

Fémkomplexek biospeciációja – Fókuszban a multidrog rezisztens rákos sejteken szelektíven ható vegyületek

ENYEDY Éva Anna*

**Szegedi Tudományegyetem, Molekuláris és Analitikai Kémiai Tanszék, Funkcionális Fémkomplexek Kutatócsoport, Dóm tér 7-8., 6720, Szeged, Magyarország*

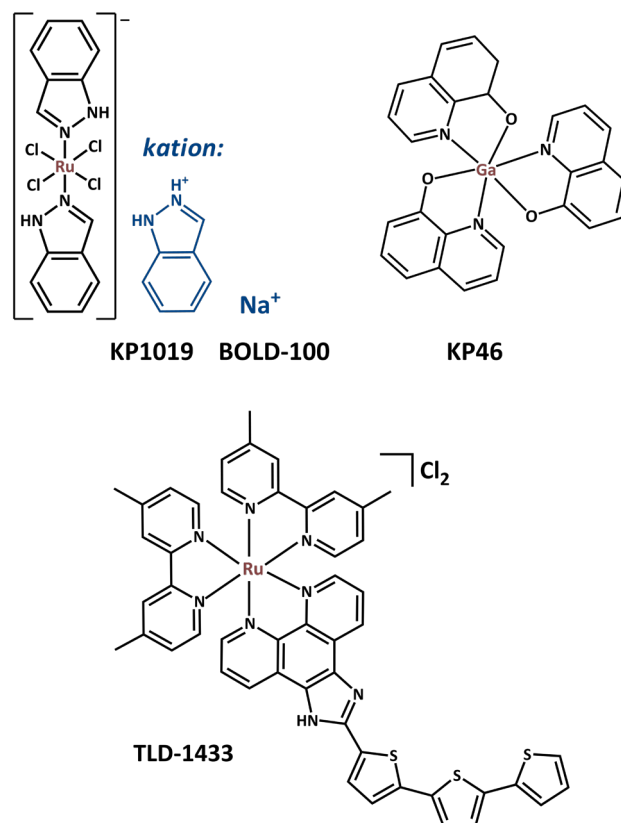
1. Bevezetés

A *Funkcionális Fémkomplexek Kutatócsoport* 2019-ben jött létre a Magyar Tudományos Akadémia Lendület programjának köszönhetően. A kutatócsoport munkájának célja rákellenes vegyületek, köztük fémkomplexek, fejlesztése és azok oldategyensúlyi folyamatainak, valamint farmakokinetikai viselkedésükben és a hatásmechanizmusukban szerepet játszó fizikai-kémiai tulajdonságaik minél mélyebb szintű megismerése. Ezen tulajdonságok és endogén vegyületekkel való kölcsönhatásuk átfogó jellemzése különböző spektroszkópai, elektrokémiai és elválasztástechnikai módszerekkel segíti a kémiai szerkezet, a vizes oldatbeli viselkedés és a biológiai hatás közötti összefüggések feltárását. Ezeknek a korrelációknak az ismerete fontos részét képezi a racionális gyógyszerfejlesztési folyamatnak és segíti az új (fém)vegyületek tervezését és a tulajdonságok optimalizálását a preklinikai fázisban.

A kutatócsoportban folyó munka elsősorban bioaktív ruténium-, ródium-, gallium-, vas- és rézkomplexek, 8-hidroxikinolin (HQ) és tioszemikarbazon származékok vizsgálatára irányul. A jellemzett fém–ligandum, fémkomplex–fehérje, ligandum–fehérje kölcsönhatásokra vonatkozó termodinamikai és kinetikai adatok birtokában modellezni tudjuk biológiailag releváns koncentrációviszonyok és bioligandumok jelenlétében a fémkomplexek viselkedését.

Napjainkban a daganatos betegségek kezelésében egyre nagyobb szerepet kapnak a célzott kismolekulás gyógyszerek és az immunterápiás módszerek, ugyanakkor a hagyományos kemoterápiás szerek továbbra is a klinikai gyakorlat alapvető elemei, különösen kombinált terápiaik részeként. A fémalapú rákellenes gyógyszerek közül a ciszplatina több mint 45 éve áttörést hozott a kemoterápiában, a karboplatin és az oxaliplatin együtt ma is széles körben alkalmazott készítmény.^{1,2} A kemoterápiás szerek, így a platina(II)-tartalmú komplexek hatékonyságát is azonban gyakran korlátozzák a súlyos mellékhatások, valamint a multidrog-rezisztencia (MDR) kialakulása.^{2,3} Ezen problémák új típusú, hatékonyabb és szelektívebb rákellenes gyógyszerjelöltek fejlesztését teszik szükségessé. Az új

jelöltek közül több fémkomplex már a klinikai vizsgálatok fázisába is eljutott, mint például a ruténium-tartalmú KP1019, BOLD-100,^{4,5} melyek csak kationjaikban térnek el egymástól, a TLD-1433,⁶ valamint a KP46 kódú galliumkomplex⁷ (1. ábra). Ugyanakkor számos szerves hatóanyag terápiás aktivitása szorosan kapcsolódik esszenciális fémionokkal kialakuló kölcsönhatásokhoz: metalloenzimek gátlásával, a sejtek fémion- vagy redoxi homeosztázisának megzavarásával fejtik ki hatásukat. Ezért mind a fémalapú gyógyszerjelöltek, mind a fémionokkal kölcsönható szerves molekulák fejlesztésében alapvető fontosságú a fémkomplexek képződésének részletes megismerése.



1. Ábra. Két klinikai vizsgálatba jutott Ru(III)-komplex: KP-1019 és BOLD-100, a Ru(II)-tartalmú TLD-1433 és a trisz(8-kinolinolátó) gallium(III) (KP46).

* Tel.: +36 62 544 334; e-mail: enyedy@chem.u-szeged.hu

A közlemény a Magyar Tudományos Akadémia VII. Kémiai Tudományok Osztály 2026. február 17-ei osztályülésén elhangzott előadás alapján készült.

