

## Streszczenie rozprawy doktorskiej

„Zastosowanie technologii chemii mikrofalowej i przepływowej w opracowywaniu innowacyjnego małowcząsteczkowego inhibitora o wysokiej aktywności antynowotworowej przeciwko ostrej białaczce limfoblastycznej (ALL).”

Głównym celem niniejszej pracy doktorskiej było zaprojektowanie i zsyntetyzowanie odpowiedniej biblioteki związków chemicznych oraz wybranie spośród nich potencjalnego małowcząsteczkowego inhibitora kinazy Mer hamującego rozwój ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL). Celem dodatkowym było także zastosowanie nowych technologii, jak syntezytor mikrofalowy oraz reaktor przepływowy do syntezy wspomnianej klasy cząsteczek.

Ogólnie pojęta białaczka to choroba układu krwiotwórczego polegająca na niekontrolowanym namnażaniu się komórek obecnych w szpiku kostnym i węzłach chłonnych, które w rezultacie stają się komórkami nowotworowymi. Jednym z rodzajów tego nowotworu jest ostra białaczka limfoblastyczna (ALL), która jest najczęstszym rodzajem raka występującym u dzieci w wieku od 2. do 5. lat. Polega ona na nowotworowych zmianach komórek limfoidalnych, co prowadzi do kumulacji niedojrzałych limfoblastów B i T w szpiku kostnym oraz krwi i wyparcia zdrowych komórek. Leczenie osób, głównie dzieci, cierpiących na ten rodzaj nowotworu polega najczęściej na podaniu chemioterapii, czyli zastosowaniu takich związków chemicznych, które wykazują działanie niszczące w stosunku do komórek nowotworowych. Ostateczną formą terapii jest przeszczep allogeniczny. Jest to rodzaj transplantacji, w której dawca jest osobą spokrewnioną z biorcą lub nie. Ostra białaczka limfoblastyczna ALL ściśle powiązana jest z receptorowymi kinazami tyrozynowymi, a mianowicie z nieprawidłową ekspresją kinazy Mer. Kinaza ta należy do rodziny TAM receptorowych kinaz tyrozynowych, w skład której wchodzi dodatkowo kinazy Tyro-3 oraz Axl. Są to enzymy odpowiedzialne za reakcję fosforylacji białka, a skutkiem ich nieprawidłowej ekspresji jest patogeneza ludzkich nowotworów. Ze względu na to, że kinazy te są bardzo aktywne w komórkach nowotworowych stały się intrygującym tematem dla grup badawczych poszukujących nowe leki onkologiczne. Istniejące obecnie małowcząsteczkowe inhibitory charakteryzują się wielospecyficznością wobec kinaz rodziny TAM, co związane jest z niską selektywnością i znaczną toksycznością. Wobec tego cały czas poszukiwane są takie cząsteczki, które posiadają wysoką aktywność antynowotworową przeciwko ostrej białaczce limfoblastycznej, zdolność do selektywnego hamowania receptora MerTK, a także nie wykazują toksycznych skutków ubocznych. Po wstępnej analizie ogólnodostępnej literatury, wybraniu związku referencyjnego (MRX2843) oraz zastosowaniu bioinformatycznych metod *in silico*, z uwzględnieniem właściwości

cząsteczek, zaprojektowano bibliotekę nowych struktur. Następnym krokiem było dokowanie tych związków do kryształu kinazy MERTK w celu wizualizacji każdej struktury w kieszeni aktywnej receptora. Na tej podstawie stworzono odpowiednie modyfikacje w miejscach grup funkcyjnych i zbadano pod kątem zależności między strukturą a aktywnością biologiczną związków (SAR). Dzięki temu otrzymano bibliotekę złożoną ze 120 cząsteczek, będących pochodnymi pirolopirymidyny oraz pirymidyny. Syntezę chemiczną wykonano w Laboratorium Działu Chemii Medycznej, natomiast badania ADMET w Laboratorium Analiz Fizykochemicznych oraz Dziale Badań Przedklinicznych firmy Celon Pharma S.A. Otrzymane związki w pierwszej kolejności zostały przebadane na kinazie Mer w celu określenia ich aktywności, a także pod względem rozpuszczalności w środowisku kwaśnym i obojętnym oraz stabilności na mikrosomach. Spośród całej biblioteki wybrano trzy cząsteczki, których wyniki powyższych testów były najbardziej zbliżone do związku referencyjnego, po czym wykonano optymalizację oraz skalowanie procesu syntezy w celu otrzymania gramowych ilości każdej cząsteczki. Dla tak przygotowanych związków przeprowadzono dalsze badania fizykochemiczne, stabilnościowe, a także testy na komórkach i zwierzętach w celu wyłonienia najlepszego związku wiodącego (proces „*hit to lead*”). Kolejne etapy, czyli badania toksykologiczne, a następnie kliniczne są w trakcie realizacji. Jednocześnie, w trakcie trwania badań przeprowadzona została optymalizacja wszystkich etapów syntezy, która prowadziła do otrzymania związku referencyjnego MRX2843. Do tego celu wykorzystano syntezytor mikrofalowy Discover 2.0 oraz reaktor przepływowy E-series Vapourtec Easy MedChem. Obydwie te technologie pozwoliły na znaczne skrócenie czasu trwania pojedynczych etapów jak i całej syntezy, co wiąże się z intensyfikacją procesów, jak również mają pozytywny wpływ na ocenę ekologiczną oraz ekonomiczną.