Nanotechnológia és fény kapcsolata: arany nanoklaszterek és fényreszponzív rendszerek biomedicinális alkalmazási területeken

Doktori értekezés

dr. Erdei Eszter

Semmelweis Egyetem Doktori Iskola
Gyógyszertudományok és Egészségügyi Technológiák Tagozat

Témavezető: Dr. Mándity István, habil. PhD

Hivatalos bírálók: Dr. Bősze Szilvia, Ph.D., egyetemi docens
Dr Wacha András, Ph.D., tudományos munkatárs

Komplex vizsga szakmai bizottság:
Elnök: Prof. Dr. Benyó Zoltán, DSc.
Tagok: Dr. Őrfi László, Ph.D.
Dr. Gáti Tamás, Ph.D.

Budapest
2025

1. Bevezetés

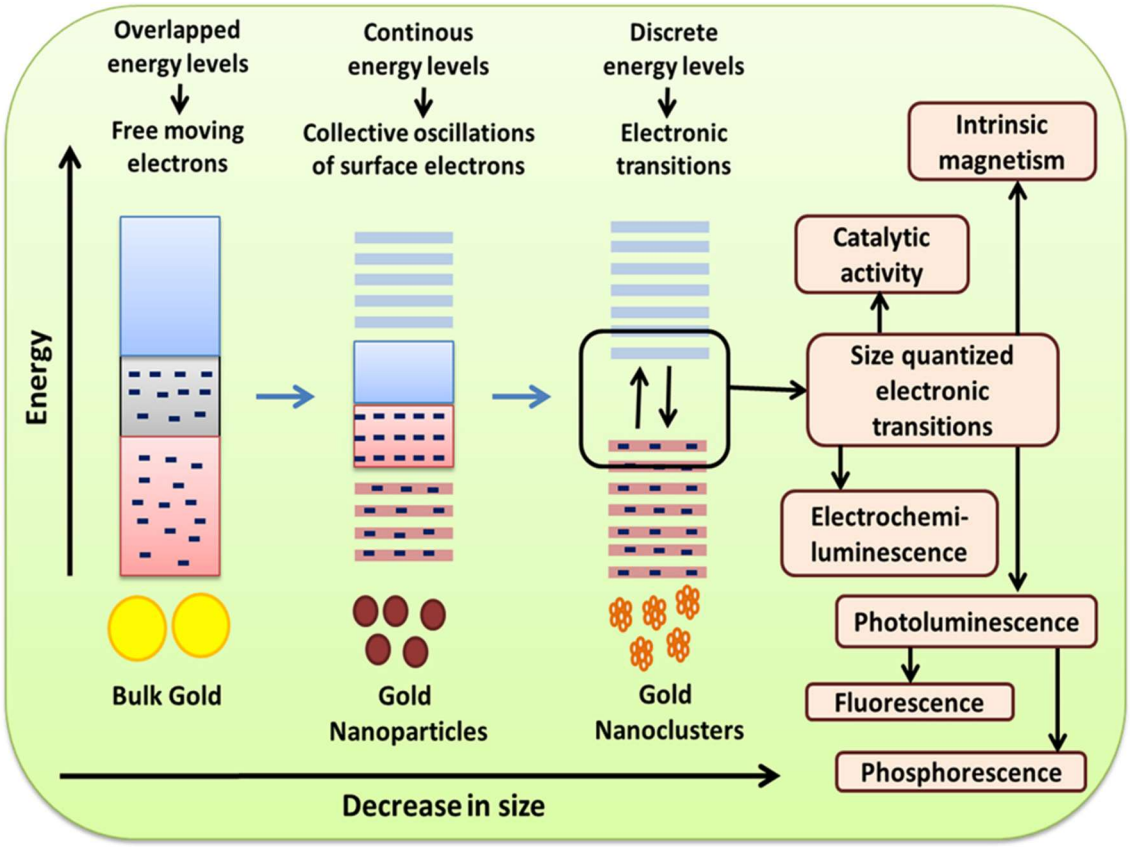
A nanotechnológia és a biomedicina számos új, funkcionális anyag létrejöttét eredményezte, amelyek közül az arany nanoklaszterek (AuNC-k) különösen ígéretes vegyületcsaládként emelkednek ki.

