

KATARZYNA GUZIK

Streszczenie pracy doktorskiej zatytułowanej:

„Design, synthesis and application of small-molecule probes that interact with tumorigenic proteins: Mdm2, programmed cell death protein 1 and programmed cell death ligand 1”

Tematyka badań przedstawionych w rozprawie dotyczy poszukiwania małowcząsteczkowych inhibitorów oddziaływań białek: MDM2-p53 oraz PD-1/PD-L1. Odnalezienie cząsteczek aktywnych względem tych oddziaływań białko-białko mogłyby stać się podstawą do opracowania nowoczesnych metod leczenia chorób nowotworowych.

Wykazano, że białko p53 ulega dezaktywacji w przypadku większości ludzkich nowotworów. Proces ten odbywa się poprzez mutację genu kodującego p53 lub nadekspresję białek MDM2/X, będących negatywnymi regulatorami funkcji tego białka. Potencjał terapeutyczny związany z ingerencją w oddziaływanie białek MDM2-p53 zaowocował opracowaniem kilku obiecujących antagonistów białka MDM2, znajdujących się obecnie w pierwszej fazie badań klinicznych.

Badania dotyczące poszukiwania małowcząsteczkowych inhibitorów białka MDM2 rozpoczęto od przeprowadzenia szeregu modyfikacji opisanego wcześniej, opartego na rdzeniu imidazolowym inhibitora (WK23, $K_i = 0.916 \mu\text{M}$, Popowicz et al. 2010). Otrzymana grupa związków została przetestowana z zastosowaniem polaryzacji fluorescencyjnej (FP) pod kątem powinowactwa do kieszeni wiążącej białka MDM2. Kilka z otrzymanych pochodnych wykazało bardzo wysoką aktywność inhibitorową względem białka (K_i w zakresie 4-15 nM). Otrzymane związki poddano także testom na liniach komórkowych, wykazując zdolność do aktywowania białka p53 oraz akumulacji białek MDM2 i p21. Zaobserwowano także wpływ testowanych pochodnych na zatrzymanie cyklu komórkowego w testach z udziałem linii komórkowych zawierających p53 typu dzikiego.

Tematyka doktoratu dotyczy także oddziaływania receptora programowanej śmierci PD-1 oraz jego liganda PD-L1, które jest obecnie bardzo ważnym celem w immunoterapii nowotworów. Wykazano, że modulacja oddziaływania białek PD-1/PD-L1 może prowadzić do normalizacji naturalnej odpowiedzi przeciwnowotworowej organizmu.

Obecnie trzy terapeutyczne przeciwciała monoklonalne blokujące oddziaływanie białka PD-1 lub jego liganda zostały zarejestrowane przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków, jako leki immunoterapeutyczne. Zaprojektowanie małowzrostekowych inhibitorów oddziaływania tych białek mogłoby być podstawą do opracowania nowoczesnych terapii przeciwnowotworowych.

Celem odnalezienia małowzrostekowych inhibitorów, które mogłyby oddziaływać z białkiem PD-1 lub jego ligandem (PD-L1), zaprojektowano i otrzymano szereg połączeń organicznych. Pierwsza część badań koncentrowała się na poszukiwaniu inhibitorów wykazujących aktywność względem białka PD-1. Zaprojektowane i otrzymane związki zostały zbadane z zastosowaniem spektroskopii NMR, nie wykazując powinowactwa do docelowego białka. W dalszej części badań zastosowano testy przesiewowe oparte na technice NMR (HTS, *high-throughput screening*), z udziałem komercyjnie dostępnej biblioteki (Helmholtz Zentrum München), liczącej 1500 małowzrostekowych fragmentów. Doprowadziło to do wyłonienia związków wykazujących powinowactwo do białka PD-1, które stanowią punkt wyjścia do projektowania innych aktywnych struktur.

Przeprowadzone badania związane były także z poszukiwaniem inhibitorów białka PD-L1. W ramach tej części badań zsyntezowano szereg związków opartych na rdzeniu bifenylowym, opatentowanych niedawno przez firmę Bristol-Myer-Squibb. Badania biochemiczne oraz strukturalne przeprowadzone na tej grupie związków pozwoliły na poznanie mechanizmu ich oddziaływania z docelowym białkiem. Wykazano także, że tworzeniu się kompleksu inhibitor-białko towarzyszy dimeryzacja białka PD-L1. W ramach badań otrzymano także grupę związków opartych na rdzeniu bifenylowym, z których kilka wykazało także powinowactwo względem PD-L1.

Wyniki uzyskane w trakcie realizacji badań, pozwoliły na wyselekcjonowanie nowych inhibitorów białka MDM2 cechujących się dużą aktywnością w testach *in vitro*. Rezultaty przeprowadzonych badań przyczyniły się także do poszerzenia obecnej wiedzy na temat mechanizmu oddziaływania małowzrostekowych inhibitorów z białkiem PD-L1. Dodatkowo, odkrycie fragmentów strukturalnych wykazujących aktywność względem białek PD-1 oraz PD-L1 może stanowić punkt wyjścia do projektowania innych aktywnych względem tych białek struktur.

Literatura:

Popowicz, G.M., Czarna, A., Wolf, S., Wang, K., Wang, W., Dömling, A. and Holak, T.A. (2010) Structures of low molecular weight inhibitors bound to MDMX and MDM2 reveal new approaches for p53-MDMX/MDM2 antagonists drug discovery. *Cell Cycle* 9, 1104-1111.