

# Céltzott tumorterápiára alkalmas irányító peptidok optimalizálása

Fitos Martin<sup>1</sup>, Bozsik Vilmos<sup>2</sup>, Trencsánszky Zsófia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Teleki Blanka Gimnázium

<sup>2</sup>Szent István Gimnázium

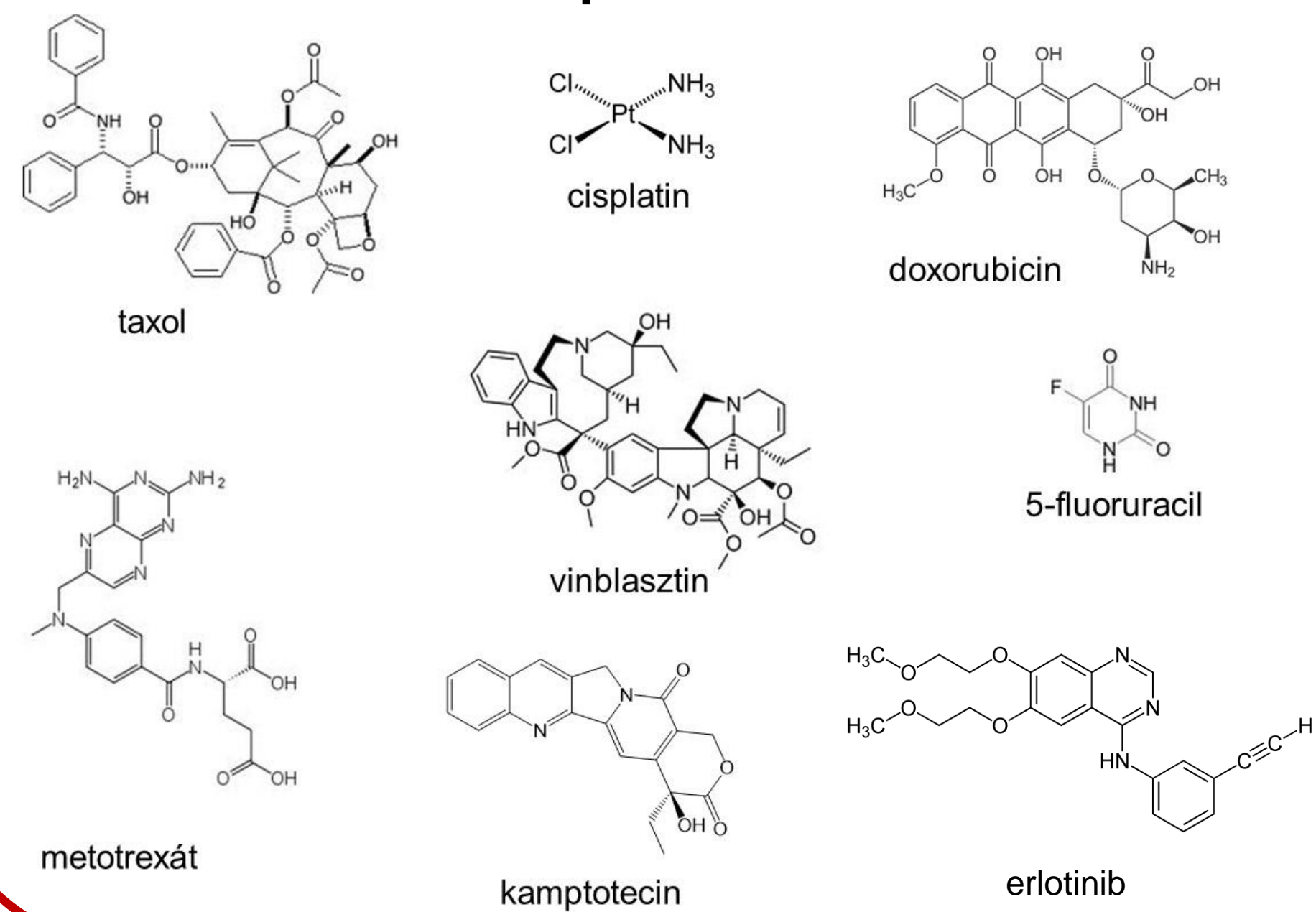
<sup>3</sup>Baár-Madas Református Gimnázium

(Témavezető: Dr. Mező Gábor)



A rákos megbetegedések okozzák a második legnagyobb halálozási esetszámot a szív és érrendszeri megbetegedések után (Magyarországon évi 32-33000 fő). A sebészeti beavatkozás és sugárterápia mellett a kemoterápia a leggyakrabban alkalmazott gyógyítási eljárás.