Az arany nanoklaszterek molekulaméretű (<2 nm) aranyatom-halmazok, amelyek tulajdonságai a kvantumhatások miatt jelentősen eltérnek a hagyományos aranyétól. Kis méretük és nagy felület–térfogat arányuk lehetővé teszi funkcionális ligandumok és az angol szakirodalomban úgynevezett „cargo" vegyületek kapcsolását, amely növeli stabilitásukat és biológiai alkalmazhatóságukat. Az elmúlt évek kutatásai igazolták, hogy az arany nanoklaszterek ígéretesek biomedicinális alkalmazásokban, különösen onkológiai területeken, továbbá képalkotásban, diagnosztikában és célzott terápiában.

Az arany nanoklaszterek szintézisében a kémiai redukciós és bioszintetikus módszerek mellett egyre gyakrabban alkalmaznak úgynevezett egyedényes („one-pot") és fehérjealapú eljárásokat. Utóbbiak egyszerűségük miatt előnyösek. A stabilizálásban kiemelt szerepet játszanak a tiolok és származékaik, mint ligandumok. A karakterizálásuk fejlett módszereket igényel: úgy, mint nagyfelbontású elektronmikroszkópia, UV–VIS és fluoreszcencia-spektroszkópia, valamint tömegspektrometria és röntgendiffrakció segítik a szerkezet és tulajdonságok feltárását.

Az arany nanoklaszterek kis méretük miatt molekulaszerű viselkedést mutatnak, amely diszkrét energiaszintekhez, és egyedi optikai tulajdonságokhoz vezet. Ez teszi őket kiváló fluoreszcens jelölővé.

A képalkotásban nagy kvantumhatásfokuk és hangolható emissziós spektrumuk miatt hatékonyak, ez különösen igaz a közeli infravörös tartományban, amely elősegíti a tumorok mélyebb szöveti detektálását. Terápiában fototermikus ágensekként használhatók, amelyek szelektíven pusztítják el a tumorsejteket, miközben célzott ligandkötéssel csökkentik az egészséges szövetek károsodását. Emellett gyógyszerhordozóként is alkalmazhatók, mivel fokozzák a hatóanyagok oldhatóságát és biohasznosulását. Bioszenzorikában − fluoreszcens tulajdonságuk révén − detektálásra alkalmasak, például nehézfémek és kórokozók kimutatására.



1. **Ábra. A tömb arany, az arany nanorészecskék és az arany nanoklaszterek eltérő tulajdonságainak eredete.** Sonia, Komal, Kukreti S, Kaushik M. Gold nanoclusters: An ultrasmall platform for multifaceted applications. Talanta. 2021.;234:122623.

Az arany nanoklaszterek kutatása dinamikusan fejlődik, és egyre több alkalmazás jelenik meg, amelyek egyesítik a képalkotási és terápiás lehetőségeket. Ugyanakkor számos kihívás áll fenn: a méret és szerkezet pontos kontrollja, a stabilitás és biológiai viselkedés kiszámíthatósága. A szintézis és a karakterizálás standardizálása a jelenleg is zajló kutatások feladata. A hagyományos szintézismódszerek gyakran toxikus anyagokat és körülményeket alkalmaznak, ami környezeti kockázatokat vet fel. Ezért egyre nagyobb figyelem irányul a zöld szintézisre, amely környezetbarát eljárásokkal és természetes anyagok felhasználásával kínál fenntarthatóbb alternatívát.

