

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Fémkomplex alapú új, multifunkcionális, bioaktív vegyületek tervezése, előállítása és jellemzése

Nagy Imre

Témavezető: Prof. Dr. Farkas Etelka, professor emerita



DEBRECENI EGYETEM
Kémia Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2022

I. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A rákos megbetegedések mielőbbi felismerésének, minél hatékonyabb gyógyításának segítése a tudomány állandó feladatai közé tartozik. A gyógyítást nehezítő körülmények, például a rezisztencia és a mutáció, melyek hatásának csökkentése különösen nagy kihívást jelentenek napjainkban.

A gyógyszeres rákterápia során, már egyes fémkomplexek is kiemelkedő jelentőségűek lettek. Habár általánosan csak Pt(II)-t tartalmazó komplexeket alkalmaznak a klinikumban, a közelmúltban számos egyéb fémion és azoknak igen nagyszámú komplexe került az érdeklődés középpontjába, mint lehetséges rákellenes gyógyszerek kifejlesztésének kiindulópontjai. A fémionok mellett a ligandumok kiválasztásánál, vagy újak kifejlesztésénél is lényegében általános szempont lett, hogy azok önmagukban is rendelkezzenek biológiai aktivitással. Ily módon, a rákos sejteket több ponton támadó, hatékonyabb, szelektívebb gyógyszermolekulák kifejlesztése sok kutatás célja napjainkban.

Kutatómunkám során olyan új fémkomplexek szintézise, jellemzése volt a cél, melyek már ismert rákellenes hatással bíró különböző karakterű, töltésű és hidrolitikus tulajdonságú fémionokat tartalmaznak. A ligandumok kiválasztásánál is meghatározó volt, hogy azok önállóan is biológiai aktivitással rendelkezzenek.

Ennek értelmében munkám céljául tűztük ki potenciálisan rákellenes hatású néhány fémion komplexeinek az előállítását. A komplexek szintéziséhez a Co(III), Ru(II), Ru(III), Os(VI) és Ga(III) fémionokat választottuk. A komplexek esetén a célbajuttatás hatékonyságának és a szelektivitás növelését kívántuk elérni, olyan prodrug komplexek kifejlesztése révén, melyekben a kinetikailag inert Co(III)tren/tpa komplex központi fémionja csak hipoxiás közegben redukálódhat Co(II)-vé, majd a képződő labilis komplex

disszociációja eredményezheti a komponensek aktív formába kerülését. A második fémion pedig egy potenciálisan rákellenes hatású fémion, Ru(II), Ru(III), Os(VI) és Ga(III), melyeknek bevonásával képezzük a több támadási pontú kétfémes komplexeket. A két egység összekapcsolása olyan ambidentát ligandumok kifejlesztését szükségeltette, melyek egyaránt képesek a Co(III)-hoz koordinálódni O,O donoratomjaikkal, valamint a felsorolt fémionokhoz N,N donoratomjaikkal.

Kutatásunk első szakaszában a Co(III)tren/tpa egység összekapcsolására két ambidentát maltol-származékot szintetizáltunk, azonban a kétfémes komplexek előállítását mellékreakció gátolta meg.

A kihívásokat okozó ambidentát ligandumot egy SAHA-származékra cseréltük, mellyel sikeresen állítottuk elő a kétfémes komplexeket. Ez a ligandum a phenhaH volt, mely O,O donoratomjaival a Co(III)tren/tpa egységhez, míg N,N donoratomjaival a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]^{2+}$ komplexhez koordinálódik. Az előállított új vegyületeket az analitikai vizsgálatok mellett rákos sejtvonalakon is jó eredménnyel teszteltük valamint felderítettük a komplexek redoxi sajátságait is.

A deferasirox, továbbiakban H₃L_B, esetén a központi fémion rákellenes hatása mellett a ligandum vasmegkötő képessége is előnyös a több támadási pontú komplexek szintézisének szempontjából. A kutatás első szakaszában a dekarboxi-deferasirox Co(III) biszkomplexét, míg a esetén a deferasirox Co(III), Ru(III) és Ga(III) biszkomplexét, valamint az Os(VI) monokomplexének előállítását végeztük. A vízdoldhatóvá tett szulfonált deferasirox származékokat Ga(III) oldategyensúlyi vizes rendszerben vizsgáltuk.