Biospeciációs vizsgálataink számos esetben bizonyították már, hogy a gyógyszerjelöltek oldatkémiai tulajdonságai alapvetően meghatározzák a biológiai rendszerekben való viselkedést. Megmutattuk például hogy a bisz-indazol ruténium(III)-komplexek (KP1019, BOLD-100, 1. ábra) és a bilirubin között kialakuló versengés a humán szérumalbumin azonos kötőhelyéért magyarázatot ad a készítmények csökkent hatékonyságára emelkedett bilirubinszintű betegekben.⁸ Korrelációs elemzéseink rámutattak arra, hogy a nM-os citotoxicitású *N*-diszubsztituált tioszemikarbazonok daganatellenes aktivitását döntően az *in situ* képződő réz(II)-komplexek stabilitása és redukálhatósága határozza meg.^{9,10} Igazoltuk továbbá, hogy a klinikai vizsgálatokban is szereplő COTI-2 tioszemikarbazon és származékainak réz(II)- és glutationtartalmú vegyes-ligandumú komplexek stabilitása kulcsszerepet játszik a gyógyszerrezisztencia kialakulásában.^{11,12} Magyarázatot tudtunk adni két klinikai fejlesztés alatt álló, hasonló szerkezetű gallium(II-I)-komplex, a KP46 (1. ábra) és a trisz(maltolát)gallium(II-II) eltérő biológiai viselkedésére is. Megmutattuk, hogy ezen utóbbi komplexszel szemben a nagyobb stabilitású és lipofilebb KP46 eredeti formájában marad a vérszérumban, erősen kötődik albuminhoz és eltérő sejtfelvételi útvonalat követ.¹³

A fenti eredményeink vezettek kutatásaink jelenlegi egyik fő irányához, a fémionokkal erős kölcsönhatásra képes, multidrog-rezisztens rákos sejteken fokozott citotoxicitást kifejtő 8-hidroxi-kinolin származékok vizsgálatához. Az MDR kialakulásának egyik legfontosabb oka a P-glikoprotein efflux sztranszporter fokozott működése, ami csökkenti a gyógyszerek sejten belüli koncentrációját.¹⁴ Az MDR daganatsejteken szelektíven ható vegyületek azonosítását célzó nagyszámú biológiai adat korábbi elemzése ('data mining') rámutatott arra, hogy a leghatékonyabb vegyületek között feltűnően nagy arányban fordulnak elő komplexképző molekulák, köztük tioszemikarbazonok, 1,10-fenantrolin és HQ származékok.^{15,16} Kutatásaink központi kérdése, hogy a fémkomplexek képződése milyen szerepet játszik az MDR-szelektív daganatellenes hatás kialakulásában, ill. milyen módon javíthatjuk az ilyen vegyületek gyógyszerkémiai tulajdonságait. Jelen közleményben ezen kutatási területen elért legfontosabb eredményeinket foglalom össze.

2. MDR-szelektív 8-hidroxi-kinolinok oldategyensúlyi tulajdonságai és MDR-szelektivitásuk kapcsolata

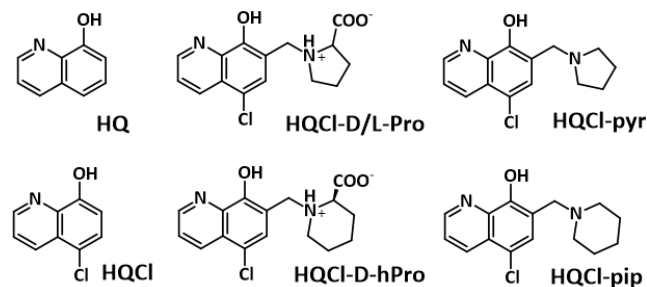
2.1. A vizsgált 8-hidroxi-kinolinok oldatkémiai tulajdonságai és citotoxicitásuk kapcsolata

A 8-hidroxi-kinolin származékok biológiai hatását nemcsak szerkezetük, hanem oldatkémiai tulajdonságaik is jelentősen befolyásolják. Különösen fontos szerepet játszanak a sav-bázis tulajdonságok, amelyek meghatározzák a molekulák protonáltsági állapotát, töltését, lipofilitását és vízben való oldhatóságát fiziológiás pH-n. Ezek a paraméterek alapvetően befolyásolják a sejtmembránon törté-

nő átjutást is. Néhány kiválasztott HQ származék szerkezeti képletét a 2. ábra mutatja.

Az egyszerű 8-hidroxi-kinolinoknak (HQ, HQCl) teljesen protonált állapotban két disszociábilis csoportja van: a kinolinium nitrogén és a fenolos hidroxilcsoport. A Mannich-bázis származékokban (HQCl-pyr, HQCl-pip) ehhez egy alifás ammóniumcsoport is társul, ill. az aminosav-hibridek (HQCl-D/L-(h)Pro) még egy karboxilcsoporttal is rendelkeznek. Ennek következtében fiziológiás pH-n a különböző vegyületcsaládok eltérő protonáltsági állapotban fordulnak elő.

A 2. ábrán lévő vegyületek OH-csoportjának pK_a értékei az 1. táblázatban láthatóak, a gyógyszerérzékeny MES-SA és az MDR MES-SA/Dx5 sejtvonalakon meghatározott citotoxicitásukat jellemző IC_{50} értékekkel, valamint termodinamikai oldhatóságukkal (S) együtt. A biológiai adatokat együttműködő partnereink (Szakács G. csoportja) határozták meg.



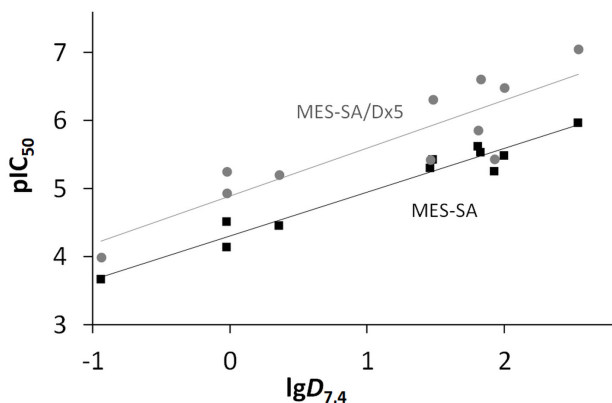
2. Ábra. Néhány vizsgált egyszerű és Mannich-bázis HQ származék képlete.