A nanorendszerek iránti növekvő érdeklődés mellett a fotofarmakológia is előtérbe került, mint élvonalbeli módszer a biológiai folyamatok tér- és időbeli szabályozására. Ez az új terület a fotokémiát és a farmakológiai stratégiákat ötvözi, lehetővé téve a biomolekulák fény általi, pontos és reverzibilis modulációját. Központi szerepet játszanak a fotoreszponzív vegyületek, köztük speciálisan tervezett peptidek és foldamerek,

amelyek adott hullámhosszon történő besugárzás hatására konformáció változásra képesek biológiailag aktív és inaktív állapotok között.

A fotofarmakológia fotoreszponzív elemeket alkalmaz a bioaktív vegyületek aktivitásának pontos szabályozására. Ezek a vegyületek két fő csoportra bonthatók: fotoreszponzív elemek és az angol szakirodalomban „photocage" néven ismert vegyületek. Utóbbiakkal a gyógyszerek fényre történő „felszabadítása" irányított és helyi terápiát tesz lehetővé, minimalizálva a szisztémás toxicitást. Ez az alternatíva az optogenetikával szemben egyszerűbb, gyorsabb és reverzibilis beavatkozást biztosít.

Fotoreszponzív peptidek és foldamerek forradalmi vegyületek az anyagtudományban és a biomedicinában, mivel fény hatására reverzibilis konformációváltozásokra képesek. Ez lehetővé tesz célzott gyógyszerszállítást, biológiai érzékelést és fejlett terápiás beavatkozásokat. A fényre adott reakció főként az azobenzol, spiropirán vagy más fotoérzékeny csoportok integrációján alapul.

A fotoreszponzív elemek olyan szerveskémiai építőegységek, amelyek fény hatására jelentős konformációváltozást idéznek elő, ezzel modulálva például peptidek katalitikus tulajdonságait és biológiai interakcióit. Az azobenzol alapú módosítások stabilizálhatnak β-redőket, lehetővé téve célzott receptor- vagy enziminterakciók szabályozását is.

A peptidekben alkalmazott azobenzol egységek fény hatására E/Z (transz/cisz) izomerizációt mutatnak, amely precíz szerkezeti és funkcionális vezérlést tesz lehetővé. Az így kiváltott konformációváltozások módosíthatják a receptorkötő affinitást, ami kulcsfontosságú a gyógyszertervezésben. Szilárdfázisú peptidszintézissel (SPPS) ezek a fotoreszponzív elemek könnyen beépíthetők a peptidvázba, lehetővé téve fényre kapcsolható bioaktivitás létrehozását.

A fotoaktiválható peptidek finoman szabályozzák a másodlagos és harmadlagos szerkezeteket, valamint a membrán- és fehérjeinterakciókat. A látható fényre reagáló rendszerek különösen ígéretesek célzott terápiákban, például antibakteriális vagy immunterápiás alkalmazásoknál, ahol a térben és időben megvalósított kontroll kiemelt jelentőségű.

Foldamerek, mint szintetikus oligomerek, amelyek meghatározott 3D struktúrába rendeződnek, ellenállnak az enzimes lebomlásnak, és fotoreszponzív elemekkel reverzibilis szerkezetváltozásra képesek. Alkalmazhatók iontranszportban,

gyógyszerszállításban és biomolekuláris felismerésben. Fény stimulus hatására reverzibilis aktivitás érhető el, mellyel biológiai folyamatok kontrollja valósulhat meg.

2. Célkitűzés

A disszertációm célkitűzései két fő témára bonthatók: (*i*) az arany nanoklaszterekre és (*ii*)a fotoreszponzív peptidekre és foldamerekre.

Első célom egy manuálisan szerkesztett, részletes és átfogó adatbázis létrehozása volt arany nanoklaszterek biomedicinális alkalmazásairól. Három fő szempont alapján hoztuk létre az adatbázist: (*i*) szabad hozzáférésű legyen, (*ii*) felhasználóbarát felülettel rendelkezzen, (*iii*) nem csak tapasztalt kutatóknak, hanem az újonnan érkezőknek is hasznos információkat tartalmazzon.