A fluorofórként is funkcionáló naftil és fenantrolil egységekkel képzett deferasirox konjugátum szintén potenciálisan alkalmas lehet több támadási pontú komplexek képzésére. A Co(III) deferasirox-

fenantrolinamid biszkomplexe pedig N,N donoratomjaival képes két egység $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]^{2+}$ kationhoz koordinálódni.

Az előállított komplexek és ligandumok (1. ábra) analitikai jellemzését NMR, elemanalízis, IR, UV-Vis és egykristály röntgendiffrakciós módszerekkel kívántuk elvégezni, valamint a komplexek biológiai tesztje is terveink között szerepelt. Az oldategyensúlyi vizsgálatok segítségével pedig a komplexek vizes közegbeli stabilitásával kapcsolatban szeretnénk volna információt nyerni.

II. ALKALMAZOTT VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

A ligandumok és komplexek karakterizálását különböző analitikai módszerek segítségével végeztük.

Az **NMR spektroszkópiás** vizsgálatokat Bruker WP 360 SY és Bruker Avance 400 típusú készülékekkel, d^6 -DMSO és D_2O deutérált oldószerek alkalmazásával végeztük, a nyert spektrumokat MestReNova program segítségével értékeltük ki.

pH-potenciometriás vizsgálatokkal az oldatfázisban történő komplexképződési folyamatok egyensúlyi vizsgálatát határoztuk meg. A titrálási görbék kiértékeléséhez SUPERQUAD és PSEQUAD szoftvereket használtunk. A méréseket Mettler Toledo DGi 115-SC típusú kombinált üvegelektóddal felszerelt Mettler Toledo DL50, T50 vagy T5 titrátorokon végeztük, állandó hőmérséklet ($25,0 \pm 0,1$ °C) és ionerősség ($I = 0,20$ M KCl) mellett.

Az **infravörös spektroszkópiás** (IR) vizsgálatokat a Debreceni Egyetem, Szerves Kémiai Tanszékén Perkin Elmer FTIR Paragon 1000 PC műszerrel, KBr pasztillás módszerrel, az **elemanalízis** méréseket pedig Elementar Vario MICRO CUBE műszerrel végezték.

A **tömegspektrometriás** (ESI-MS) méréseket a Debreceni Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszéken Bruker MaXis ESI-TOF MS készülékkel végezték. A mérések pozitív és negatív módban történtek, oldószerként vizet vagy metanolt használtunk. A spektrumok kiértékelése a DataAnalysis 3.4. szoftverrel történt.