1. Táblázat. Néhány 8-hidroxi-kinolin citotoxicitása (IC_{50}) MES-SA és MES-SA/Dx5 sejtvonalakon, szelektivitási aránya (SR), hidroxilcsoportjának proton disszociációs állandójának tízes alapú negatív logaritmus (p*K_a* (OH)), és oldhatósága pH = 7,4-n ($S_{7,4}$).¹⁷⁻¹⁹ {*t* = 25,0 °C, *I* = 0,1 M KCl}

	IC_{50} (μM)		SR	pK_a (OH)	$S_{7,4}$ (mM)
	MES-SA	MES-SA/Dx5			
HQ	2,5	1,39	1,8	9,51	~0,5
HQCl	5,0	3,8	1,3	9,13	~0,1
HQCl-pip	1,09	0,09	12	7,42	0,254
HQCl-pyr	2,94	0,25	12	7,53	0,516
HQCl-D-hPro	35,4	6,3	5,6	7,49	>5
HQCl-D-Pro	73,6	11,6	6,3	7,77	>10
HQCl-L-Pro	31,3	5,6	5,6	7,63	>10

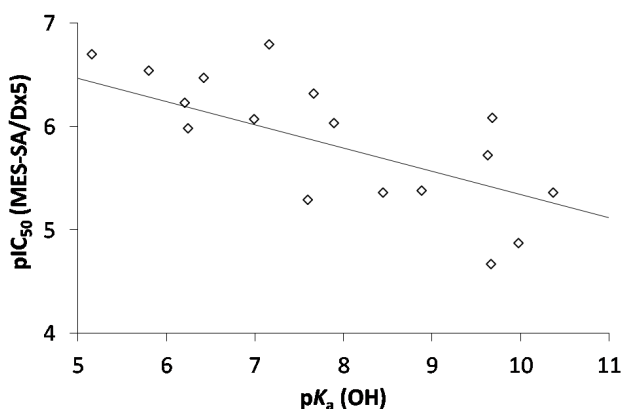
A vegyületek pK_a értékei¹⁷⁻¹⁹ alapján a HQ és HQCl pH 7,4-en gyakorlatilag semleges molekulaként van jelen. A HQCl-pyr és HQCl-pip Mannich-bázisok ezzel szemben közel azonos arányban fordulnak elő protonált (H_2L^+) és semleges (HL) formában, míg az aminosav-hibrid származékok esetében a semleges ikerionos és az anionos forma egyaránt jelentős mennyiségben jelen van. Ez utóbbi vegyületek vízben való oldhatósága ennek következtében nagyságrendekkel nagyobb. Az oldatkémiai tulajdonságok

és a biológiai aktivitás kapcsolatát vizsgálva összefüggést találtunk a lipofilitás és a citotoxicitás között (3. ábra).¹⁷ Lineáris összefüggés figyelhető meg a vegyületek n -oktanol/ H_2O megoszlási hányadosának tízesalapú logaritmus (lg $D_{7,4}$) és a pIC₅₀ értékek között mind a kétféle vizsgált sejtvonalon, ami arra utal, hogy ezekben a sejtekben a vegyületek felvétele döntően passzív diffúzióval történik, amelyet elsősorban a membrán-permeabilitás határoz meg. A MES-SA/Dx5 sejteknél azonban ez az összefüggés lényegesen gyengébb, ami további tényezők meghatározó szerepét mutatja.



3. Ábra. Néhány 8-hidrokinolin származék citotoxicitása (pIC₅₀) és lipofilitása (lg $D_{7,4}$) közötti összefüggés MES-SA ($R^2 = 0,96$; $p < 0,001$) és MES-SA/Dx5 ($R^2 = 0,78$; $p < 0,001$) sejtvonalakon. Az ábra a 17. számú hivatkozásban található 1. ábra adaptációja.

A hidroxilcsoport pK_a értéke és a citotoxicitás között ugyanakkor a rezisztens sejtekben egyértelmű kapcsolat figyelhető meg (4. ábra).^{20,21} A pK_a csökkenésével a vegyületek citotoxikus hatása fokozódik az MDR sejtekben, míg a gyógyszerérzékeny sejtekben hasonló összefüggés nem mutatható ki. Ez arra utal, hogy az OH-csoport savassága, illetve az ebből következő elektroneloszlás és koordinációs sajátságok különösen fontos szerepet játszanak az MDR-sejtekkel szembeni aktivitás kialakulásában.



4. Ábra. Néhány 8-hidrokinolin származék MES-SA/Dx5 sejtvonalon mért citotoxicitása (pIC₅₀) és pK_a (OH) értéke közötti összefüggés ($R^2 = 0,56$; $p < 0,001$). Az ábra a 21. számú hivatkozásban található 6.a ábra adaptációja.