Célunk volt, hogy az adatbázis a következő legfontosabb információkat tartalmazza a kigyűjtött cikkekből: alkalmazási terület, részecskeméret, sejtvonal, gerjesztési/ emissziós hullámhosszak, valamint elérhető TOC-ábrák.

Továbbá szerettem volna bővíteni az adatbázist a Chemical Abstracts Service (CAS) adatbázisából (https://www.cas.org/) származó információkkal, a SciFinder^{n} (https://scifinder-n.cas.org/) használatával.

Másik célom az volt, hogy összegyűjtsem a legfrissebb eredményeket a fotoreszponzív peptidekkel és foldamerekkel kapcsolatban. A kutatás során olyan peptideket és foldamereket kerestünk, melyben a fotoreszponzív viselkedés valamilyen farmakológiai hatást képes modulálni.

Ezen adatok birtokában célunk volt áttekinteni ezt a fontos tudományterületet, illetve potenciálisan új fotoreszponzív építőelemet tartalmazó vegyületeket létrehozni.

3. Módszerek

3.1. Adatgyűjtés és feldolgozás

A BioGoldNCDB kézzel szerkesztett és ellenőrzött adatokat tartalmaz az arany nanoklaszterekről. A kezdeti keresést a CAS adatbázisban, a SciFinder^{n} segítségével végeztem a *"gold nanocluster"* kulcsszóval. További szűrési paramétereket alkalmaztam: 2000–2024 között megjelent, angol nyelvű folyóiratcikkek, diagnosztikai és farmakológiai alkalmazásokhoz kapcsolódó tanulmányokból. A review-cikkeket kizártam, így 3577 cikk maradt. Ezután további szűrés történt az absztraktokban szereplő *"cluster"* kifejezés alapján, amivel a végső szám 247 cikkre csökkent.

Hat manuálisan hozzáadott adatmezőt vettem fel: alkalmazási terület, sejtvonal, részecskeméret, gerjesztési/emissziós hullámhossz, nanokonjugátumok és TOC-grafikák. Minden bejegyzést egyenként ellenőriztem, és csak az arany nanoklaszterekhez közvetlenül kapcsolódókat tartottam meg. A keresést 2024. június 27-én végeztem.

A fotoreszponzív peptidek és foldamerek esetében szintén a CAS adatbázist és a SciFinder^{n}-t használtam, a *"photoswitchable"* és *"peptides"* kulcsszavakkal. A lekérdezés 2024. augusztus 8-án történt. Csak azokat a tanulmányokat vettem figyelembe, amelyekben a beépített fotoreszponzív elem konformáció változást idézett elő a peptidek és foldamerek szerkezetében. Így választottam ki a 30 legrelevánsabb cikket, amelyeket egy minireviewban foglaltam össze.

3.2. Adatbázis-tervezés és megvalósítás

A BioGoldNCDB web alkalmazást modern JavaScript alapú eszközökkel hoztuk létre, az adatokat MySQL relációs adatbázisban tároljuk. A web alkalmazást és az adatbázist a DigitalOcean felhő-infrastruktúrájában működtetjük.

4. Eredmények

4.1. Arany nanoklaszter adatbázis manuálisan hozzáadott oszlopai

4.1.1. Alkalmazási terület

Az arany nanoklaszterek alkalmazásait négy fő kategóriába soroltam: gyógyszerszállítás, terápia, képalkotás és egyéb biomedicinális alkalmazások. Néhány tanulmány nem részletezte a felhasználási területet, ezeket az „egyéb" kategóriába soroltam. Több esetben számos alkalmazást is megadtak (pl. terápia és képalkotás), ezeket külön is feltüntettük. Az esetek 3%-ában nem állt rendelkezésre adat. A legfontosabb területek a képalkotás és a terápia.

4.1.2. Sejtvonalak

Az arany nanoklaszereket többféle sejtvonalon vizsgálták, a leggyakoribbak az MCF-7), HeLa, HepG2 és A549 sejtvonalak voltak. Emellett figyelemre méltó az antibakteriális hatásuk is, különösen az *E. coli* és *S. aureus* baktériumok ellen.