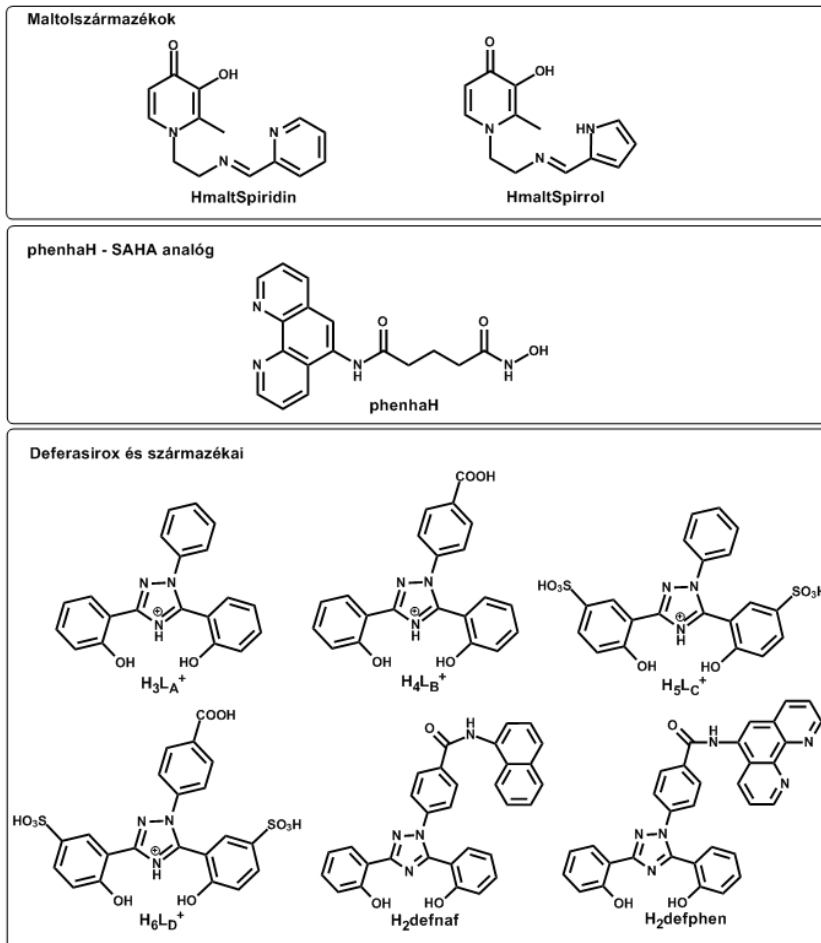
Az előállított egykristályok szerkezetét **egykristály röntgendiffrakciós** vizsgálattal állapítottuk meg a Debreceni Egyetem, Fizikai Kémiai Tanszékén, melyhez Bruker-D8 Venture típusú diffraktómetert használtak. A mérés során a Cu és a Mo karakterisztikus K_α sugárzását (Cu $K_\alpha = 1,54184$ Å, Mo $K_\alpha = 0,71073$ Å) alkalmaztuk. A komplexek szerkezeti képének elkészítéséhez,

valamint a kötéstávolságok és kötésszögek meghatározásához a Mercury 3.8 programot használtuk.

A ligandumok és komplexeik redoxi sajátságait Metrohm 746 VA Trace Analyzer és BASi Epsilon ECLipse **ciklikus voltamméter** (CV) készülékekkel vizsgáltuk. Munkaelektrodként szén (CHI104), ellenelektrodként platina, referenciaelektrodként pedig Ag/AgCl elektródot alkalmaztunk. A minták koncentrációja 1 mM volt, oldószerként víz : MeOH = 1 : 1 elegyét használtunk. A mérések során 0,20 M KNO₃ ionerősséget használtunk. A készülék kalibrálását K₃[Fe(CN)₆] vizes oldatával végeztük. A mintákat mérés előtt argon gázzal oxigén- és CO₂-mentesítettük. A minták koncentrációja 1 mM volt, a pásztázási sebességet a 10-500 mV/s tartományon belül változtattuk.

A **biológiai vizsgálatok**ba bevont fémkomplexek in vitro rákellenes hatását Prof. Jana Kasparkova és munkatársai határozták meg MTT teszt alkalmazásával. HeLa, MCF-7, MDA-MB-231 és HCT116 sejtvonalakon vizsgálták a komplexek hatékonyságát, a kapott eredményeket a ciszplatin azonos körülmények esetén mért eredményeivel is összehasonlítottuk. A vizsgált komplexek különböző koncentrációjú oldatait 72 órán keresztül 96 mélyedést tartalmazó sejtenyésztő edényben inkubálták a modell ráksejtekkel, majd hozzáadták az MTT oldatot. Ezt követően eltávolították a sejteket tápláló közeget és a felvett festékanyag mennyiségét fotometriás módszerrel mérték meg, a ciszplatinnal kezelt sejtekkel összehasonlítva.

III. A TANULMÁNYOZOTT LIGANDUMOK



1. ábra A PhD értekezésben tárgyalt ligandumok.

IV. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

4.1 Előállítottunk és jellemeztünk új, ambidentát, kelátképző maltolszármaezkokat, valamint kísérleteket végeztünk Co(III) és Ru(II) kétfémes komplexeik előállítására.

