

BÍRÁLÓI VÉLEMÉNY

Dr. Buglyó Péter

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

Bíráló: Dr. Kaizer József, az MTA Doktora

Az utóbbi évek egyik legdinamikusabban fejlődő területe a bioszervetlen kémia, amely a fémionoknak az élő szervezetekben betöltött szerepét kívánja feltérképezni, többnyire indirekt módon, modellvegyületek felhasználásán keresztül. Egyes átmeneti fémionok élettani szerepének vizsgálati eredményei mellett felmerült a komplex vegyületek gyakorlati, orvosi-biológiai alkalmazásának lehetősége is. A Debreceni Egyetem Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoportjában több mint öt évtizedes hagyománya van a komplexképződési folyamatok oldategyensúlyi tanulmányozásának. A csoportban végzett kutatások mind hazai, mind nemzetközi viszonylatban nagyban hozzájárultak a terület fejlődéséhez, amit a számos szabadalom és a nemzetközileg kimagaslónak tekinthető folyóiratokban megjelent nagyszámú közlemények is alátámasztanak. A Kutatócsoport eredményei több MTA doktori munka alapját képezték, ezért fontos megjegyezni, hogy Buglyó Péter doktori értekezésben összefoglalt eredmények nincsenek átfedésben a korábbi Doktori munkákhoz felhasználtakkal, a kutatási terület mind témájában, mind tematikájában élesen elkülönül a korábbi munkáktól.

A rákos megbetegedésekkel kapcsolatban a WHO előrejelzése is lesújtó: a 2020-ban regisztrált közel 20 milliós megbetegedésszám 30 millió fölé nőhet 2040-re. A daganatok kezelésére a műtéti beavatkozásokon, sugár- és immunterápiás kezeléseken túl ma is gyakran alkalmaznak kemoterápiát, sokszor az előbbiekkal kombinálva. Az is ismert, hogy a kemoterápiás kezelések mintegy felénél Pt(II) komplexeket használnak.

Buglyó Péter MTA doktori értekezése ehhez a fontos kutatási területhez kapcsolódik. Az eddig felhalmozott tudásra és munkatapasztalatra alapozva, valamint a Kutatócsoportban az általa kifejlesztett preparatív kémiai infrastruktúra kiépítésével mintegy két évtizede egy új terület művelése, a várhatóan rákellenes/gyógyhatású fémtartalmú vegyületek kifejlesztését támogató kémiai alap kutatások kezdődtek el. Ezen kutatómunka egy aspektusát az igazoltan rákellenes hatású komplexeket képező, eltérő tulajdonságú (méret, töltés, hidrolízishajlam stb.) platinacsoportbeli egyes fémionok komplexképző sajátosságait szisztematikusan feltérképező és elemző oldatfázisú vizsgálatok jelentették. A kutatás másik fontos részét

képezte ugyanakkor új (bio)ligandumok és fémkomplexeik előállítására és teljeskörű jellemzése is.

Buglyó Péter eddigi szakmai teljesítményét 105 nemzetközi közlemény, 1 könyvfejezet és 1 szabadalom fémjelzi, amelyek kumulatív hatástényezője 304.57 és a független hivatkozások száma 1744. Ezek között 34 levelező szerzős közlemény szerepel. Ezen dolgozatok többsége nem képezi az értekezés alapját, de mindenképpen informatív a jelölt kimagasló tudományos tevékenységére és a témában való jártasságára nézve.

Az értekezés 32 közleményen alapul, amelyek közül az első 2007-ben, míg az utolsó 2023-ban jelent meg. Dicséretes, hogy ez az aránylag rövid időintervallum elegendőnek bizonyult annyi eredmény elérésére, amennyi lehetővé tette ennek az értekezésnek a megírását. A közlemények többsége a tématerület jelentős ismeretségű folyóirataiban jelentek meg: 20 Q1 és 12 Q2 besorolású, amelyek kumulatív hatástényezője 103.3 és a független hivatkozások száma 270. A felsorolt közleményekben Buglyó Péter jellemzően, 28 esetben levelező szerzőként szerepel. Az eredmények 19 nemzetközi előadás alapját is képezték. A dolgozatban 8 további közlemény is fel lett tüntetve, amelyek csak részben kapcsolódnak az értekezés témájához. Ezek szintén kiemelkedő folyóiratokban jelentek meg.

A disszertáció megfelel az MTA Doktori értekezés formai követelményeinek; szerkesztése jól áttekinthető, felépítése logikus, apróbb, figyelmetlenségből eredő hiba csak elvétve fordul elő. A kémiai elnevezések és képletek helyes írásmódja dicséretes. Az értekezés 129 oldal terjedelmű, 274 irodalmi hivatkozással, 7 oldalas összefoglalással, 5 fő tézisponttal. Az értekezés esztétikus kivitelezésű, a táblázatok jól áttekinthetők, és az ábrák is szépen kivitelezettek. A 17 táblázat és 74 ábra jelzi, hogy a jelölt óriási munkát végzett.

