

**Streszczenie pracy doktorskiej mgr inż. Teresy Łepok pt.
„Projektowanie i synteza peptydowych inhibitorów PACE4 jako potencjalnych
związków przeciwnowotworowych”**

Celem pracy doktorskiej była synteza peptydowych inhibitorów PACE4, enzymu należącego do rodziny konwertaz probiałkowych (z ang. *Proprotein Convertases, PCs*), który jest odpowiedzialny za progresję i proliferację raka prostaty (z ang. *Prostate Cancer, PCa*). Grupa badawcza prowadzona przez profesora Roberta Day'a z Uniwersytetu w Sherbrooke (Kanada) zaprojektowała związek blokujący aktywność PACE4, co doprowadziło do otrzymania aktywnego i selektywnego inhibitora, znanego jako peptyd Multi-Leu (ML), o następującej sekwencji aminokwasowej: Ac-LLLLRVKR-NH₂. Profil farmakologiczny tego związku został znacząco poprawiony poprzez wstawienie mimetyka argininy (4-amidynobenzylaminy, Amba) oraz nienaturalnej reszty aminokwasowej (*D*-Leu), odpowiednio na jego C- oraz N-końcu. Efektem wymienionych modyfikacji jest związek C23 charakteryzujący się znacznym wzrostem stabilności w plazmie *ex vivo* wywołanym zahamowaniem aktywności egzoproteaz, a dokładnie amino- i karboksypeptydaz. Jednakże rdzeń peptydu jest nadal podatny na działanie endoproteaz, szczególnie wiązanie peptydowe pomiędzy resztami argininy i leucyny, w pozycjach P4 oraz P5 peptydu ML.

Głównym celem realizowanych badań było zwiększenie stabilności inhibitora PACE4 poprzez zastosowanie dwóch różnych podejść. Pierwszym było wprowadzenie mimetyków reszty Arg oraz Leu w rdzeniu peptydowym podatnym na degradację enzymatyczną. Drugim zaś, było zastosowanie różnych typów cyklizacji peptydu ML („głowa - ogon”, „głowa - łańcuch boczny” oraz poprzez wprowadzenie do cząsteczki mostka disulfidowego).

Peptydy syntezowane były na nośniku stałym z wykorzystaniem żywicy amidowej (analogi inhibitora ML, strategia Fmoc/tBu) oraz chloro 2-chlorotrytylowej (modyfikacje związku C23, strategia Fmoc/tBu połączona z syntezą w roztworze) manualnie oraz przy użyciu automatycznego syntezyatora. Po zdjęciu peptydów z nośnika były one oczyszczone (preparatywna HPLC) i zidentyfikowane (MS, analityczne HPLC). Wszystkie związki otrzymano z zadowalającą wydajnością oraz jednorodnością na poziomie co najmniej 98%.

Aktywność biologiczna uzyskanych peptydów została określona poprzez wyznaczenie stałych hamowania aktywności enzymatycznej (K_i) względem PACE4 i furyny oraz w testach antyproliferacyjnych (IC_{50}). Związki wykazujące najlepsze właściwości podczas wymienionych analiz zostały również poddane testom stabilności w plazmie wyizolowanej z myszy oraz ludzkim serum, a także dodatkowym badaniom kinetycznym względem konwertaz PC5/6 i PC7 w celu określenia ich selektywności w obrębie PCs.

Przeprowadzone badania pozwoliły określić relacje aktywność-struktura (z ang. *structure-activity relationship*, SAR) pomiędzy zaprojektowanymi potencjalnymi peptydowymi inhibitorami a enzymem PACE4 oraz furyną. Co więcej, zastosowane zabiegi umożliwiły wskazanie modyfikacji peptydu Multi-Leu i C23, które wpływają korzystnie na właściwości inhibitorowe względem PCs oraz antyproliferacyjnie w stosunku do linii komórkowych PCa, pozwalając w przyszłości na zaprojektowanie oraz opracowanie farmaceutyku o właściwościach przeciwnowotworowych.