## Kemoterápiás szerek



## A kemoterápiás szerek mellékhatásai

### Kemoterápiás szerek:

- a gyorsan osztódó sejtekre hatnak (tumorsejtek)
- de hatnak a normális körülmények között gyorsan osztódó sejtekre is és károsítják azokat

pl. csontvelő (vérképző szerv) sejtszervi, emésztőszervek hajhagymákat tartalmazó tüsző

### A kemoterápia legáltalánosabb mellékhatásai:

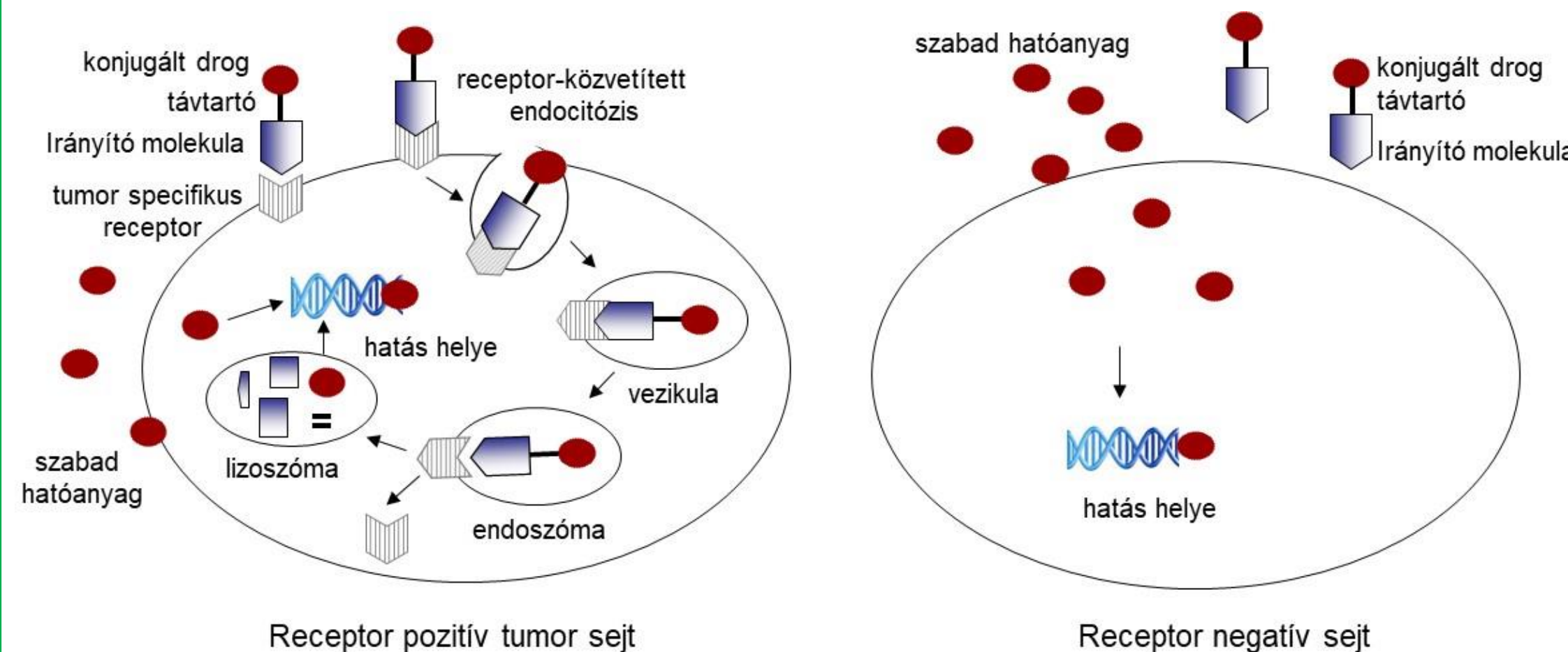
- mieloszuppresszió (vérsejtek képződésének csökkenése)
- immunszuppresszió (érzékenység fertőző betegségekre)
- mukozitízis (bél és emésztő rendszer gyulladása, hányás)
- alopecia (foltos hajhullás)



