

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Synteza analogów teta-defensyn oraz ocena właściwości antimikrobiotycznych i cytotoksycznych zsyntetyzowanych związków wobec wybranych szczepów bakteryjnych i linii komórkowych

mgr Paulina Strzelecka

θ -defensyny to peptydy, których obecność potwierdzono w neutrofilach małej Starego Świata takich jak makaki i pawiany. Należą do grupy peptydów o znaczeniu immunologicznym jako przedstawiciele rodziny defensyn. Peptydy o właściwościach immunologicznych wywołują efekt cytotoksyczny w komórkach zmienionych nowotworowo podczas gdy są stosunkowo nietoksyczne dla zdrowych komórek. θ -defensyny są jedynym znanym przykładem cyklicznych polipeptydów występujących w proteomie zwierząt. Ich cechą charakterystyczną jest obecność sześciu reszt cysteiny, które tworzą trzy mostki disulfidowe w aranżacji Cys1-Cys6, Cys2-Cys5 oraz Cys3-Cys4. Badania wykazały, że θ -defensyny posiadają silne właściwości przeciwbakteryjne, przeciwgrzybowe oraz przeciwwirusowe, jednakże ich aktywność w stosunku do komórek nowotworowych nie została jeszcze zbadana. Cykliczny szkielet θ -defensyn jest dodatkowo stabilizowany przez obecność trzech mostków disulfidowych. Stabilność w połączeniu z silnymi właściwościami biologicznymi sprawia, że θ -defensyny są interesującą strukturą wiodącą dla syntezy nowych leków. Jednakże synteza peptydów zawierających dużą ilość mostków disulfidowych jest trudna i kosztowna. Dlatego stworzenie analogów θ -defensyn o podobnych właściwościach biologicznych do natywnych peptydów lecz o uproszczonej strukturze jest ważne z naukowego punktu widzenia. Badania realizowane w ramach niniejszej pracy doktorskiej obejmują syntezę RTD-1, RTD-2, RTD-3 i ich uproszczonych analogów oraz badania biologiczne zsyntezowanych związków w celu określenia ich potencjału przeciwbakteryjnego oraz przeciwnowotworowego mając na względzie przyszłe zastosowanie w medycynie.

Do głównych celów badań przeprowadzonych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej należało:

1. manualna synteza θ -defensyn i ich analogów na fazie stałej z wykorzystaniem strategii Fmoc/tBu;
2. analiza właściwości antybakteryjnych zsyntezowanych związków w stosunku do bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych;
3. określenie właściwości cytotoksycznych zsyntezowanych związków w stosunku do komórek nienowotworowych oraz komórek linii raka piersi.

Etapy syntezy polegały na wydłużaniu łańcucha peptydowego na stałym podłożu, jego odszczepieniu z żywicy, utworzeniu mostków disulfidowych oraz cyklizacji głowa-ogon. Obecność cyklicznych, w pełni utlenionych związków została potwierdzona za pomocą analiz RP-HPLC i MALDI-TOF MS. W celu zweryfikowania właściwości antybakteryjnych zsyntezowanych peptydów w stosunku do bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych przeprowadzono testy zawiesinowe na szczepach bakterii *S. aureus* i *E. coli*. Zbadano aktywność hemolityczną otrzymanych związków na ludzkich erytrocytach. Cytotoksyczność w stosunku do jednojądrzastych komórek krwi obwodowej, komórek epitelialnych gruczołu piersiowego (HB2) oraz komórek linii raka piersi (SKBR3, MDA-MB-231) została określona za pomocą zmodyfikowanego testu MTT. Dodatkowo efekt jaki wywierają związki na komórki nowotworowe został sprawdzony także w hodowlach 3D, które lepiej odzwierciedlają środowisko guza.

Badania przeprowadzone w ramach projektu doktorskiego wykazały, że wymiana reszt cysteiny na reszty alaniny przyczynia się do braku aktywności biologicznej. Natomiast analogi zawierające reszty seryny nie wywołują efektu hemolitycznego w ludzkich erytrocytach i nie wykazują cytotoksyczności w stosunku do jednojądrzastych komórek krwi obwodowej. Są jednak cytotoksyczne w stosunku do komórek linii nowotworowych raka piersi. Odkrycie to może prowadzić do powstania nowych leków opartych na strukturze θ -defensyn o potencjalnym zastosowaniu w terapii przeciwnowotworowej.