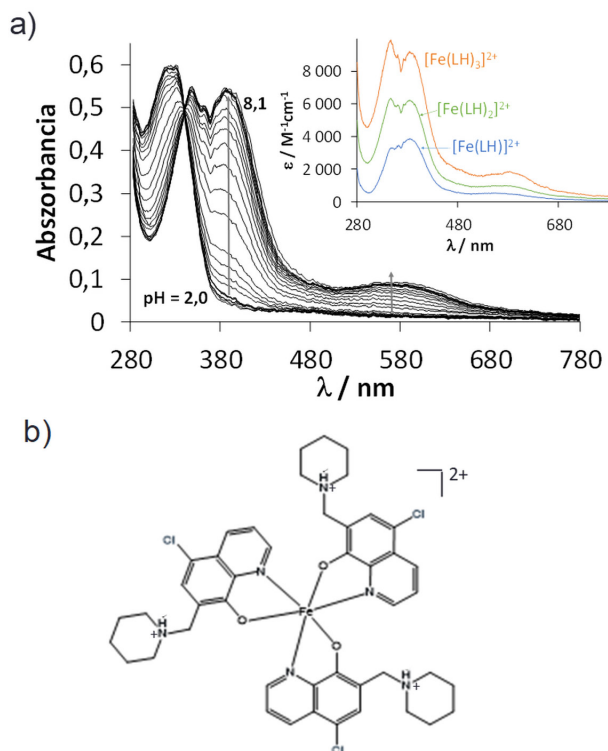
Egy 120 vegyületből álló, szerkezetileg változatos 8-hidrokinolin-származék könyvtáron is megerősítettük az így feltárt összefüggést,²¹ amihez a kísérletileg meghatározott mellett a ChemAxon Marvin programjával²² jóslott pK_a értékeket is felhasználtunk. Emellett rámutattunk arra, hogy az R5-helyzetű klór szubsztituens és az R7-helyzetű aminometil-csoport együttes jelenléte kedvező az MDR-szelektivitás kialakításához.^{20,21}

A sav-bázis tulajdonságok alapvetően meghatározzák a ligandumok fémionkötő képességét is. Ennek megfelelően a következő fejezet a vizsgált HQ-származékok Fe(II)- és Fe(III)-ionokkal kialakuló kölcsönhatását tárgyalja, melynek fontos szerepe van a hatásmechanizmusban.

2.2. A vizsgált MDR-szelektív 8-hidrokinolinok kölcsönhatása vasionokkal

A 8-hidrokinolin származékok MDR-szelektív citotoxicitásának hatásmechanizmusát vizsgálva arra a megállapításra jutottunk, hogy a legígéretesebb vegyületek a P-glikoproteint túlermelő rezisztens rákos sejtekben jelentős intracelluláris vaskoncentráció-csökkentést idéznek elő.²⁰ Ezzel összhangban vas(III)-sók egyidejű adagolása csökkentette ezen vegyületek citotoxikus hatását az MDR-sejtekben, míg a P-glikoprotein gátlása megakadályozta ezt a vasszint csökkenést.²⁰ Ezek alapján az MDR-szelektív HQ-k hatásmechanizmusának kritikus lépése a celluláris vas-homeosztázis felborítása. Feltételezésünk szerint a ligandumok a sejtben belül nagy stabilitású vaskomplexekeket képeznek, amelyeket a P-glikoprotein felismer és hatékonyan eltávolít a sejtől, ezáltal funkcionális vashiányt idézve elő.^{20,21} A vas oxidációs állapota ezekben a komplexben még nem tisztázott.

Ezek alapján kiemelt jelentőségűvé vált minél nagyobb számú HQ származék Fe(II)- és Fe(III)-ionokkal kialakuló komplexeinek részletes oldategyensúlyi jellemzése. UV-látható spektrofotometriás titrálások segítségével már több ligandum esetén meghatároztuk a képződő komplexek stabilitási szorzatait, valamint ciklikus voltammetriás és spektroelektrokémiai vizsgálatokkal jellemeztük a komplexek redoxi tulajdonságait.^{19,23} Ilyen spektrumsorozatot mutat a Fe(II) – HQCl-pip rendszerrel az 5.a ábra, melyet oxigénmentes körülmények között mértünk.



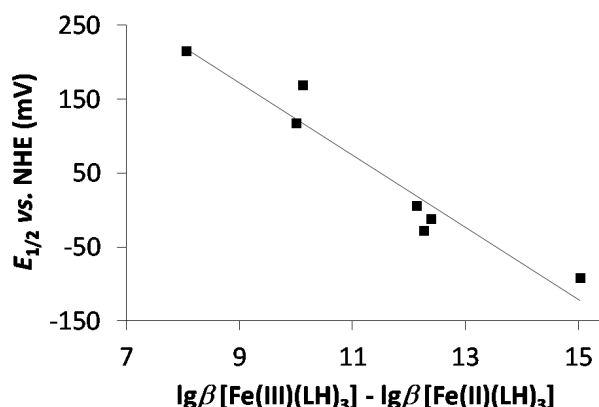
5. Ábra. a) A Fe(II) – HQCl-pip (1:3) rendszer UV-látható spektrofotometriás titrálása a 2,0-8,1 pH tartományban, és a mono-, bisz- és trisz-ligandumú komplexek számított egyedi moláris spektrumai. Az ábra a 19. számú hivatkozásban található 3.a ábra adaptációja. b) A pH 7,4-n domináns $[\text{Fe(II)(HQCl-pip)}_3]^{2+}$ komplex szerkezete.

A vizsgált ligandumok mind Fe(II)-, mind Fe(III)-ionokkal nagy stabilitású mono-, bisz- és triszkomplexeket képeznek (N,O) koordinációs móddal.^{19,23} Fiziológias pH-n ligandumfelesleg mellett a protonált trisz-ligandumú komplexek a dominánsak (ld. 5.b ábra). A stabilitási szorzatok alapján pFe(II)- és pFe(III)-értékeket számítottunk pH 7,4-n a 2. ábrán lévő ligandumok esetében (kiv. HQCl) a vasionok felé mutatott affinitásuk összehasonlítása érdekében (2. táblázat). A kapott pFe értékek alapján valamennyi vegyület hatékony vaskelátornak tekinthető fiziológias körülmények között. Az alapvegyülethez (HQ) képest viszont a Mannich-bázis származékok pFe(III) és pFe(II) értékei közötti különbségek jóval kisebbek, ami kihat a redoxi potenciálra is. A vaskomplexek redoxi tulajdonságainak jellemzésére ciklikus voltametriás vizsgálatokkal félértékpotenciálokat ($E_{1/2}$) határoztunk meg (2. táblázat).