4.1.1 A kiindulási HmaltEtN vegyületet NaOMe bázis jelenlétében reagáltattuk egyik esetben piridin-karbaldehiddel, másik esetben pirrol-karbaldehiddel. A két reakcióban két új ambidentát ligandum képződött, az O,O és N,N donoratomokat tartalmazó HmaltSpiridin és a HmaltSpirrol.

4.1.2 Az előállított vegyületek szerkezetét, összetételét és tisztaságát NMR módszerekkel is igazoltuk.

4.1.3 A fémkomplex előállítási kísérletek során megálapítottuk, nem kívánt redoxi reakció történt. A tömegspektrumban csak egy részleges, Co egységből és a ligandumból álló komplexet tudtunk beazonosítani az m/z értékeknek megfelelően.

4.2 Előállítottuk és jellemeztük a phenhaH-t és fémkomplexeit.

4.2.1 Előállítottuk az új, ambidentát phenhaH nevű ligandumot, melyben komplexképző O,O donoratomokat biztosít a hidroxámsav csoport, N,N donoratomokat pedig a fenantrolin egység. A ligandumot NMR és MS vizsgálatokkal karakterizáltuk.

4.2.2 Előállítottunk egy új, egymagvú, Co(III)tpa tartalmú komplexet, valamint kétmagvú $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]^{2+}$ -t és egyik esetben Co(III)tren-t, míg a másik esetben Co(III)tpa-t tartalmazó komplexeket (2. ábra). A termékeket NMR, elemanalízis, IR, MS és CV vizsgálatokkal karakterizáltuk és igazoltuk, hogy a Co(4N) egységet a ligandum az O,O, míg az organoruténium kationt az N,N kelátjával köti.

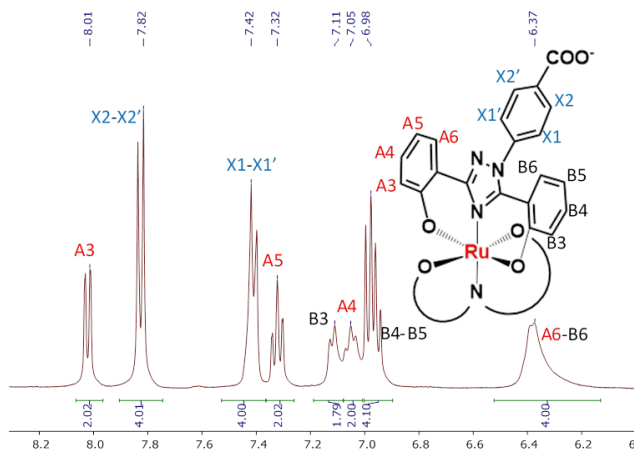
4.2.3 A kétmagvú komplexek CV vizsgálata alapján mind a tren, mind a tpa komplex voltammogramja mutat redukciós csúcsot, míg a tpa-t tartalmazó komplex voltammogramja reverzibilis folyamatokat is

4.3 Előállítottuk a deferasirox új származékait, valamint fémkomplexeit, majd jellemeztük azokat.

4.3.1 A deferasirox és dekarboxi-deferasirox vízdoldhatóságának növelése érdekében előállítottuk a két ligandum új, diszulfonált származékát a H₄L_C-t és a H₅L_D-t. A két új ligandumot NMR-rel és egykristály röntgendiffrakcióval is jellemeztük.

4.3.2 Előállítottuk és jellemeztük a deferasirox Ru(III)-mal, Co(III)-mal, és Ga(III)-mal alkotott új biszkomplexeit A komplexeket NMR (3. ábra), IR, MS és elemanalízis vizsgálatokkal karakterizáltuk.

4.3.3 Előállítottuk a K₂[(Os^{VI}O₂)L_BOH] molekulaszervezetű új deferasirox komplexet, melyben a kiindulási ozmium(IV) nem tervezett redoxi reakció lejátszódása miatt dioxo kationt képzett, ezáltal a deferasirox-szal monokomplexet alkot. Továbbá előállítottuk a Co(III) dekarboxi-deferasirox biszkomplexét, mely molekulaszervezetét ugyancsak egykristály röntgendiffrakcióval határoztuk meg.



