



Rozprawa doktorska

Koniugaty metalokarboranów z insuliną - nowa strategia potęgowania skuteczności biologicznej leków peptydowych

mgr inż. Jakub Cebula

Promotor: dr hab. Tomasz Goszczyński

Promotor pomocniczy: dr inż. Krzysztof Fink

Laboratorium Chemii Biomedycznej
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirsfelda Polskiej
Akademii Nauk

Wrocław, 2025

Streszczenie

Wedle szacunków około pół miliarda osób cierpi z powodu cukrzycy, co czyni ją jedną z najbardziej rozpowszechnionych chorób na świecie i jednocześnie jedną z kluczowych przyczyn zgonów (8 miejsce na liście najbardziej śmiertelnych chorób). Do tej pory opracowana wiele leków hipoglikemizujących, ale dla znacznej liczby pacjentów, insulina stanowi jedyny lek, który pozwala na osiągnięcie akceptowalnego poziomu glukozy we krwi. Niestety, ze względu na swoją niekorzystną farmakokinetkę, stosowanie insuliny stwarza wiele problemów, dlatego opracowano analogi insuliny, czyli cząsteczki zbudowane na jej podstawie i działające do niej podobnie, ale posiadające zmieniony profil farmakokinetyczny. Badania nad analogami insuliny doprowadziły do powstania szybko- i długodziałających insulin, które pozwalają na zwiększenie kontroli nad poziomem glukozy a także na uproszczenie schematów jej podawania. Opracowywanie nowych insulin długodziałających jest szczególnie ważne, ponieważ są one często wykorzystane w najpowszechniej występującej cukrzycy typu 2. Spośród czterech długodziałających insulin dopuszczonych do obrotu, w trzech z nich dokonano modyfikacji cząsteczkami, które sprawiają, że otrzymane analogi charakteryzują się zwiększonym powinowactwem do albuminy. Strategię tę można rozszerzyć przez wykorzystanie nowych cząsteczek o wysokim powinowactwie do albuminy, takich jak metalokarborany.

Metalokarborany to abiotyczna, w pełni syntetyczna grupa związków koordynacyjnych, której typowy reprezentant zbudowany jest z kationu metalu koordynowanego przez dwa ligandy karboranowe. Zainteresowanie tymi związkami wynika z odkrycia ich interesujących właściwości fizykochemicznych takich jak: zdolność do agregacji czy silne wiązanie do albuminy. Wymienione właściwości są kluczowymi cechami jakimi powinny charakteryzować się związki, które wykorzystuje się w badaniach mających na celu opracowanie nowych, długodziałających analogów insuliny; stąd głównym celem tej rozprawy doktorskiej jest synteza koniugatów insulina-metalokarboran (INS-MC) i zbadanie ich właściwości biologicznych i fizykochemicznych.

Ze względu na złożoność, badania przeprowadzone w ramach niniejszej interdyscyplinarnej rozprawy, zostały rozłożone na kilka etapów. Prace rozpoczęto od przygotowania dogłębnych badań literaturowych mających na celu określić, jakich właściwości mogą cechować się koniugaty metalokarboranów z biomolekułami takimi jak insulina. Ich efektem jest publikacja przeglądowa, będąca częścią niniejszej rozprawy. Za cel następnego etapu obrano przetestowanie dróg syntetycznych pozwalających na otrzymanie nowych pochodnych metalokarboranów, które można wykorzystać do modyfikacji insuliny. W tym celu zsyntezowano zestaw związków i zbadano zależność ich struktury od aktywności biologicznej, rozumianej jako zdolności do hamowania proliferacji. W ramach tej części badań wyłoniono motywy strukturalne, cechowały się biokompatybilnością i wykorzystano je do syntezy

metalokarboranów, których następnie użyto w reakcjach koniugacji z insuliną. W ostatnim etapie syntetycznym opracowano metodę otrzymywania koniugatów INS-MC, w których miejscem modyfikacji jest grupa ϵ -aminowa lizyny łańcucha B. Synteza takiego koniugatu została przeprowadzona z insuliny, w której najpierw zablokowano grupy na N-końcowych aminach, następnie przeprowadzono reakcje koniugacji, deprotekcji i oczyszczono finalny koniugat. Otrzymane w ten sposób koniugaty zostały scharakteryzowane za pomocą spektroskopii dichroizmu kołowego, chromatografii cieczowej oraz spektrometrii mas. Następnie, koniugaty poddano badaniom, w których zweryfikowano ich zdolność do wiązania się z albuminą za pomocą techniki powierzchniowego rezonansu plazmonowego oraz wygaszania fluorescencji albuminy. Badania zwieńczono testami biologicznymi, w których zbadano właściwości antyproliferacyjne koniugatów oraz ich zdolność do zwiększania wychwyty glukozy przez komórki.

W przebiegu badań zrealizowanych w ramach doktoratu zaprojektowano i zsyntezowano pochodne metalokarboranów, które posłużyły do syntezy koniugatów INS-MC. Opracowana metoda pozwoliła na uzyskanie 3 koniugatów, o wysokiej czystości. Otrzymane koniugaty charakteryzowały się wysokim powinowactwem do albuminy – było ono dziesięciokrotnie silniejsze niż w przypadku komercyjnie dostępnych insulin detemir i degludec. Przeprowadzone badania biologiczne wskazały, że koniugaty charakteryzowały się podobną funkcjonalnością co natywna insulina. Z przeprowadzonych badań wynika, że koniugaty INS-MC mają potencjał aplikacyjny, którego owocem mogą być insuliny bazowe nowej generacji. Dodatkowym efektem doktoratu jest także grupa związków o potencjalnie antybakteryjnym, która została zidentyfikowana w czasie wstępnych badań, co pokazuje, że horyzonty potencjalnych zastosowań metalokarboranów w biologii i naukach pokrewnych jest bardzo szerokie.