2. Táblázat. Néhány 8-hidroxikinolin vaskomplexére vonatkozó pFe(III) és pFe(II) (pH = 7,4; $c_L = 10 \mu\text{M}$, $c_{Fe} = 1 \mu\text{M}$) és félérték potenciál érték ($E_{1/2}$ vs. NHE).¹⁹ { $t = 25,0^\circ\text{C}$, $I = 0,1 \text{ M KCl}$ }

	pFe(III)	pFe(II)	$E_{1/2}$ (mV)
HQ	10,3	7,7	-230
HQCl-pip	8,3	8,4	+169
HQCl-pyr	7,4	7,6	+118
HQCl-D-hPro	9,7	8,0	+6
HQCl-D-Pro	9,7	8,0	-28
HQCl-L-Pro	9,5	7,8	-12

Az $E_{1/2}$ értékek viszonylag erős korrelációt mutatnak a Fe(III)- és Fe(II)-tris-ligandumú komplexek stabilitási szorzatainak (β) hányadosának tízes alapú logaritmusával (6. ábra). Tehát a redoxi folyamat közel reverzibilis és ugyanaz a koordinációs geometria marad fenn a két oxidációs állapot között ezen komplexeknél. Az $E_{1/2}$ értékek alapján az MDR-szelektív vegyületek Fe(III)/Fe(II) redoxi potenciálja a pozitívabb értékek felé tolódik a referencia, nem MDR-szelektív HQ-hoz képest, ami a Fe(III)-állapot kisebb relatív stabilitására, illetve a Fe(II)-állapot kedvezőbb stabilizálására utal. Ezek a különbségek valószínűleg hozzájárulnak a vegyületek eltérő MDR-szelektivitásához.



6. Ábra. Félérték potenciál értékek ábrázolása a $[\text{Fe(III)(LH)}_3]$ és $[\text{Fe(II)(LH)}_3]$ komplexek $\lg\beta$ értékeinek különbségének függvényében a HQCl-pyr, HQCl-pir, HQCl-L/D-(h)Pro, valamint HQCl-L-Pro nitro analógja ($\text{HQNO}_2\text{-L-Pro}$) és a szulfoxin esetében ($R^2 = 0,93$; $p < 0,001$). Az ábra a 19. számú hivatkozásban található 11. ábra adaptációja.

2.3. A vizsgált MDR-szelektív 8-hidroxikinolinok félszendvics organoródiium komplexei

Az MDR-szelektív HQ származékok fejlesztésének egyik legnagyobb kihívása a vegyületek rendkívül alacsony vízdoldhatósága. Bár a leghatékonyabb ligandumok jellemzően erősen lipofil karaktere (3. ábra) elősegíti a sejtekbe jutást és hozzájárul a kiemelkedő citotoxicitáshoz, ez a tulajdonság egyúttal komoly akadályt gördít a gyógyszerformulálás és az *in vivo* alkalmazás elé. Ezen ellentmondás feloldására kutatócsoportunk több, egymást kiegészítő stratégiát dolgozott ki a gyógyszerkémiai tulajdonságok javítására.

Első lépésként – a korábban már ismertetett módon – aminosavrészt tartalmazó 8-hidroxikinolin-hibrideket állítottunk elő (HQCl-L/D-(h)Pro, $\text{HQNO}_2\text{-L-Pro}$) együttműködő partnereinkkel (Szatmári I. csoportja).²⁴⁻²⁶ Ezek a vegyületek az ikerionos szerkezetüknek köszönhetően kiválóan oldódnak vízben fiziológias pH-n (1. táblázat). A biológiai vizsgálatok ugyanakkor egyértelműen rámutattak arra, hogy a vegyületek állandó hidrofíl jellege kedvezőtlenül befolyásolja a citotoxicitást.²⁴⁻²⁶

Ezt követően a vízdoldhatóság javítása érdekében félszendvics Rh(III)($\text{h}^5\text{-C}_5\text{Me}_5$)- és Ru(II)($\text{h}^6\text{-p-cimol}$)-komplexekeket alkalmaztunk a magas MDR-szelektivitást mutató

HQCl-pip és HQCl-pyr (2. ábra) ligandumokkal.¹⁸ A fémorganikus komplexeket $[M(h^{5/6}\text{-arén})(HL)Cl]Cl$ formában állítottuk elő, szerkezetüket 1H , ^{13}C NMR, ESI-MS módszerekkel igazoltuk. A $[Rh(\eta^5\text{-}C_5Me_5)(HQCl\text{-}pip)Cl]Cl$ komplexet röntgenkrisztallográfiás módszerrel is jellemeztük, ami megerősítette a ligandum (N,O) donoratomokon keresztüli kétfogú koordinációját. Ezek a fémorganikus komplexek vizes oldatban széles pH-tartományban nagy stabilitásúak. A komplexképzés jelentősen növelte a vegyületek hidrofíli karakterét, amelyet a fiziológiás körülmények között végbemenő Cl^-/H_2O ko-ligandumcsere tovább növelt. A két fémplatform biológiai viselkedése azonban jelentősen eltért a citotoxicitási adatok alapján (3. táblázat).¹⁸

3. Táblázat. A HQCl-pyr és HQCl-pip 8-hidroxikinolinok fűszendvics komplexeinek citotoxicitása (IC_{50}) MES-SA és MES-SA/Dx5 sejtvonalakon, valamint szelektivitási aránya.¹⁸

	IC_{50} (μM)		SR
	MES-SA	MES-SA/Dx5	
Ru($\eta^6\text{-}p\text{-cimol}$)-HQCl-pip	3,46	1,92	1,8
Ru($\eta^6\text{-}p\text{-cimol}$)-HQCl-pyr	8,97	2,78	3,2
Rh($\eta^5\text{-}C_5Me_5$)-HQCl-pip	2,04	0,22	9,1
Rh($\eta^5\text{-}C_5Me_5$)-HQCl-pyr	2,97	0,19	16

A $Rh(\eta^5\text{-}C_5Me_5)$ -komplexek a szabad ligandumokhoz hasonló citotoxicitást és SR értékeket mutattak, ami összhangban áll a gyors ligandumcsere-folyamatokkal és a HQ ligandum felszabadulásával. Emellett a Cl^-/H_2O csere során keletkező telítetlen koordinációs szférájú ródiumkomplexek nagy affinitású kötődését is igazoltuk a humán szérumbumminhoz. Ez várhatóan meghosszabbítja a vérkeringésben töltött időt, és elősegítheti a rákos szövetekben történő passzív feldúsulást.

