

**Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda
Polskiej Akademii Nauk**



Krzysztof Fink

**Właściwości chemiczne i biologiczne
koniugatów i kompleksów klasterów boru z
makrocząsteczkami**

Promotor: prof. dr hab. inż. Janusz Boratyński

Promotor pomocniczy: dr Tomasz Goszczyński

Praca doktorska wykonana w Laboratorium Chemii Biomedycznej

Wrocław 2018

STRESZCZENIE

Przedstawiona praca doktorska łączy wyniki badań dwóch obszarów: (1) oddziaływań klasterów boru i ich pochodnych z albuminą surowicy oraz (2) właściwości fizykochemicznych i biologicznych koniugatów peptydu tymozyna $\beta 4$ z klasterami boru.

Badania podjęte w pierwszej części pracy doktorskiej motywowane były rosnącym zainteresowaniem klasterami boru w chemii medycznej, gdzie wykorzystuje się ich unikalne właściwości przy projektowaniu nowych leków. Związki zawierające klastery boru mogą pełnić rolę inhibitorów enzymów bądź agonistów lub antagonistów receptorów. Wykazują także aktywność przeciwwirusową i przeciwbakteryjną. Ponadto klastery boru wykorzystywane są przy tworzeniu nośników boru w przeciwnowotworowej terapii borowo-neutronowej BNCT. Z tych względów podjęliśmy się określenia powinowactwa klasterów boru i ich pochodnych z albuminą surowicy, dominującym białkiem we krwi. Przeprowadzone badania wykazały, że większość klasterów boru posiada znaczące powinowactwo do albuminy surowicy. Największym powinowactwem charakteryzowały się metalokarborany, szczególnie COSAN, CoD, a najmniejszym dodekaboran $B_{12}H_{12}$.

W drugiej części badań postanowiliśmy wykorzystać metalokarboran CoD do stworzenia analogów peptydu o wysokim powinowactwie do albuminy. Aktywność biologiczna peptydów czyni je atrakcyjnymi kandydatami na substancje terapeutyczne. Jednakże, peptydy mają krótki czas półtrwania w krwioobiegach co obniża ich skuteczność. Zdolność do tworzenia kompleksów z albuminą może wydłużyć czas półtrwania i wzmocnić efekt terapeutyczny. Badania w tym obszarze objęły syntezę, oczyszczanie i rozdział koniugatów tymozyny $\beta 4$ z metalokarboranem (T $\beta 4$ -CoD) lub dodekaboranem (T $\beta 4$ - $B_{12}H_{12}$). Następnie określono miejsca modyfikacji w sekwencji aminokwasowej peptydu, stabilność koniugatów, ich powinowactwo do albuminy oraz aktywność biologiczną. Otrzymano koniugaty z przyłączonym klasterem boru do grup bocznych kwaśnych aminokwasów (Asp lub Glu) poprzez wiązanie estrowe. Stabilność tego wiązania zależy od aminokwasu, który uległ modyfikacji oraz od pH środowiska. Koniugaty T $\beta 4$ -CoD posiadają silne powinowactwo do albuminy, natomiast koniugaty T $\beta 4$ - $B_{12}H_{12}$ nie wykazują oddziaływań z tym białkiem. Badania żywotności szczurzych kardiomiocytów H9C2 inkubowanych w warunkach normoksji i hipoksji w obecności koniugatów wykazały, że koniugaty nie są toksyczne dla tych komórek, a koniugaty T $\beta 4$ -CoD zachowują aktywność niemodyfikowanego peptydu.