

5. sz. PROJEKT FENNTARTÁSI JELENTÉS

(2024.09.29. – 2025.09.28.)

A VEKOP-2.3.3-15-2017-00020 projekt célja egy nemzetközi elvárásoknak megfelelő műszeregyüttes beszerzése és elhelyezése: kromatográfiás és tömegspektrometriás platform (UHPLC-MS/MS), számítógép-vezérelt „félpreparatív” folyadékkromatográf (HPLC) és atomi erő mikroszkóp (Nanosurf Fluid-AFM).

A műszerek segítik a kutatásokat: a) növényi/illetve gomba eredetű metabolit „ujjlenyomatok” és ismeretlen vegyület azonosítását, b) új antibakteriális/tumorelleses hatóanyag-peptid konjugátumok előállítását, jellemzését, c) intelligens nanohordozók előállítását, sejtmembránra gyakorolt hatásának vizsgálatát. Az eredményeket az elmúlt évben 5 nemzetközi folyóiratcikkben és 9 előadásban közzétettük. A műszeregyüttes hatékonyan segítette az oktatást és a kutatási pályázatok megvalósítását.

1. Tudományos kutatási eredmények

a) Növényi/gomba eredetű metabolit-ujjlenyomat, vegyületek azonosítása

Növényi minták anyagcseretermékeinek vizsgálata során 1) *Anthriscus sylvestris*, *Anthriscus cerefolium* és *Chaerophyllum bulbosum* gyökér, levél és virágzat mintáinak vizsgálatainak befejezéseként (előző évi beszámolóban a vizsgálat kezdete) 5 dikaffeoil-malonil-kínasav származékot és egy új flavonoid-malonil-glükozidot azonosítottunk: szerkezetbizonyításuk kulcsfontosságú elemeként jellemezve a tömegspektrometriás fragmentációs folyamataikat. Az eredmények a ACS Omega (Q1) folyóiratban jelentek meg (doi: 10.1021/acsomega.5c03770). 2) *Anthriscus sylvestris* és *Anhriscus nitida* gyökeréből izolált lignánok és összetétel szempontjából jellemzett nyers kivonataik jelölésmentes technikákkal történő hatástani vizsgálatai új mechanizmusokat igazoltak a vegyületek antitumor hatásainak kifejtésében. Mint új lignán forrás, jellemeztük az *A. nitida* gyökér metabolit összetételét. Az izolált vegyületek és nyers kivonatok tömegspektrometriás vizsgálata egymástól el nem választható lignánok esetében is lehetővé tette a szerkezetazonosítást. Az eredmények a View (D1) folyóiratban jelentek meg (doi: 10.1002/VIW.20250061). 3) Gyógy- és fűszernövényként is használt *Nepetoideae* alcsaládba tartozó, magyarországi előfordulású növényfajok előző beszámoló időszakában elkezdett vizsgálatai folytatásaként egy további új rozmaringsav-származékot azonosítottunk (a múltkori beszámolóban leírton túl). Összesen 6 rokon rozmaringsav-származékot izoláltunk (és bizonyítottuk a szerkezetüket) kellő tisztaságban a tervezett hatástani vizsgálatokhoz.

In vitro gombatenyészetek metabolitjainak vizsgálata során 1) *Laburnicola* nemzetség egy fájának *in vitro* tenyészeiből 10 vegyületet izoláltunk. A tenyészetek kivonatainak és az izolált összetevők tömegspektrometriás vizsgálatai megtörténtek. A rendelkezésre álló adatok és a folyamatban lévő NMR vizsgálatok eredményei együttesen remélhetőleg több új vegyület szerkezetét fogják bizonyítani. 2) Különböző élőhelyekről származó 3 új leszármazási vonalak izolátumainak metabolit-profilozása megtörtént, a tenyészetek által termelt speciális vegyületek közül több új kémiai anyagnak ígérkezik, ezek azonosítása folyamatban van. Egy nemzetség esetén (*Periconia*) három faj összesen 38 izolátumának „untargeted” metabolit profilozását (3-as biológiai ismétlésben) végeztük el és az adatok megfelelő értékelésével sikerült kimutatni, hogy az egyik faj másodlagos anyagcseretermékeiben is szignifikánsan különbözik a fajtársaitól.

b) Új antimikrobiális/tumorelleses hatóanyag-peptid konjugátumok előállítása és jellemzése

A jelölésmentes módszerek közül az optikai bioszenzorokkal végzett meghatározások új lehetőségeket kínálnak gyógyszerjelöltek definiálásában. A módszer folyamatos, nagy érzékenységű párhuzamos méréseket tesz lehetővé, megkönnyítve a tumorelleses potenciállal rendelkező természetes vegyületek azonosítását, valamint ezzel egyidőben a hatásmechanizmus egyes aspektusainak (pl. szelektív hatást gyakorolnak a tumoros sejtekre, miközben az egészségeseket kímélik) detektálását. Munkánkban vizsgáltuk 11 izolált, tiszta természetes vegyület (négy különböző szerkezeti vázzal) és négy nyers kivonat (növényi és gomba eredetű) antiadhezív hatását optikai bioszenzorral és kombinált miniatürizált holomikroszkóppal tumoros (HeLa) és egészséges (preosteoblast) modellsejteken. Megállapítottuk, hogy egyes lignánok esetében a fibronectinek közötti kölcsönhatás volt a nem szelektív antiadhezív hatás kulcseleme. Ezzel szemben a neolignan balanophonin és az alkaloid vermelhotin szelektív adhéziónagátló hatása fibronectintől független HeLa sejteken (Péter, B. et al. View, (2025) 20250061).