Ezzel szemben a $Ru(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})$ komplexek aktivitása jelentősen csökkent a ligandumokhoz képest (1. és 3. táblázat).¹⁸ Ennek oka lehet egyrészt a lassabb ligandumcsere, amely gátolja a 8-hidroxikinolin disszociációját, másrészt az $\eta^6\text{-arén}$ vesztés és az ezt követő oxidáció, amelyek inert $Ru(II)$ - ill. $Ru(III)$ -komplexek kialakulásához vezetnek.

A jobb gyógyszerkémiai tulajdonságok elérése érdekében az MDR-szelektív HQCl-pip ligandumot, valamint annak $Rh(\eta^5\text{-}C_5Me_5)$ komplexét gangliozid-funkcionalizált polimer nanorészecskébe formuláltuk együttműködő partnereink (Feczko T., Pannon Egyetem) segítségével. A micella alapú nanoformuláció jelentősen javította a ligandum vízben való oldhatóságát, miközben a kedvező tumorelles aktivitás és MDR-szelektivitás megmaradt.¹⁸

3. Összefoglalás

Kutatócsoportunk munkájának középpontjában olyan rákellenes fémkomplexek és komplexképző vegyületek vizsgálata áll, amelyek biológiai aktivitását alapvetően meghatározza a vizes oldatbeli viselkedésük és biospeciációjuk. Eredményeink rámutatnak arra, hogy a gyógyszerjelöltek

kémiai szerkezete, sav-bázis tulajdonságai, lipofilitása, komplexképző képessége, valamint a kialakuló fémkomplexek stabilitása és redoxi sajátosságai milyen összefüggésben állnak a farmakokinetikai tulajdonságokkal és a rákellenes hatással.

A multidrog-rezisztens rákos sejtvonalakon szelektíven ható 8-hidroxikinolin származékok vizsgálata során igazoltuk, hogy a ligandumok protonáltsági állapota és lipofilitása egyaránt befolyásolja a citotoxicitásukat. Megmutattuk, hogy az MDR-szelektivitás összefügg a hidroxilcsoport savasságával, valamint a vegyületek $Fe(II)$ - és $Fe(III)$ -ionokkal kialakuló komplexeinek stabilitásával és redoxi tulajdonságaival. A szubsztituensek mellett, hogy befolyásolja a ligandumok, és ezáltal a fémkomplexek adott körülmények közötti töltését, elektronikus hatásuk révén finomhangolja a $Fe(III)$ -, illetve $Fe(II)$ -komplexek relatív stabilitását, valamint az ezekkel összefüggő félértékpotenciált. Így valószínűsíthető, hogy a vashomeosztázisba való beavatkozás és az intracellulárisan képződő vas-komplexek fontos szerepet játszanak az MDR-szelektív hatásmechanizmusban.

A kedvező biológiai aktivitású 8-hidroxikinolinok korlátozott vízoldhatósága ugyanakkor problémát jelent a gyógyszerfejlesztés során. Vizsgálataink alapján a 8-hidroxikinolin-aminosav-hibridek ugyan jelentősen javítják a vízoldhatóságot, azonban ezzel párhuzamosan csökken a citotoxicitás. Ezzel szemben a $Rh(\eta^5\text{-}C_5Me_5)$ -komplexek lehetővé teszik a ligandumok reverzibilis kötődését és felszabadulását, miközben megőrzik kedvező biológiai aktivitásukat, és emellett a humán szérumbumminhoz is nagy affinitást mutatnak. A $Ru(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})$ analógok viszont rendre egyértelműen kisebb aktivitásúak a ligandumokhoz képest. A fűszendvics komplexekkel kapcsolatos eredményeink rámutattak arra is, hogy a reverzibilis hordozóplatformként való alkalmazhatóságot a fémközpont kinetikai tulajdonságai befolyásolja. A vízben való oldhatóságot nanoformulálással is sikeresen javítottuk, a kiválasztott származék (HQCl-pip) és ródiumkomplexének gangliozid-funkcionalizált polimer nanorészecskébe történő beépítésével.

Összességében eredményeink jól mutatják, hogy a biospeciációs vizsgálatok nem csupán a hatásmechanizmus mélyebb megértését szolgálják, hanem az új gyógyszerjelöltek racionális tervezésének is alapvető eszközei. Az oldategyensúlyi és redoxi tulajdonságok részletes ismerete lehetővé teszi a szerkezet-tulajdonság-biológiai hatás összefüggéseinek feltárását, amely új, multidrog-rezisztens rákos sejtek ellen hatékonyabb vegyületek fejlesztésének alapját képezheti.

Köszönetnyilvánítás

A közlemény az MTA Lendület Programja (LP2019-6/2019) és az NKFIH magyar-osztrák nemzetközi együttműködésen alapuló kutatási pályázat (ANN 149481) támogatásával készült. A szerző köszönetet mond a Funkcionális

Fémkomplexek Kutatócsoport jelenlegi és korábbi tagjainak, kiemelten Dömötör Orsolyának és Kovács Hildának valamint az idézett cikkekben szereplő további társszerzőknek, elsősorban Szakács Gergelynek (Medical University of Vienna), Bernhard K. Kepplernek (University of Vienna) és Szatmári Istvánnak (Szegedi Tudományegyetem) együttműködésükért.