3. ábra A K₃[Ru(L_B)₂] ¹H NMR spektruma DMSO-ban rögzítve, a protonok hozzárendelésével kiegészítve.

4.3.4 Az előállított H_4L_C -t és a H_5L_D ligandumok Ga(III)-ionnal való kölcsönhatását vizsgálva felderítettük a képződő komplexek összetételét és stabilitási szorzat értékeit. A számolt koncentrációeloszlási görbék alapján a komplexképződés már pH 2 körül kezdődik, valamint fiziológias pH-n a biszkomplex mennyisége a meghatározó.

4.4 Előállítottuk és jellemeztük a deferasirox karbonil szénatomon szubsztituált konjugátumait.

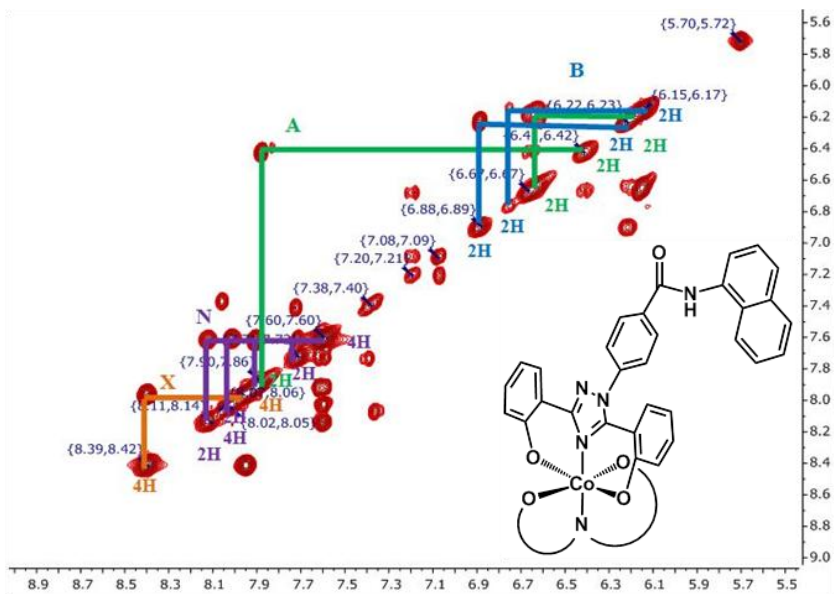
4.4.1 Módszert dolgoztunk ki a deferasirox-savklorid származékának szintézisére, mely további új konjugátumok előállítását teszi lehetővé.

4.4.2 Előállítottuk a H_2 defnaf konjugátumot, melyben a naftil egység fluorofórként lehetővé teszi a ligandum vagy fémkomplexeinek sejtben történő követését. Az új terméket NMR vizsgálattal jellemeztük.

4.4.3 Új, ambidentát ligandum az előállított H_2 defphen, melyben a fenantrolin egység N,N donoratomjaival képes egy második fémionhoz koordinálódni, ezzel képezve többmagvú komplexet. Az új terméket NMR vizsgálattal jellemeztük.

4.4.4 Előállítottuk a H_2 defnaf és a H_2 defphen Co(III) biszkomplexét. A termékeket NMR vizsgálattal jellemeztük (4. ábra).

4.4.5. ESI-MS vizsgálattal igazoltuk, hogy a $Co(defphen)_2$ komplex két organoruténium ion megkötésére képes a szabad phen egységek N,N kelátjai segítségével.



4. ábra A $K[Co(defnaf)_2]$ komplex 2D COSY spektrumának aromás tartománya.

V. AZ EREDMÉNYEK HASZNOSÍTÁSI LEHETŐSÉGEI

A kutatómunkám során döntően szintetikus munkát végeztem, melynek során a cél olyan potenciálisan rákellenes új fémkomplexek előállítására és karakterizálására volt, melyekben az alkotó komponensek önállóan is mutatnak rákellenes hatást, mint több támadási pontú komplex.

