

Streszczenie pracy doktorskiej

Celem pracy doktorskiej było otrzymanie aktywnych inhibitorów furyny, enzymu z rodziny konwertaz probiałkowych (PCs, ang. Proprotein Convertases). Enzym ten, wraz z pozostałymi PCs dokonuje proteolitycznej aktywacji prekursorów białkowych niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania komórek. Liczne doniesienia naukowe wykazały jednak, że przekształcają one również pro-toksyny wytwarzane przez patogeny wirusowe i bakteryjne. Wykazano, że PCs odgrywają istotną rolę w rozwoju różnorodnych chorób, takich jak infekcje, zapalenia czy choroby nowotworowe. W związku z tym hamowanie ich niepożądanego aktywności wydaje się być sposobem na poszukiwanie nowych strategii terapeutycznych. Jednakże, podstawową przeszkodą w opracowaniu skutecznych inhibitorów jest trudność w zaprojektowaniu selektywnych i specyficznych związków silnie hamujących nieprawidłową aktywność wybranego enzymu. Wynika to z wysokiej homologii konwertaz w obrębie ich struktury i sposobie fałdowania, a także zgodność sekwencji domeny katalitycznej na poziomie 57-70%.

Głównym celem realizowanych badań było otrzymanie aktywnych inhibitorów furyny poprzez modyfikacje związku modelowego $Ac-RARRRKKRT-NH_2$, zaprojektowanego w oparciu o strukturę niedojrzałej hemaglutyniny wirusa ptasiej grypy H5N1. Zaproponowane zabiegi polegały na wprowadzaniu zmian w pozycjach P5-P8 (wprowadzanie w te pozycje wszystkich kodowanych (z wyłączeniem cysteiny) i wybranych niekodowanych reszt aminokwasowych).

Peptydy syntezowane były na nośniku stałym z wykorzystaniem żywicy amidowej (SPPS, strategia Fmoc/tBu) przy użyciu automatycznego syntezyzatora. Po zakończeniu syntezy i zdjęciu z nośnika, peptydy były oczyszczone (preparatywna HPLC) i zidentyfikowane (MS, analityczne HPLC). Związki po zatwierdzeniu jednorodności na poziomie 98% były przekazywane do współpracującej grupy badawczej (Zakład Farmakologii, Wydział Medycyny, Uniwersytet w Sherbrooke) w celu określenia ich aktywności względem furyny. W oparciu o oznaczenia spektrofotometryczne wyznaczone zostały ich stałe inhibicji względem furyny.

Realizacja badań umożliwiła zrozumienie aktywności furyny i zmian jej powinowactwa wobec związków modyfikowanych w pozycjach P5-P8 resztami aminokwasowymi o różnym charakterze chemicznym. Wyniki ukazały jaki rodzaj modyfikacji wpływa na zwiększenie aktywności inhibitorowej analogów, a także które z badanych pozycji odgrywają znaczącą rolę w oddziaływaniu z enzymem.