Az értekezés tematikáját tekintve négy jól elkülöníthető kutatási terület eredményeire épül, nevezetesen: 1) A kutatásba bevont fémion-ligandum kölcsönhatásokkal versengő folyamatok feltárása; az adott fémionra jellemző hidrolitikus, valamint a ligandumokkal kapcsolatos proton disszociációs folyamatok feltárása (**4 publikáció; IF: 22,21; 2 Q1, 2 Q2, 63 hivatkozás**); 2) Biológiai aktivitású, elsősorban O-donor ligandumok kölcsönhatása a fémorganikus platinacsoportbeli fémionokkal (**13 publikáció; IF: 38,27; 8 Q1, 5 Q2, 103 hivatkozás**); 3) Vegyes ligandumú Co(III) komplexek előállítása és vizsgálata (**6 publikáció, IF: 21.83; 1 Q1, 5 Q2; 53 Hivatkozás**); 4) A tervezett Co/platinafém kétfémes komplexek ambidentát ligandumai és fémionmegkötő sajátságainak vizsgálatával kapcsolatos kutatási eredmények bemutatása (**9 publikáció, IF: 30,97; 7 Q1, 2 Q2; 48 Hivatkozás**). A tudománymetriai adatokat tekintve megállapítható, hogy Buglyó Péter mind a négy területen értékes munkát végzett, amit a nagyszámú Q1 besorolású közlemények (**18**) és a rájuk

érkezett hivatkozások száma is jól jelez. Egy kicsit meglepő a D1 besorolású közlemények hiánya. A közlemények többsége a terület kiemelkedő folyóirataiban jelent meg, mint például *J. Inorg. Biochem.*, *New J. Chem.*, *Dalton Trans.*, *RSC Advances*. Ez már önmagában előrevetíti, hogy az eredmények kiemelkedőek és a benyújtott közlemények komoly szakmai megmérettetésen, bírálatokon estek át.

A dolgozat kétoldalas bevezetése célkitűzésnek is tekinthető, amely rész érthetően és világosan megfogalmazza a vizsgálódás tárgyát, irányát. Ezt a részt követi a 23 oldalas irodalmi áttekintés, amely rendkívül átgondoltan, logikusan egymásra épülve rendszerezi a munkájával kapcsolatos szakmai előzményeket és azokat kritikusan elemzi is. Bemutatja a fémkomplexek alkalmazásának jelenlegi helyzetét és szervezetbeli átalakulási folyamatait. Példákon keresztül ismerteti a fémkomplex alapú gyógyszerek kifejlesztésére irányuló kutatásokat, valamint hatásmechanizmus (aktiválás) szerint csoportosítja a kereskedelmi forgalomban használt komplexeket, külön hangsúlyt fektetve az oldategyensúlyi vizsgálatok fontosságára. Mindezt tömören, „review”-szerűen, szinte felesleges mondatok nélkül. A jelölt szakmai jártasságát a felhasznált közlemények nagy száma is jelzi, ami meghaladja a 270-et, kritikaként azonban megfogalmazható, hogy az utóbbi 5 év terméséből csak 25 közlemény szerepel a listában. A célkitűzéseket hat pontban vázolta fel, ezek a már korábban ismertetett négy jól elkülöníthető kutatási területre irányulnak. A célok megfogalmazása világos, jól átgondolt. A dolgozat 4. fejezete a kísérleti körülményeket és az alkalmazott vizsgálati módszereket ismerteti. Külön kiemelendő, hogy a jelölt nagyszámú és korszerű mérési technikát (pH-potenciometria, ^1H , NMR spektroszkópia, tömegspektrometria, ciklikus voltammetria, X-ray, korszerű biológiai tesztek, DFT számítások stb.) vetett be kutatásaiba és ezek eredményeit nagy biztonsággal értékelte. Az Eredmények és értékelésük részben, közel 65 oldalon keresztül, a négy jól elkülöníthető kutatási terület eredményei kerültek bemutatásra. A rengeteg adat, eredmény feldolgozását, értelmezését nagyban megkönnyítette a jól átgondolt ábrák és táblázatok felvonultatása. Az eredmények többsége alapkutatásjellegű, de ahogy azt a humán ráksejtvonalakon végzett *in vitro* citotoxicitás tesztek nagy száma is jelzi, hogy gyakorlati alkalmazással is kecsegtethetnek. Számomra az értekezés legértékesebb eredményei, a célok figyelembevételével, a teljesség igénye nélkül a következők:

1) Az eredmények ismertetése, tárgyalása a fémiion-ligandum kölcsönhatásokkal versengő folyamatok feltárásával kezdődik. A kutatómunka során igen nagyszámú, pontosan 90 ligandum került felhasználásra, a különféle komplexek előállításához. Ezen belül tisztázták a vizsgált félszendvics szerkezetű fémorganikus vegyületek komplexképződési folyamataival

párhuzamosan lejátszódó hidrolitikus, valamint az alkalmazott ligandumokkal kapcsolatos proton disszociációs folyamatokat. **Mindenképpen kiemelendő ezen kísérletek eredményeinek fontossága, mivel a vizsgált rendszerekre ilyen jellegű adatok nem álltak rendelkezésre a szakirodalomban.**

A fentiek alapján megállapítást nyert, hogy a hidrolízis során a $[\{\{\eta^6\text{-p-cym}\}\text{Ru}\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ képződését vegyes klorido-hidroxido részecskék kialakulása előzi meg, valamint a pH növelésével a koordinált kloridionok hidroxidionra történő cseréje és a megfelelő kétmagvú részecskék képződése játszódik le. A kísérleteiket Os, Ir és Rh tartalmú komplexekre is kiterjesztették, meghatározva azok hidrolízis állandóit. Megállapították, hogy fiziológias pH értéken a hidrolízist visszaszorító ligandum távollétében, valamennyi fémion esetén számolni kell a $[\{\{\eta^6\text{-arén}\}\text{M}\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ (M = Ru, Os) vagy $[\{\{\eta^5\text{-arenil}\}\text{M}\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ (M = Rh, Ir) általános összetételű hidroxido komplexek kialakulásával. **Az eredmények egyértelműen azt mutatják, hogy a fémion minősége, a hidroxidion affinitásán keresztül fontos szerepet játszhat a rákellenes hatású fémkomplexek biológiai hatásának értelmezésében, hiszen ismert, hogy a 2:3 összetételű hidroxido komplexek nem mutatnak *in vitro* rákellenes hatást.**

Fontos információhoz vezetett a koordinálódó aromás ligandumoknak a különböző $[\{\{\eta^6\text{-arén}\}\text{Ru}\}_2]^+$ ionok proton disszociációs folyamataira kifejtett hatásának a vizsgálata is. Ezen eredményeket felhasználva, illetve DFT számításokkal kiegészítve megállapítást nyert, hogy lineáris összefüggés van a fenti fémionok $[\{\{\eta^6\text{-arén}\}\text{Ru}\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ összetételű hidroxido komplexeinek stabilitási szorzat értékei valamint a kationokra számolható különböző atomi és molekula paraméterek (pl. kötéstávolságok, a fémionon, az aromás gyűrűn vagy a koordinálódó vízmolekulákon található relatív töltés) között. **Ennek jelentősége abban áll, hogy egy félszendvics szerkezetű kationban a molekulaszervezeti adatok meghatározása lehetővé teszi hidrolitikus tulajdonságainak becslését, vagy fordítva, a hidroxido komplex stabilitási szorzatának ismeretében a fenti paraméterek értékei becsülhetők.**

2) A következő fejezet biológiai aktivitású, elsősorban O-donor ligandumok fémorganikus platínacsoportbeli fémionokkal való kölcsönhatását dolgozta fel. Ezen vizsgálatokat az indukálta, hogy a szervezetben számos, a fémionok megkötésére alkalmas O-donor kismolekula (pl. oxalát, laktát, szukcinát, tartarát, citrát) található, amelyek óhatatlanul kölcsönhatásba kerülhetnek a terápiás célból bejuttatott fémkomplexszel, valamint a dokumentáltan antitumor hatású félszendvics szerkezetű fémionok és a bizonyítottan rákellenes hatású O-donor ligandumok (pl. hidroxámsavak, flavonoidok) egy molekulába

építése további biológiai hatással, szinergizmussal járhat. A fentiekből kiindulva a kutatás során, 27, döntően (O,O), illetve (O,O,O) koordinációra képes ligandum és a modellül választott $[(\eta^6\text{-p-cym})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kölcsönhatását tanulmányozták oldat- és/vagy szilárd fázisban. **A kétfogú ligandumok közül, 10 ligandum esetében meghatározták a protonálódási állandóit és az organoruténium komplexek stabilitási szorzatait. Az értékekből számos értékes megállapítást tettek fiziológiás körülmények között a ligandumok fémionmegkötő sajátságaira, a fémion hidrolízisére, valamint a kelátkomplexek stabilitására.**