Hivatkozások

- Kelland, L. *Nat Rev Cancer* **2007**, 7, 573–584.
<https://doi.org/10.1038/nrc2167>
- Kenny, R. G.; Marmion, C. J. *Chem. Rev.* **2019**, 119, 1058–1137.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00271>
- Oun, R.; Moussa, Y. E.; Wheate, N. J. *Dalton Trans.* **2018**, 47, 6645–6653.
<https://doi.org/10.1039/C8DT90088D>
- Anthony, E. J.; Bolitho, E. M.; Bridgewater, H. E.; Carter, O. W. L.; Donnelly, J. M.; Imberti, C.; Lant, E. C.; Lermite, F.; Needham, R. J.; Palau, M.; Sadler, P. J.; Shi, H.; Wang, F.-X.; Zhang, W.-Y.; Zhang, Z. *Chem. Sci.* **2020**, 11, 12888–12917.
<https://doi.org/10.1039/D0SC04082G>
- Spratlin, J. L.; O’Kane, G. M.; Oh, D.-Y.; Rha, S. Y.; Knox, J. J.; Bain, S.; Pankovich, J.; Bazett, M.; Plummer, R. *J. Clin. Oncol.* **2024**, 42 (3 suppl), 143.
https://doi.org/10.1200/JCO.2024.42.3_suppl.143
- Monro, S.; Colón, K. L.; Yin, H.; Roque, J. I., III; Konda, L. N. S. S.; Gujar, S.; Thummel, R. P.; Lilge, L.; Cameron, C. G.; McFarland, S. A. *Chem. Rev.* **2019**, 119, 797–828.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00211>
- Valiahdi, S. M.; Heffeter, P.; Jakupiec, M. A.; Marculescu, R.; Berger, W.; Rappersberger, K.; Keppler, B. K. *Melanoma Res.* **2009**, 19, 283–293.
<https://doi.org/10.1097/CMR.0b013e32832b272d>
- Dömötör, O.; Hartinger, C. G.; Bytsek, A. K.; Kiss, T.; Keppler, B. K.; Enyedy, E. A. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2013**, 18, 9–17.
<https://doi.org/10.1007/s00775-012-0944-6>
- Hager, S.; Pape, V. F. S.; Pósa, V.; Montsch, B.; Uhlik, L.; Szakács, G.; Tóth, S.; Jabronka, N.; Keppler, B. K.; Kowol, C. R.; Enyedy, E. A.; Heffeter, P. *Antioxid. Redox Signal.* **2020**, 33, 395–414.
<https://doi.org/10.1089/ars.2019.7854>
- Pósa, V.; Hajdu, B.; Tóth, G.; Dömötör, O.; Kowol, C. R.; Keppler, B. K.; Spengler, G.; Gyurcsik, B.; Enyedy, E. A. *J. Inorg. Biochem.* **2022**, 231, 111786.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.111786>
- Bormio Nunes, J. H.; Hager, S.; Mathuber, M.; Pósa, V.; Roller, A.; Enyedy, E. A.; Stefanelli, A.; Berger, W.; Keppler, B. K.; Heffeter, P.; Kowol, C. R. *J. Med. Chem.* **2020**, 63, 13719–13732.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01277>
- Pósa, V.; Stefanelli, A.; Nunes, J. H. B.; Hager, S.; Mathuber, M.; May, N. V.; Berger, W.; Keppler, B. K.; Kowol, C. R.; Enyedy, E. A.; Heffeter, P. *Cancers* **2022**, 14, 4455.
<https://doi.org/10.3390/cancers14184455>
- Enyedy, E. A.; Dömötör, O.; Bali, K.; Hetényi, A.; Tuccinardi, T.; Keppler, B. K. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2015**, 20, 77–88.
<https://doi.org/10.1007/s00775-014-1211-9>
- Gottesman, M. M.; Fojo, T.; Bates, S. E. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, 2, 48–58.
<https://doi.org/10.1038/nrc706>
- Szakács, G.; Paterson, J. K.; Ludwig, J. A.; Booth-Genthe, C.; Gottesman, M. M. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006**, 5, 219–234.
<https://doi.org/10.1038/nrd1984>
- Szakács, G.; Hall, M. D.; Gottesman, M. M.; Boumendjel, A.; Kachadourian, R.; Day, B. J.; Baubichon-Cortay, H.; Di Pietro, A. *Chem. Rev.* **2014**, 114, 5753–5774.
<https://doi.org/10.1021/cr4006236>
- Dömötör, O.; Pivarscik, T.; Yazdi, Z. N.; Bakos, É.; Özvegy-Laczka, C.; Hetényi, A.; Martinek, T.; Szatmári, I.; Tóth, S.; Szakács, G.; Borics, A.; Enyedy, E. A. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2025**, 212, 107187.
<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2025.107187>
- Pivarscik, T.; Tóth, S.; Pósa, S. P.; May, N. V.; Kovács, É.; Spengler, G.; Kántor, I.; Rolya, A.; Feczko, T.; Szatmári, I.; Szakács, G.; Enyedy, E. A. *Inorg. Chem.* **2024**, 63, 23983–23998.
<https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.4c04398>
- Kovács, H.; Hajdu, B.; May, N. V.; Lihi, N.; Szatmári, I.; Szakács, G.; Enyedy, E. A. *ACS Omega* **2026**, 11, 2554–2569.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.5c06872>
- Pape, V. F. S.; Gaál, A.; Szatmári, I.; Kucsma, N.; Szoboszlai, N.; Strelci, C.; Fülöp, F.; Enyedy, E. A.; Szakács, G. *Cancers* **2021**, 13, 154.
<https://doi.org/10.3390/cancers13010154>
- Pape, V. F. S.; Palkó, R.; Tóth, S.; Szabó, M. J.; Sessler, J.; Dormán, G.; Enyedy, E. A.; Soós, T.; Szatmári, I.; Szakács, G. *J. Med. Chem.* **2022**, 65, 7729–7745.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c00076>
- ChemAxon, Ltd. Instant J Chem / MarvinSketch; ChemAxon Ltd.: Budapest, Hungary, 2012.
- Pape, V. F. S.; May, N. V.; Gál, G. T.; Szatmári, I.; Szeri, F.; Fülöp, F.; Szakács, G.; Enyedy, E. A. *Dalton Trans.* **2018**, 47, 17032–17045.
<https://doi.org/10.1039/C8DT03088J>
- Mészáros, J. P.; Poljarević, J. M.; Szatmári, I.; Csuvik, O.; Fülöp, F.; Szoboszlai, N.; Spengler, G.; Enyedy, E. A. *Dalton Trans.* **2020**, 49, 7977–7992.
<https://doi.org/10.1039/D0DT01256D>
- Pivarscik, T.; Dömötör, O.; Mészáros, J. P.; May, N. V.; Spengler, G.; Csuvik, O.; Szatmári, I.; Enyedy, E. A. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, 22, 11281.
<https://doi.org/10.3390/ijms222011281>
- Pivarscik, T.; Pósa, V.; Kovács, H.; May, N. V.; Spengler, G.; Pósa, S. P.; Tóth, S.; Nezaft Yazdi, Z.; Özvegy-Laczka, C.; Ugri, I.; Szatmári, I.; Szakács, G.; Enyedy, E. A. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 24, 593.
<https://doi.org/10.3390/ijms24010593>