Egyedi toxikus hatások: kardiotoxicitás, veseelégtelenség, ödémásodás, májfunkció zavarai, teratogén (magzatkárosító) hatás

## Koncepció

Ha a hatóanyagot olyan irányító molekulához kapcsoljuk, amely szelektíven felismeri a tumorsejtekre jellemző receptorokat, akkor az egészséges sejtek, amelyekbe a szabad hatóanyag bejuthat, megkímélhetők a toxikus mellékhatásoktól.



### Előnyök:

- szelektivitás növelése (pl. receptor-közvetített endocitózis)
- retard hatás és csökkent toxicitás
- (lassú hatóanyag felszabadulás)

### Irányító molekulák:

- cukrok
- lektinek
- ellenanyagok
- receptor ligandumok (pl. peptidok)

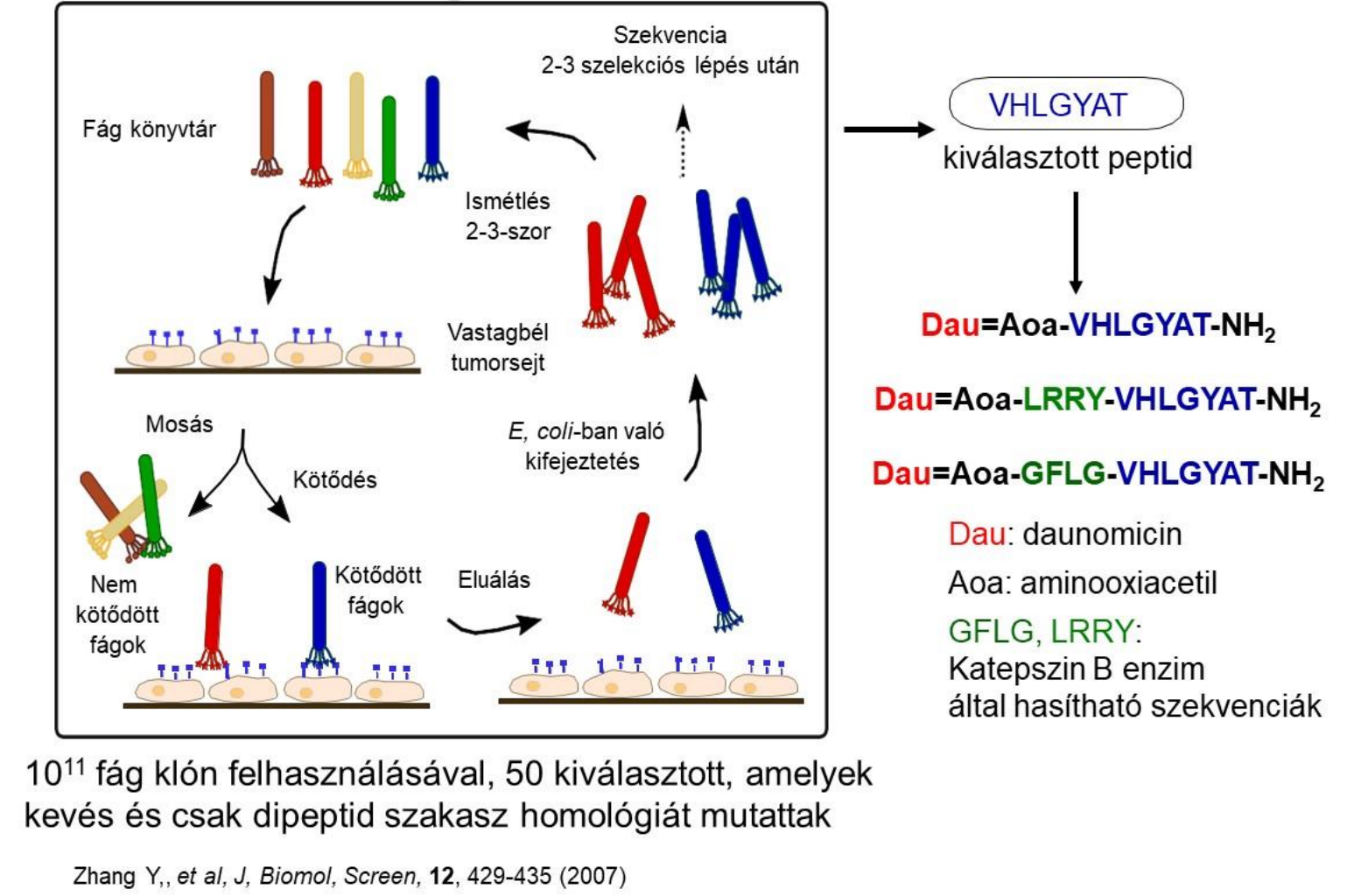
## Előzmények

- Fág-bemutató eljárással kiválasztott, HT-29 humán vastagbél tumorra specifikus irányító peptidből daunomicint tartalmazó konjugátumok előállítása;
- Az irányító peptid aminosav összetételének optimalizálása;
- A leghatékonyabb konjugátum *in vitro* és *in vivo* a Dau=Aoa-VHLYFYAT-NH<sub>2</sub> volt;
- Ennek segítségével affinitás kromatográfia, tömegspektrometria és fehérje adatbázisok segítségével a target receptor (Hsp70) meghatározása;
- Egyéb Hsp70 fehérjét felismerő peptid irodalmi felkutatása és szekvencia azonosítók keresése.

Irodalmi forrás: Fourie AM, et al. *J Biol Chem* 269: 3470-3478 (1994)

Hsp70 tumorsejtek felszínén is megjelenő fehérje  
Hsp70 fehérjét felismerő peptidok:  
VHLTPVEK (Hsb; Hemoglobin B lánc); ASHGLAR (A6R)  
Eredeti fág-könyvtárból kiválasztott peptid: VHLYGYAT