A fémion-monohidroxamát kölcsönhatások alaposabb feltérképezésére, a képződő vegyületek molekulaszervezetének megismerésére, a jelenlévő egyéb egyfogú ligandumok a képződő komplexek szerkezetére, nuklearitására, stabilitására gyakorolt hatásának megértésére 14 új organoruténium-, -ozmium és -ródium-hidroxamátot állítottak elő $[(\eta^6\text{-p-cym})\text{MCl}_2]_2$ (M = Ru, Os) és $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{RhCl}_2]_2$ prekursorok felhasználásával és jellemezték különböző analitikai (NMR, IR, elemanalízis, MS, röntgendiffrakció) módszerekkel. **Öt komplex esetében biológiai tesztek is készültek petefészekrákra, azonban azok nem mutattak antiproliferatív hatást, ami arra utal, hogy az inertségük, termodinamikai stabilitásuk ellenére, nem elég nagy, ahhoz, megakadályozza különböző biotranszformációs folyamatokban való részvételüket még azelőtt, hogy a célsejteket elérnék.**

3) A dolgozat meghatározó részét képezi a vegyes ligandumú Co(III) komplexek előállítására és vizsgálatára. A vizsgálatok célja koordinálódásra képes donoratomokkal is rendelkező rákellenes hatású nemfémes vegyületek szelektivitásának növelésére azok inert kobalt(III) komplexek formájában való szervezetbe juttatása, ahol is az oxigénhiányos rákos szövetekben bekövetkezhet ezeknek a „prodrug” molekuláknak a szelektív redukciója, majd a képződő labilis Co(II) komplex disszociációja a gyógyszermolekula szabaddá válását eredményezve. A megfelelő Co(III) komplexek kifejlesztéséhez fontos feltérképezni azokat a paramétereket, amelyek alapvetően befolyásolják ezen „prodrug” molekulák redoxi sajátságait. Összesen 52 új, $[\text{Co}(4\text{N})(2\text{O})]^{n+}$, $[\text{Co}(2\text{N})_2(2\text{O})]^{n+}$ vagy $[(\text{Co}(4\text{N}))_2(\text{quin})]^{4+}$ összetételű iont tartalmazó Co(III) komplexet állítottak elő és jellemezték széleskörűen NMR, IR, ESI-MS, CV és elemanalízis módszerekkel. Két ligandum és 15 komplex esetén az elkülönített egykristályok röntgendiffrakciós vizsgálatával azok molekulaszervezetét és az oktaédes komplexek abszolút konfigurációját is meghatározták. **Megállapítást nyert, hogy a 4N és 2O donoratomú Co(III) komplexek redukálhatóságát számos tényező, pl. a koordinálódó**

donoratomok minősége, bázicitása, a képződő kelátok száma és gyűrűmérete, a komplexbeli ligandumok esetleges szubsztituenseinek a változtatása is befolyásolja, ami így a várhatóan hipoxia-aktivált komplexek redoxi sajátságainak finomhangolását teszi lehetővé.

4) Figyelemre méltóak a 9 új, ambidentát ligandumra épülő heterodinukleáris, várhatóan hipoxia-aktivált komplexekre kapott eredmények, figyelembe véve, hogy számos képviselőjük a ciszplatinéval összevethető citotoxicitást mutattak.

Kérdéseim:

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?

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

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

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

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?

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

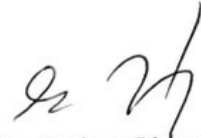
7) Megfigyelték, hogy egy adott flavonolát *tpa* komplexére mindig kisebb IC_{50} értéket kaptak, mint a szabad ligandumra, tehát a ligandumok aktivitása növelhető komplexálásukkal. Feltételezik, hogy a Co(III) komplex redukcióját a szabad gyökök képződése kíséri, növelve a citotoxikusságot. Van erre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

A közel 7 oldalas Összefoglalás gyakorlatilag a tézisek felsorolását jelenti, amelynek minden pontját új tudományos eredményként fogadom el.

A felvonultatott gazdag kísérleti anyag, annak szakszerű bemutatása és értelmezése, valamint a dolgozat szép kiállítás alapján megállapítható, hogy Buglyó Péter doktori

értekezésében foglaltak messzemenően megfelelnek az MTA doktori értekezésekkel szemben támasztott követelményeknek. Az értekezés elméleti és gyakorlati szempontból egyaránt fontos kérdésekkel foglalkozik, többnyire tekintélyes folyóiratokban megjelent közleményeken alapul, színvonalas eredményeket tartalmaz. A kutatások révén nyert ismeretek számos területen hasznosulhatnak: pl. orvosbiológiai és gyógyászati területeken. A téziseket elfogadom, az eredményeket az MTA doktora cím elnyeréséhez elegendőnek tartom, a nyilvános védésre bocsátást határozottan javaslom.

Veszprém, 2024. 11. 25.



Dr. Kaizer József
az MTA doktora