4.1.3. Részecskeméret

A vizsgálatok célja a magméret meghatározása volt, de sok esetben csak a nanokonjugátum teljes méretére állt rendelkezésre adat. Az arany nanoklaszterek 28%-a 2 nm alatti, míg a többi 30% 2–10 nm közötti, 18% pedig 10–50 nm tartományba esett. A szakirodalomban nem mindig egyértelmű a definíció, mely alapján a <2 nm rendszerint a magméretre vonatkozik, ez TEM mérésekkel igazolható, míg a teljes részecskeméretet gyakran DLS méréssel történik.

4.1.4. Gerjesztési és emissziós hullámhossz

Az összegyűjtött adatok szerint a gerjesztési hullámhossz maximum főként 400-500 nm között, míg az emissziós 600-700 nm között található A többfémes hibrid nanorészecskéket nem vettem figyelembe, mivel azok módosítják az arany tulajdonságait.

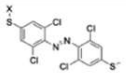
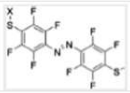
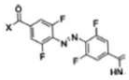
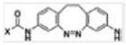
4.1.5. Nanokonjugátumok

A nanokonjugátumok egyik része a stabilizálást szolgálja, ezeket nevezzük ligandumoknak. Ilyenek például a tiolok és származékaik, kiemelve a glutationt (GSH). A másik részét az angol szakirodalom úgynevezett „cargo" molekulákként említi, ezek a funkcióért felelősek. Leggyakrabban peptideket és fehérjéket, de oligonukleotidokat és gyógyszermolekulákat is alkalmaztak az arany nanoklaszterek funkcionalizálására.

4.2.Fotoreszponzív peptidek és foldamerek

Készítettem egy összefoglalótáblázatot a kiválasztott publikációkból. A szekvenciákat a hozzájuk tartozó szerkezeti változásokkal és a jellemzésükhöz használt technikákkal együtt két táblázatban foglaltam össze külön a peptidekre és foldamerekre. A PSS arány a fotoreszponzív molekulákban az izomerek (általában *cisz* és *transz*) arányát jelenti, amely adott hullámhosszú fény állandó besugárzásakor egyensúlyban alakul ki.

1. **Táblázat.** Fényreszponzív peptidek és foldamerek.

Fotoreszponzív elem neve	Fotoreszponzív elem szerkezete	*cisz --> transz* hullámhossz (nm)	*transz --> cisz* hullámhossz (nm)	PSS arány	Peptid neve, szekvenciája	Célpont	Publikáció
Tetra-orto-klór azobenzol (oCl-Azo)		660	415	cisz: 82%, transz: 92%	PMI peptid inhibitor TSFACYWNGLSC X= oCl-Azo	p53-MDM2 interakció	Kapun *et al.* (2024)
4,40-2oktafluor benzol (2-OFAB)		450	590	cisz: 86%, transz: 89%	Sejtpenetráló peptid LKKLLKCLKKCLKLAG X= OFAB	Sejt penetráció	Cataldi *et al.* (2023)
Tetra-orto-fluorazobenzol (oF4-Azo)		405	520	cisz: 95%, transz: 90%	WDR5-tel iterakcióba lépő peptid isobutiril-c(D-Dab-Arg-Abu-D-Phe-X) X= oF4-Azo	WDR5-MLL1 interakció	Albert *et al.* (2022)
5,6-dihidro-dibenzo[c,g][1,2]-diazocin (cAzo)		405	520	cisz: 100%, transz: 16%	WDR5-tel iterakcióba lépő peptid SARA-cAzo-VHLRKS	WDR5-MLL1 interakció	Albert *et al.* (2019)

Két, fotoreszponzív elemekhez hasonló szerkezetű molekula szintézisében vettem részt. A ftalazin-1(2H)-on kizárólag N-alkilezést végez, míg a benzotriazol esetében az alkilezés az N1 pozícióban a legvalószínűbb, amit kísérletileg is igazoltunk.