### Vastagbél tumorsejthez (HT-29) kötődő peptidok kiválasztása fág-bemutató technikával

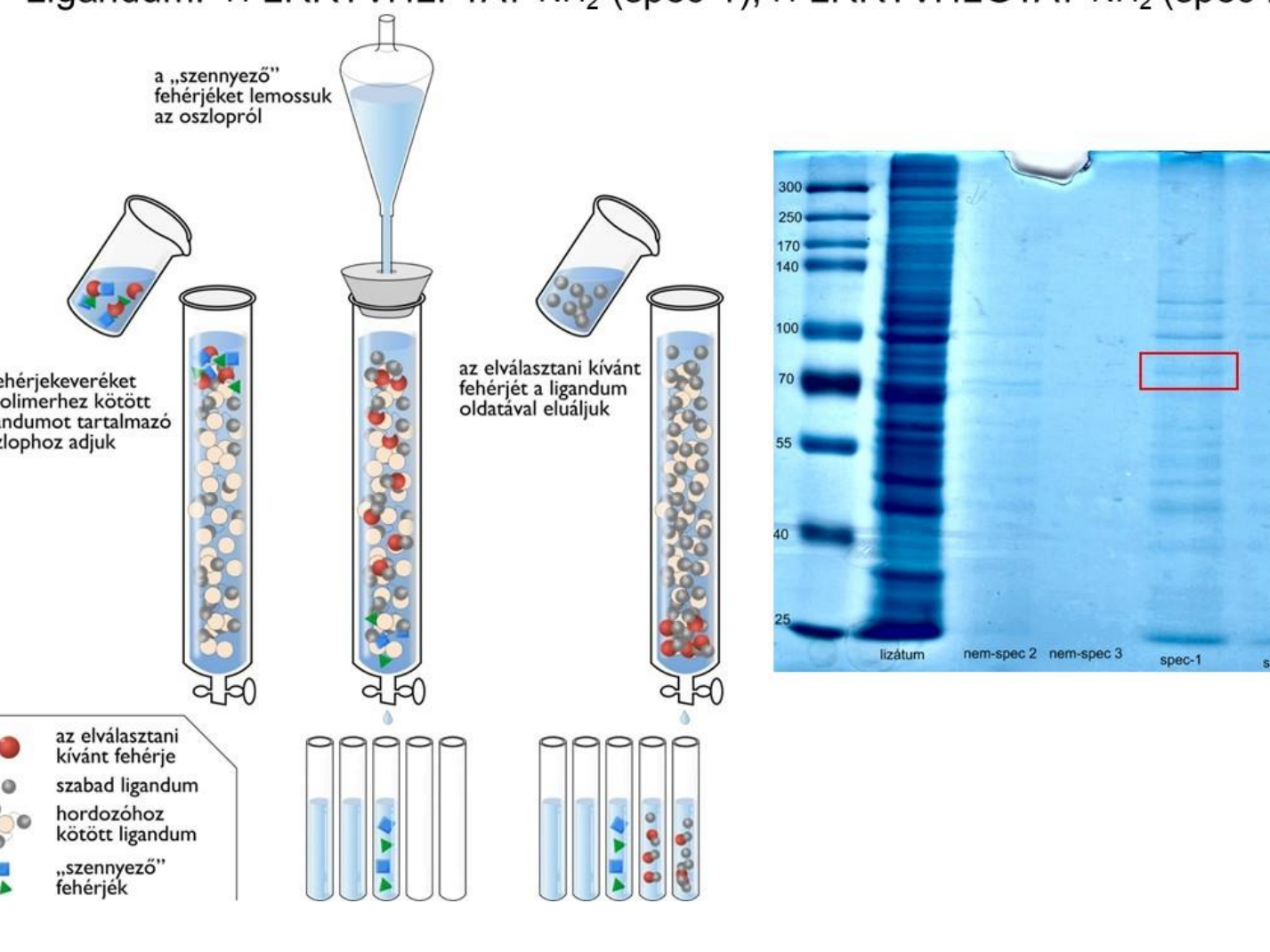


### Hatékonyabb konjugátum kiválasztása Ala-szkenen majd pozíciós szkennelés segítségével

Peptide	IC <sub>50</sub> értékek
VHLYGYAT	50,5 ± 5,5
AHLGYAT	>100
VHLYGYAT	26,8 ± 0,4
VHLYGYAT	>100
Dau=Aoa-LRRY-VHLYGYAT-NH <sub>2</sub>	14,0 ± 1,5
VHLYGYAT	>100
VHLYGYAT	60,9 ± 3,1
VHLYGYAT	27,9 ± 6,4
VHLYGYAT	50,3 ± 3,0
VHLYGYAT	29,5 ± 6,2
Dau=Aoa-LRRY-VHLYGYAT-NH <sub>2</sub>	7,5 ± 3,5
VHLYGYAT	6,6 ± 2,9
VHLYGYAT	24,8 ± 7,4
VHLYGYAT	21,7 ± 6,5
VHLYGYAT	28,0 ± 19,4
VHLYGYAT	>50

### Affinitás kromatográfia receptor meghatározáshoz

Ligandum: H-LRRYVHLYFYAT-NH<sub>2</sub> (spec-1), H-LRRYVHLYGYAT-NH<sub>2</sub> (spec-2)

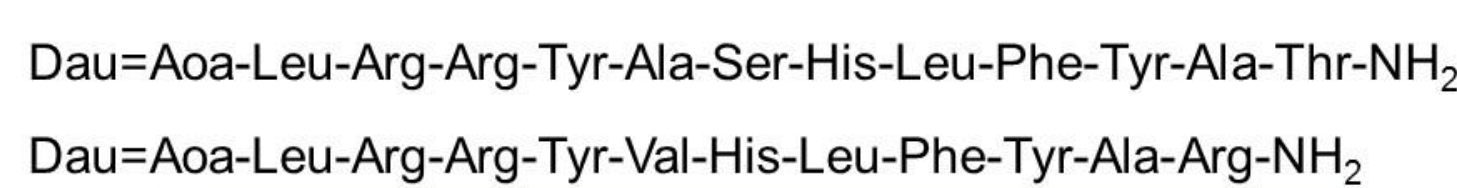


A három szekvencia alapján új irányító peptid tervezése még hatékonyabb peptid-hatóanyag konjugátumok előállítására érdekében.