Az együttműködésben zajló munka során egy természetben előforduló kationos antimikrobiális peptid (Buforin II) aktív centrumából egy tetrapeptidet származtattunk (L1) és ennek különböző hosszúságú telített zsírsavakkal módosított analógjaiból egy reprezentatív sorozatot állítottunk elő. A lipopeptidek vizsgálata azt mutatta, hogy a 16 szénatomos, palmitoilált lipopeptid (Pal-L1) jelentős antibakteriális hatást fejt ki a szenzitív és a multirezisztens *Staphylococcus aureus* törzs ellen. A lipopeptidek vizes közegben heterogén aggregátumokat alkotnak a mikrométeres tartományban és az aggregátumok toxicitást mutattak a humán sejtekre. Ciklodextrinek alkalmazásával vissza tudtuk szorítani az aggregációt és egyben növelni tudtuk a lipopeptid szelektivitását. A ciklodextrinek közül a random metilált α -ciklodextrin (RAMEA) és a szulfobutil-éter- β -ciklodextrin (SBECD) vendég-gazda komplexét vizsgáltuk a Pal-L1 lipopeptiddel és a szerkezetet vizsgáltuk ^1H -NMR és 2D NMR módszerekkel. Molekuláris dinamikai szimulációkkal leírtuk a szupramolekuláris komplexek méretét, szerkezetét, sztöchiometriáját és disszociációs állandóját (Bellini, C. et al. Aggregate (2025) 6(4), e741.).

Az oktaarginin internalizációs képességét kívántuk fokozni oly módon, hogy a peptidszekvenciába triptofán aminosavat építettünk be, valamint konjugáltuk policiklusos aromás PCA-csoporttal. Ezen szintetikus módosításoknak köszönhetően sikeresen növeltük a peptid hidrofób jellegét, ezzel fokozva a peptidek és a sejtfelszín közötti kölcsönhatás mértékét. Vizsgáltuk továbbá a peptidlánc hosszának ($n=4-8$), illetve a PCA csoport helyének (N- vagy C-terminális) szerepét az internalizációs paraméterek meghatározásával. Azt tapasztaltuk, hogy a leghatékonyabb konjugátum a Cf-Arg8-Lys(PCA) volt. A PCA beépítése önmagában nem képes növelni a legkisebb lánchosszúságú peptid (tetraarginin) internalizációját, azonban a Trp beépítése és a PCA-módosítás együttesen már javította a sejtekbe való bejutást. A PCA pozíciója nemcsak az internalizáció mértékére, hanem a bejutás mechanizmusára is hatással volt. Bizonyítottuk, hogy PCA-származékok a már korábban leírt, ugyancsak internalizációt fokozó Dabcyl-származékoktól eltérő internalizációs útvonalon keresztül jutnak be a sejtekbe. Ez a kémiai módosítás új eszköz a hatékony gyógyszerbeviteli rendszerek fejlesztéséhez (Bató, Cs. et al Int J Mol Sci, 2025, 26(5), 2202).

c) Intelligens nanoméretű hordozók előállítása, hatóanyag-konjugátumok sejtmembránra gyakorolt hatásának vizsgálata.

Együttműködés keretében előállított és kémiaiailag jellemzett amfifil, önszerveződő viselkedést mutató, multifunkciós hiperelágazásos poliglicidol polimereket vizsgáltunk. Az új HbPG-PTHF-HbPG ABA triblokk kopolimerek biológiai alkalmazhatóságát egy vízben oldhatatlan, hidrofób természetes vegyület, a kurkumin kapszulázásán keresztül vizsgáltuk. A kurkuminnal töltött micellák tárolás és liofilizálás során nagy stabilitást mutattak, és az U87 humán glioblastoma sejteken végzett kísérletek alapján a kurkuminnal töltött blokk-kopolimerek internalizációs aránya szignifikánsan magasabb volt, mint a szabad kurkuminé. Eredményeink alapján megállapítható, hogy az új HbPG-PTHF-HbPG ABA triblokk kopolimerek sorozata alkalmas hordozóként különböző vegyületek (gyógyszerek, festékek és teranostikus szerek) sejtbejutásának növelésére. Felhasználhatók továbbá felületaktív anyagként nanorészecskék és nanokompozitok előállításához. A vegyületek biokompatibilisek és irányító, célsejt specifikus peptidszármazékok kapcsolószer mentes konjugálásához szükséges funkciós csoportok kialakítására is (a blokk-kopolimereknek a HbPG szegmenseinek hidroxilcsoportjai tovább funkcionálizálhatók) alkalmasak mag/héj/korona szerkezetű nanorészecskék létrehozásához (Fecske D, et. al. Int J Mol Sci. (2025) 19, 5866.).