5. Következtetések

5.1. BioGoldNCDB

Az arany nanoklaszterek, különleges alkategóriát képviselnek az arany nanorészecskéken belül. A ≤2 nm magméretükből adódóan és a kvantum hatásnak köszönhetően egyedi optikai, elektronikai és katalitikus tulajdonságokkal rendelkeznek. Magas felület-térfogat arányuk miatt könnyen és változatosan módosíthatóak ligandumokkal illetve cargo-kal. Ezáltal növelhető biokompatibilisuk és fotostabilitásuk, így alkalmasak lehetnek képalkotásban, diagnosztikában, célzott terápiában és gyógyszerszállításban, illetve bioszenzorokként is fontos szerepet játszhatnak.

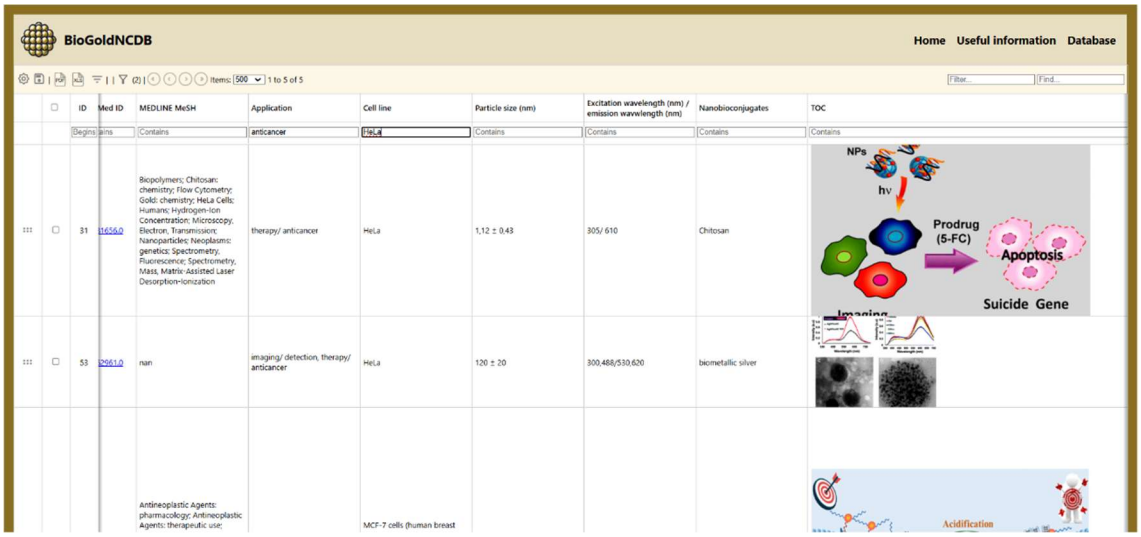
A BioGoldNCDB 247 publikált cikk adatait tartalmazza, és fejlett keresési lehetőségeket kínál a hatékony navigációhoz. A felhasználók kereshetnek kulcsszavak alapján, valamint szűrőkkel pontosíthatják a találatokat (pl. részecskeméret, alkalmazási területek, nanokonjugátumok). A keresés tovább bővíthető CAS-számokkal, folyóirat-nevekkel vagy egyéb azonosítókkal, mivel a rendszer integrálja a SciFinder^{n} adatait is.

Az adatbázis tartalma négy fő kategóriába rendezett: manuálisan hozzáadott oszlopok, bibliográfiai információk, azonosítók és kódok és kiegészítő adatok.

A felhasználóbarát felület támogatja a többszíntű szűrést, a keresési feltételek mentését és ezek exportálását is.

Keresési lehetőségek:

1. Szabad szöveges keresés: bármely adatmezőben (pl. CAS-szám, PubMed ID, szerző, cikkcím, intézmény, folyóirat, év).
2. Egyszerű keresés: adott kritérium alapján (pl. alkalmazás, sejtvonal, részecskeméret, nanokonjugátum, gerjesztési/emissziós hullámhossz).
3. Többfeltételes keresés: több kritérium kombinálásával, amely csak a minden feltételnek megfelelő találatokat adja vissza.