Kiss K, et al. *Eur J Med Chem* 176: 105-116 (2019)

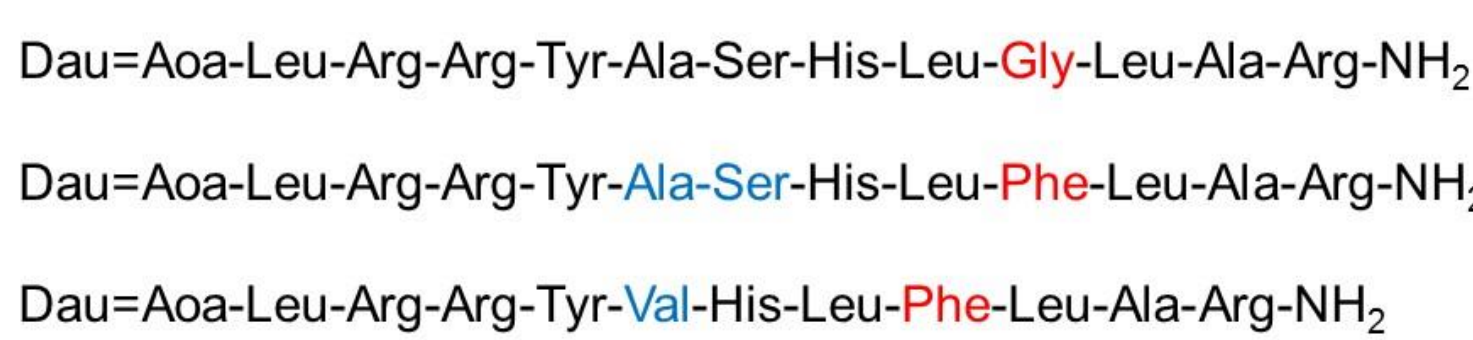
## Tervezett peptid-daunomicin konjugátumok és szintézisutak