Biospeciation of metal complexes: Focus on compounds that selectively target multidrug-resistant cancer cells

Biospeciation – the distribution of a drug candidate among its different chemical forms under biological conditions – is a fundamental determinant of pharmacological activity. For both metal-based and metal-binding organic drugs, biological responses are governed not only by the administered compound but also by its biotransformations. Chemical processes such as protonation, hydrolysis, metal coordination, redox reactions, and protein binding together determine the active chemical species, directly influencing pharmacokinetics and pharmacodynamics. Consequently, characterizing these physicochemical processes is essential for the rational design of novel anticancer agents.

Our research group focuses on elucidating the relationships between solution chemical behavior and biological activity by combining spectroscopy, electrochemistry, and separation techniques. We have demonstrated that detailed knowledge of biospeciation can help identify the key molecular properties that drive anticancer efficacy. Our previous studies on bioactive metal complexes and metal-binding ligands demonstrated that relatively smaller differences in chemical structures and solution chemical properties can influence biological behavior. For instance, explanation could be provided for the reduced efficacy of bis-indazole Ru(III) complexes in patients with elevated bilirubin levels, or the different pharmacological behavior of structurally similar Ga(III) complexes applied in the clinical studies. The stability of ternary complexes of the clinically investigated COTI-2 and its derivatives with Cu(II) and glutathione was also shown to have a strong impact on the resistance mechanism.

8-Hydroxyquinoline (HQ) derivatives emerged as promising anticancer candidates in the last decades. Large-scale data screening revealed that metal chelators, including HQs, are markedly overrepresented among molecules exhibiting collateral sensitivity toward multidrug resistant cells. Since the overexpression of the P-glycoprotein efflux transporter commonly drives multidrug resistance (MDR), our central objective became understanding how metal complex formation contributes to the selective toxicity of these ligands. Consequently, our studies focused on establishing structure–property–bioactivity relationships and elucidating the role of iron complexation in MDR-selective cytotoxicity.

The biological activity of HQs is governed by both their structure and solution chemical properties. Protonation equilibria determine the charge, lipophilicity, solubility, and metal-binding ability of these studied ligands under physiological conditions. By systematically investigating simple HQs, Mannich-base derivatives, and their amino acid hybrids, we linked these physicochemical properties to biological activity. Cytotoxicity in drug-sensitive cancer cells correlated strongly with lipophilicity; however, this

correlation weakened in P-glycoprotein-overexpressing MDR cells, indicating that additional factors drive their selective activity. A key finding was that MDR-selective cytotoxicity correlates with the pK_a value of the phenolic hydroxyl group. Furthermore, combining a R5-chlorine substituent with a R7-aminomethyl group proved particularly favorable for MDR selectivity.

Mechanistic studies revealed that the most potent MDR-selective HQ derivatives induce pronounced intracellular iron depletion specifically in P-glycoprotein-overexpressing cancer cells. We hypothesized that the MDR-selective ligands form highly stable intracellular iron complexes that P-glycoprotein recognizes and actively exports. This hypothesis prompted our comprehensive investigation of the Fe(II)- and Fe(III)-binding properties of these derivatives. Our solution studies demonstrated that all investigated ligands form stable mono-, bis-, and tris-complexes with Fe(II) and Fe(III) under physiological conditions. Spectrophotometric and cyclic voltammetric measurements revealed that substituents strongly influence both ligand protonation and the relative stability of the Fe(III) and Fe(II) complexes, thereby modulating their redox properties. It was suggested that the compound of high MDR selectivity has higher redox potential and stronger affinity towards Fe(II). These findings support that intracellular iron complexation might drive the mechanism of action.

To improve their drug-like properties of MDR-selective compounds with poor aqueous solubility, two main strategies were explored: i) amino acid conjugation and ii) coordination to organometallic Rh(III)(h^5 -C₅Me₅) and Ru(II)(h^6 -*p*-cymene) fragments. While amino acid hybrids showed improved solubility, their permanently hydrophilic character reduced cytotoxicity. In contrast, organometallic coordination increased hydrophilicity, however yielding strikingly different biological outcomes for the two metal platforms. The Rh(III)(h^5 -C₅Me₅) complexes retained the high cytotoxicity and MDR selectivity of the parent ligands, owing to rapid ligand-exchange kinetics and efficient HQ release. Furthermore, they exhibited high affinity toward human serum albumin as well. On the contrary, the Ru(II)(h^6 -*p*-cymene) analogues displayed substantially lower activity. Encapsulation of the lead ligand HQCl-pip and its rhodium complex into ganglioside-functionalized polymeric nanoparticles significantly improved solubility, while preserving anticancer efficacy and MDR selectivity.

Overall, these results demonstrate that a detailed understanding of solution equilibria and metal coordination provides a rational framework to design more effective anticancer agents capable of overcoming multidrug resistance.