2. Folyamatban lévő kutatások

A projekt hivatalosan lezárásra került, azonban a benne feldolgozott témák tovább élnek a jövőbeni munkánkban. A megszerzett tudást és tapasztalatokat hasznosítani fogjuk az oktatásban és a kutatások során egyaránt. A projekt során beszerzett műszereket aktívan beépítjük az oktatási tevékenységekbe. Emellett ezek az eszközök kulcsszerepet kapnak az újonnan induló témák kidolgozásában is. Így a projekt hatása hosszú távon is érezhető marad.

3. Tudományos eredmények közzététele

Az eredményekről dedikált egyetemi honlap (<https://pak.elte.hu/vekop-2-3-3-15-2017-00020>) útján folyamatosan tájékoztatjuk a szakmai közvéleményt. A műszeregyüttes használata révén elért új tudományos eredményeinket 5 nemzetközi folyóiratcikkben közzeltük (<https://pak.elte.hu/content/publikaciok.t.17512>) és 9 előadás hazai/nemzetközi konferencián, tartott előadásban mutattuk be 2024 október és 2025 szeptember között (<https://pak.elte.hu/content/konferencia-megjelenesek.t.7294>). 2024/25 tanévben 1 BSc, valamint 1 PhD értekezés került benyújtásra és védésre (<https://pak.elte.hu/content/bsc-msc-diplomadolgozatok-es-phd-ertekezesek.t.7296>).

A honlapon (<https://pak.elte.hu/content/tamogatott-projektek-elbiralas-alatt-allo-palyazatok.t.18808>) megtalálható az elnyert kutatási pályázatok listája. A tudományos eredmények elfogadottságát jelzi:

a) a HUN-REN–ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport munkatársai által elnyert két EU Horizon 2020, Marie Skłodowska-Curie ITN programban való részvétel (célzott tumorterápia [(Mező G., Grant 861316 (2019-2023))], valamint vakcinák fejlesztés [(Horváti K., Grant 860325 (2019-2023))]; és a b) 2021-ben elnyert három nemzetközi (CELSA belga-magyar, NKFIH szlovén-magyar és osztrák-magyar) pályázat megvalósítása folytatódott, c) Bősze Sz. vezetésével elnyert NKFIH OTKA pályázat „A fertőzés helyének támadása: peptidszármazékok és peptiddel módosított nanohordozók hatóanyagok célbajuttatására és biohasznosíthatóságuk növelésére” (2022-2026), d) Szabó I. által elnyert MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíj „Immunterápiában alkalmazható melanoma antigén alapú vakcinák kifejlesztése” (2022-2025),

e) Horváti K. részvételével elnyert OTKA ANN pályázat (témavezető Mándity I.) „CRAC csatorna inhibitorok fejlesztése fénnel aktiválható peptidmimetikumokkal” (2021-2025), f) Schlosser G. részvételével elnyert FK OTKA pályázat (témavezető: Rokobné Révész Ágnes) és g) az együttműködés az ELTE TTK (Schlosser G.) és a Győr-Moson-Sopron Vármegyei Petz Aladár Oktató Kórház, Gyógyszerészeti Osztály (Erdélyi Lóránd József) részvételével; ugyancsak folytatódik, g) Horváti K. MTA Lendület kutatási programja „Peptidalapú vakcinák: új formulációs stratégiák” (2021-2026).

4. Oktatás, a nyilvánosság tájékoztatása

Az ELTE TTK Biológiai Intézetben és Kémiai Intézetben folyó képzés során BSc, MSc és PhD programok továbbra is használják a nagyfelbontású Orbitrap LC-MS és a bioerőmérő (AFM) készülékeket. Az ELTE anyagkutató, biológus, biotechnológia, vegyész MSc, a Semmelweis Egyetem gyógyszerész képzés, az ELTE biológiai és kémiai doktori (PhD) képzéseiben résztvevők megismerkedhettek az új vizsgálati módszerek által nyújtott lehetőségekkel. A 4 BSc/MSc/PhD gyakorlati kurzust a 2024/25-es tanév két félévében 57 (közülük 1 angol nyelven) hallgató vette fel (<https://pak.elte.hu/content/oktatasi-tevekenyseg.t.17607>, táblázat).

E műszerek folyamatosan segítik a külső partnerekkel való együttműködést, a mérési szolgáltatási és a fejlesztési tevékenységeket.

2025. szeptember 28.

Szerkesztette: Dr. Szabó Ildikó

Dr. Hudecz Ferenc
témavezető