### Martin peptidjei



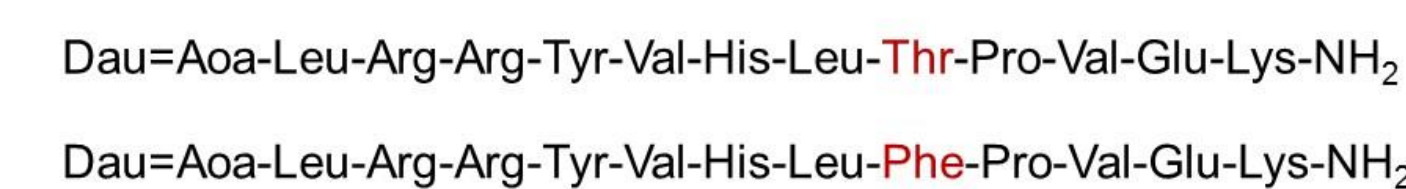
szintézis iránya

### Vilmos peptidjei

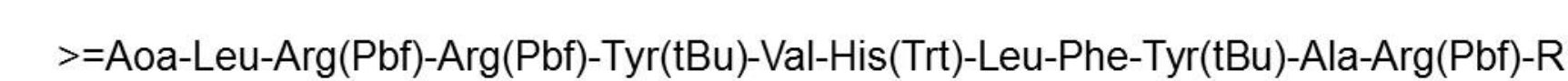


szintézis iránya

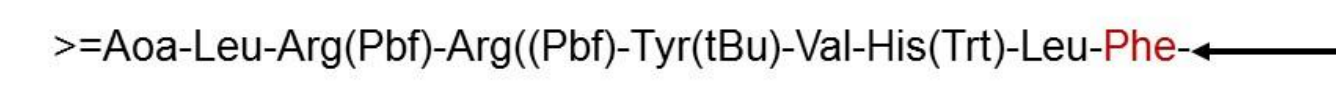
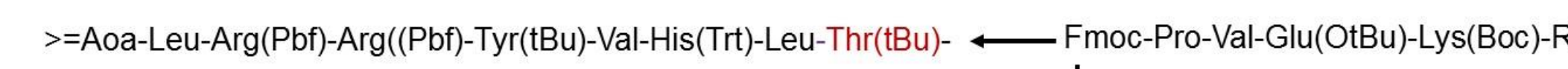
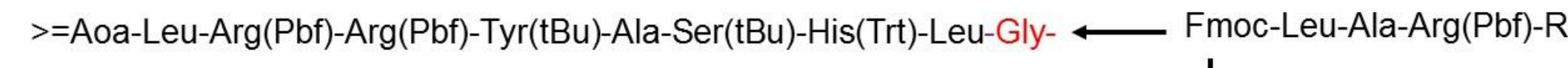
### Zsófi peptidjei



szintézis iránya



Fmoc = 9-fluorenilmetil-csoport  
Dau = daunomicin (hatóanyag)  
Aoa = aminoxiacetil-csoport  
>= = izopropilidén-csoport  
R = Rink-Amid MBHA gyanta