Az előállított és karakterizált 8 új maltol, SAHA és deferasirox származék, valamint Co(III), Ru(II)/(III), Os(VI) és Ga(III) komplexeik (mindösszesen 9 komplex, közülük 2 db a kétféle fémiont is tartalmazó), reményeink szerint hozzájárulást jelenthetnek olyan további gyógyszerfejlesztési munkákhoz, melyek eredményei hatékonyabb, szelektívebb gyógyszer-jelölt molekulák lehetnek.

Fontos, hogy a PhD munka során kidolgozásra kerültek olyan előállítási módszerek, eljárások, melyek hasznosíthatók a továbbiakban is új, remélhetően hatékony gyógyszerjelölt-molekulák előállításához.

TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés alapiját képző közlemények (2)

1. *I. Nagy, E. Farkas, J. Kasparikova, H. Kostrunova, V. Brabec, P. Buglyó*
Synthesis and characterization of (Ru(II), Co(III)) heterobimetallic complexes formed with a 1,10-phenanthroline based hydroxamic acid conjugate
Journal of Organometallic Chemistry, 2020, 916, 121265
IF: 2,369
2. *I. Nagy, G. Fereczik, L. Bíró, E. Farkas, A. Cs. Bényei, P. Buglyó*
Metal complexes of deferasirox derivatives: A solid state and equilibrium study
Polyhedron, 2020, 190, 114780
IF: 3,052

Az értekezésben nem tárgyalt közlemények (2)

1. *P. Buglyó, L. Bíró, I. Nagy, B. Szőcs, E. Farkas*
Hydroxypyronate, Thiohydroxypyronate and Hydroxypyridinonate derivatives as potential Pb²⁺ sequestering agents
Polyhedron, 2015, 92, 7-11.
IF: 2,108
2. *P. Buglyó, I. Kacsir, M. Kozsup, I. Nagy, S. Nagy, A. C. Bényei, É. Kovács, E. Farkas*
Tuning of the redox potentials of ternary cobalt(III) complexes containing various hydroxamates
Inorganica Chimica Acta, 2018, 472, 234-242.
IF: 2,433



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikacio@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/217/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Nagy Imre
Doktori Iskola: Kémiai Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10069272

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

1. **Nagy, I.**, Ferencsik, G., Bíró, L., Farkas, E., Bényei, A., Buglyó, P.: Metal complexation of deferasirox derivatives: A solid state and equilibrium study.
Polyhedron. 190, 1-13, 2020. ISSN: 0277-5387.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2020.114780>
IF: 3.052
2. **Nagy, I.**, Farkas, E., Kasparkova, J., Kostrhunova, H., Brabec, V., Buglyó, P.: Synthesis and characterization of (Ru(II), Co(III)) heterobimetallic complexes formed with a 1,10-phenanthroline based hydroxamic acid conjugate.
J. Organomet. Chem. 916, 1-9, 2020. ISSN: 0022-328X.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jorganchem.2020.121265>
IF: 2.369





**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikacio@lib.unideb.hu

További közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

3. Buglyó, P., Kacsir, I., Kozsup, M., **Nagy, I.**, Nagy, S., Bényei, A., Kováts, É., Farkas, E.: Tuning the redox potentials of ternary cobalt(III) complexes containing various hydroxamates.
Inorg. Chim. Acta. 472, 234-242, 2018. ISSN: 0020-1693.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2017.07.026>
IF: 2.433
4. Buglyó, P., Bíró, L., **Nagy, I.**, Szócs, B., Farkas, E.: Hydroxypyronate, thiohydroxypyronate and hydroxypyridinonate derivatives as potential Pb²⁺ sequestering agents.
Polyhedron. 92, 7-11, 2015. ISSN: 0277-5387.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2015.03.006>
IF: 2.108

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 9,962

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 5,421

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2022.04.22.