2. Ábra. A BioGoldNCDB adatbázisban végzett több kritériumos szűrés eredménye.

5.1.Fotoreszponzív peptidek és foldamerek

Ezzel párhuzamosan a fotoreszponzív peptidek és foldamerek kutatása is egyre nagyobb jelentőségre tesz szert. Ezek a rendszerek pontos tér- és időbeli szabályozást biztosítanak biológiai funkciók felett.

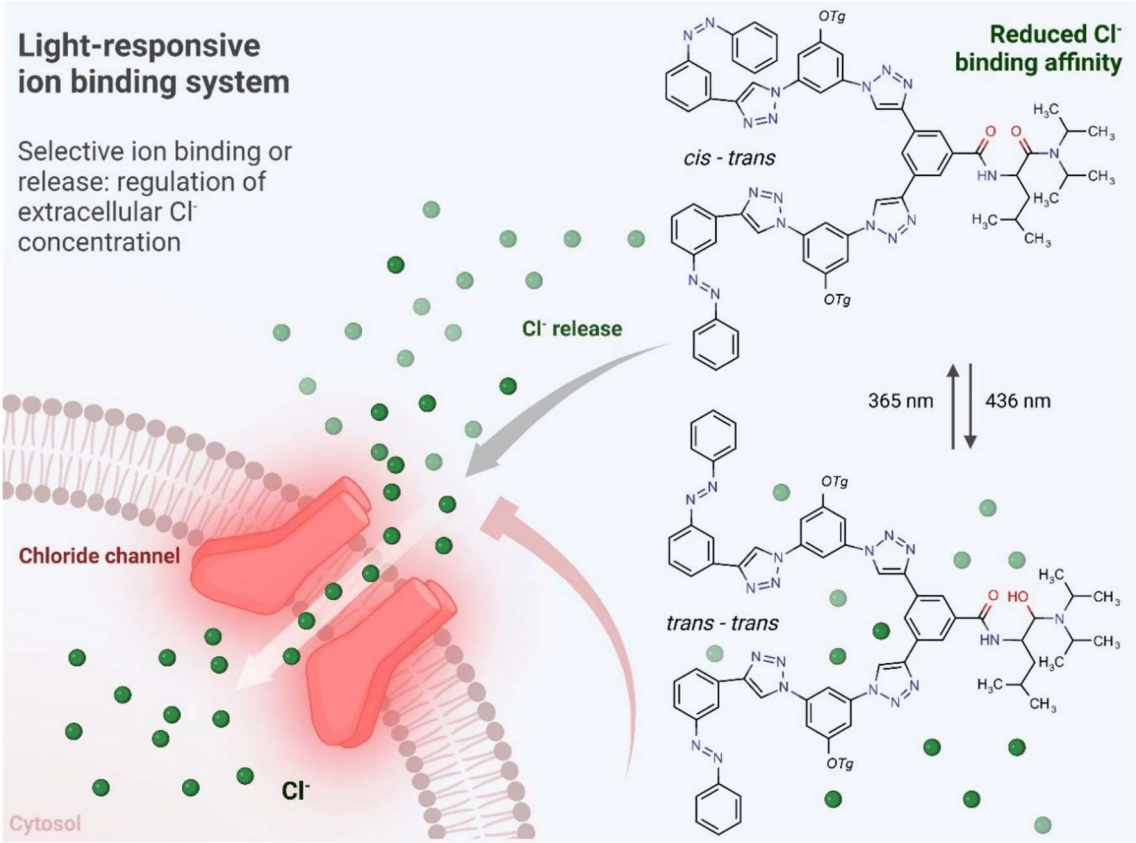
A minireview a legfrissebb, fotoreszponzív peptidekkel és foldamerekkel kapcsolatos eredményeket foglalja össze. Célja, hogy bemutassa ezeket a rendszereket, mint ígéretes, következő generációs farmakológiai eszközöket, amelyek lehetőséget kínálnak hatóanyagszállításban, precíziós orvoslásban, optofarmakológiában és adaptív bioanyagok fejlesztésében.