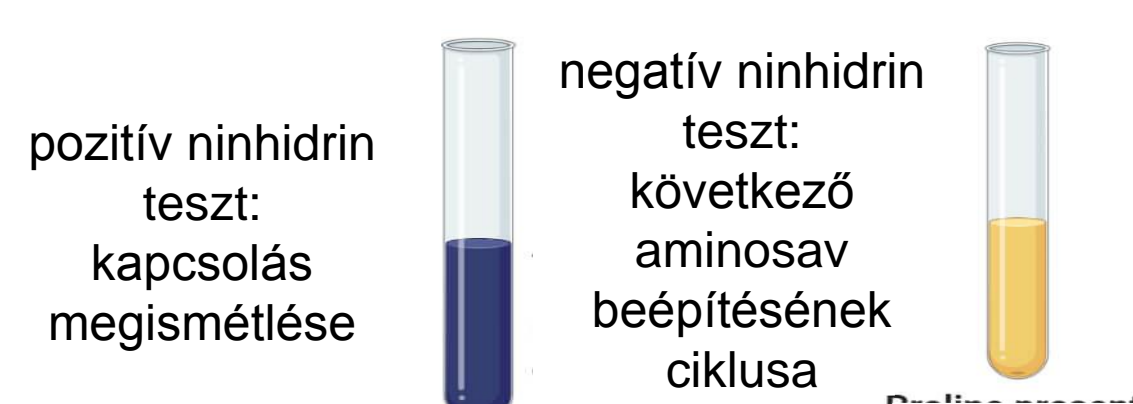
## Kísérleti munka



szilárdfázisú peptidszintézis



kapcsolás sikerességének ellenőrzése: ninhidrin teszt



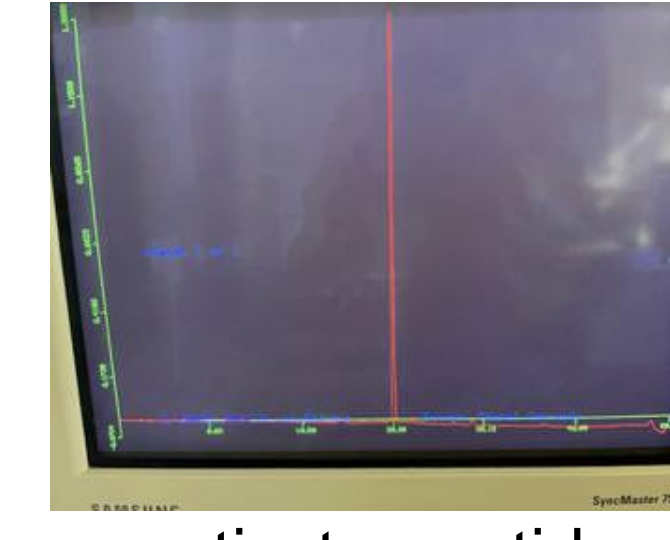
peptidhasítása a gyantáról



a nyers peptid izolálása



