen eredménnyel?

11. Hasonlóképp a 71. ábrán bemutatott Co(III)/Pd(II) kétmagvú komplexek javasolt oldatszerkezeteinek alátámasztását az 1D  $^1\text{H}$  spektrumok mellett a  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  és  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  korrelációs mérések nagymértékben elősegítenék.

12. Az A2780 sejtvonalon végzett sejtfevételi vizsgálatok azt mutatták, hogy az irídium felvétel a platina felvételnél hatékonyabb. Milyen kísérletekkel lehetne igazolni a sejtmembránon történő átjutási mechanizmust? A ciszplatin passzív diffúzióval vagy valamilyen transzporter segítségével jut az extracelluláris térből az intracelluláris térbe?

13. A ciszplatin intravénásan adják be normál sóoldatban, infúzióként. Amennyiben potenciális kemoterápiás gyógyszer fejlesztése a cél, akkor a tanulmányozott vegyületek is hasonlóképpen kerülnének bejuttatásra és hasonló volna a hatásmechanizmusuk is (?). A cél a sejtmaghoz való eljutás, a DNS-hez való kötődés. Ezen az útvonalon kik volnának a fő kölcsönható partnerek és a változó körülményekhez (koncentráció, pH) milyen ideális szerkezeti/dinamikai jellemzőkkel kell rendelkeznie a fémkomplexnek? A tanulmányozott vegyületek közül kik volnának erre valóban potenciálisan alkalmasak, és milyen további vizsgálatokat javasolna?

Összefoglalva elmondható, hogy a számos felmerült kérdéssel és megjegyzéssel együtt az értekezést értékesnek tartom, és a felsorolt tézispontokat új tudományos eredményeknek fogadom el. A doktori művet nyilvános vitára alkalmasnak tartom és sikeres védés esetén javaslom az „MTA doktora” cím odaítélését.

Budapest, 2024.12.11.

Dr. Bodor Andrea  
egyetemi tanár, az MTA doktora