Fény hatására bekövetkező reverzibilis konformáció változásaik révén precízen szabályozhatóvá válnak molekuláris és sejtszintű folyamatok, új utakat nyitva a nagy pontosságú fényvezérelt terápiák felé.

A fotoreszponzív peptidek kromofórokat – például azobenzolt – tartalmaznak a biológiai funkciók optikai kontrolljához. Az új tervezési stratégiák, főként SPPS módszerrel kiegészülve, lehetővé teszik a fotoreszponzív elemek peptidekbe, foldamerekbe történő bevezetésével konformációs változások előidézését, amelyek befolyásolják például az enzimaktivitást és az izomösszehúzódást ismételt ciklusokon keresztül. Ezen rendszerekből kiindulva, sikeres szintetikus módosításokat végeztünk piridazinon- és triazol-származékokon, mint potenciális fotoreszponzív elemeken, ahol propilén-karbonátot alkalmaztunk oldószerként és reagensként, genotoxikus anyagok használata nélkül.

A foldamerek, szintetikus, meghatározott 3D-s szerkezettel rendelkező oligopeptidek, szintén fényérzékeny egységekkel láthatók el. Az azobenzol egység beépítése lehetővé teszi szerkezetük és funkciójuk reverzibilis szabályozását, így alkalmazhatóak iontranszport, gyógyszerszállítás és molekuláris felismerés kontrolljában. Például fényvezérelt kloridion-transzportot valósítottak meg, amely ígéretes terapeutikum lehet cisztás fibrózis és epilepszia kezelésében.

Mind a peptidek, mind a foldamerek képesek alkalmazkodni a környezeti változásokhoz, utánozni és kontrollálni biológiai folyamatokat, például fehérje-fehérje interakciókat és aggregációt. Ez új lehetőséget kínál az idegrendszeri betegségek gyógyításában.



3. Ábra. Az azobenzol *Z/E* izomerizációja lehetővé teszi, hogy egy foldamer fény hatására szabályozza a kloridionok megkötését és felszabadítását.

Publikációs jegyzék

A tézis alapját képező publikációk:

1. Erdei E, Marcos JT, Varró N, Horváti K, Bacsa B, Mándity IM. Spatiotemporal control in biomedicine: photoswitchable peptides and foldamers. British Journal of Pharmacology. 2025.; bph.70163. IF: 7,7

2. Czompa A, Bogdán D, Balogh B, Erdei E, Selymes P, Csomos A, Mándity IM. Sustainable and Safe N-alkylation of N-heterocycles by Propylene Carbonate under Neat Reaction Conditions. International Journal of Molecular Sciences. 2024.; 25(10):5523. IF: 4,9

3. Erdei E, Mándoki A, Deák A, Balogh B, Molnár L, Mándity IM. BioGoldNCDB: A Database of Gold Nanoclusters and Related Nanoparticles with Biomedical Activity. Molecules 2025.; 30, 3310. IF: 4,6

A tézis témájához nem kapcsolódó pblikációk:

1. Varró N, Mándityné Huszka B, Erdei E, Mándoki A, Mándity IM. Upscaled Synthesis of α- and β-Peptides in a Continuous-Flow Reactor Using Propylene Carbonate as an Eco-Friendly Solvent. Chemistry Methods. 2025.; 2500010. IF: 3,6

2. Varró N, Erdei E, Bogdán D, Kalydi E, Deme R, Balogh B, Szigyártó ICS, Beke-Somfai T, Varga Z, Mándity IM. Betaine-conjugated β-peptide foldamers, influence of quaternary change on self-organization and morphology formation. Chemistry Open. 2025.;0, e202500340. IF: 3,1