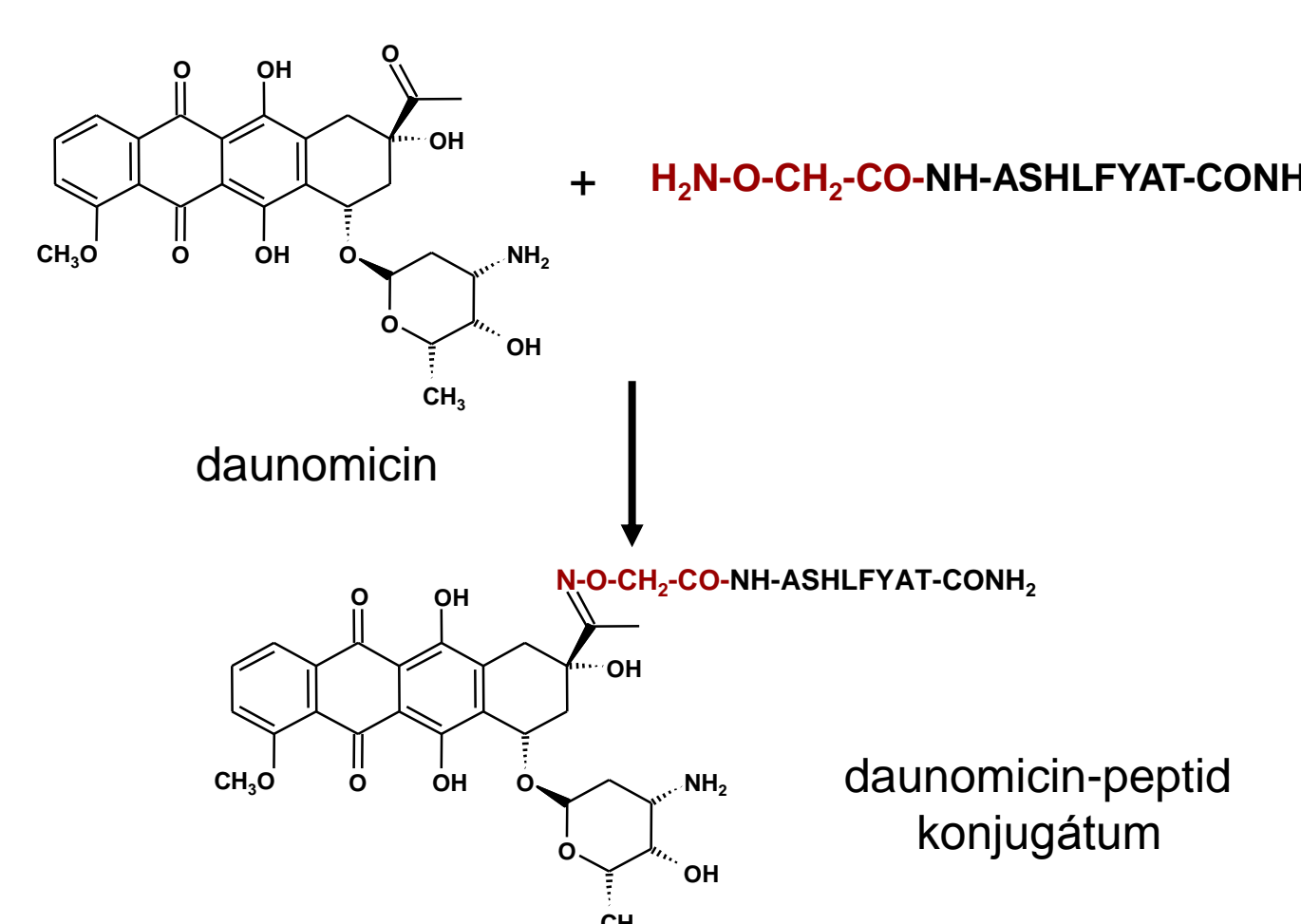
a peptid tisztítása HPLC-vel



a tiszta peptid analitikai HPLC kromatogramja



daunomicin konjugálása az irányító peptidhez



a daunomicin-peptid konjugátum izolálása liofilizálással



a daunomicin-peptid konjugátum (végtermék)