

Streszczenie pracy doktorskiej

„Zastosowanie technologii chemii mikrofalowej i przepływowej w opracowaniu innowacyjnego inhibitora drobnocząsteczkowego o wysokiej aktywności przeciwnowotworowej przeciwko ostrej białaczce szpikowej (AML)”

Celem niniejszej pracy było opracowanie i optymalizacja syntezy inhibitorów kinazy FLT3 odpowiedzialnej za rozwój ostrej białaczki szpikowej AML. W części literaturowej przedstawiłam opis złośliwej choroby nowotworowej jaką jest AML oraz sposoby jej leczenia. Do tego celu najczęściej stosowana jest intensywna chemioterapia oraz transplantacja szpiku kostnego. Do rozwoju ostrej białaczki szpikowej ale również innych chorób nowotworowych przyczyniają się w głównej mierze mutacje kinazy FLT3, która to należy do rodziny receptorowych kinaz tyrozynowych klasy III (RTK III). Reguluje ona szereg procesów odpowiedzialnych za proces proliferacji czyli namnażania się komórek, ich różnicowania, adhezji, ruchliwości, metabolizmu oraz zaprogramowanej śmierci komórki (apoptozy). Co więcej kinaza FLT3 nadzoruje prawidłowy rozwój komórek macierzystych i układu odpornościowego. Wewnętrzna duplikacja tandemowa i mutacje punktowe to główne rodzaje nieprawidłowości w funkcjonowaniu kinazy FLT3. Niszczenie w trakcie chemioterapii zarówno komórek nowotworowych jak i zdrowych, a także skutki uboczne oraz toksyczność tej terapii przyczyniły się do rozwoju leków celowanych. Preparaty te to nic innego jak inhibitory, które muszą wykazywać aktywność terapeutyczną, niską toksyczność ale przede wszystkim powinny działać na komórki rakowe przy jednoczesnym oszczędzeniu komórek zdrowych. Obecnie opracowano już wiele inhibitorów kinazy FLT3, które zakwalifikowały się do badań klinicznych. Ze względu na prawa patentowe związane z syntezą inhibitorów w pracy tej nie przedstawiłam reakcji prowadzących do ich otrzymywania. Ograniczona skuteczność kliniczna opracowanych dotychczas inhibitorów kinazy FLT3 oraz pojawiająca się często w trakcie leczenia oporność wielolekowa i niejednokrotnie krótkotrwała odpowiedź organizmu na zastosowane leczenie, zainspirowały mnie do podjęcia prac związanych z opracowaniem nowatorskiego, małowcząsteczkowego inhibitora FLT3 o wysokiej biodostępności po podaniu doustnym i niskiej toksyczności oraz korzystnym profilu farmakokinetycznym. Dodatkowo opracowany inhibitor powinien być bezpieczny i wysoce skuteczny w leczeniu osób z ostrą białaczką szpikową.

W opracowaniu nowej biologicznie aktywnej cząsteczki wykorzystałam w pierwszej kolejności metody bioinformatyczne *in silico*, głównie program KNIME. Stworzyłam dzięki niemu wirtualną bibliotekę związków zawierającą 700 struktur. Z kolei dokowanie molekularne

dostarczyło mi informacji na temat sposobu dopasowania potencjalnych inhibitorów do receptora. Co więcej metody te pomogły mi w wyborze modyfikacji, które poprawiły zarówno aktywność jak i właściwości cząsteczki. Po szczegółowej analizie danych otrzymanych z dokowania przeprowadziłam syntezę 110 związków do dalszych badań. Syntezowane przeze mnie cząsteczki to przede wszystkim pochodne pirymidynowe jak i pirolopirymidynowe, bowiem jak wynika z dostępnych w literaturze danych, pirymidyna jest jednym z ważniejszych elementów strukturalnych wielu preparatów leczniczych. Związki te należą także do rodziny związków heterocyklicznych zawierających w swej strukturze element strukturalnie podobny do pierścienia purynowego. Dla wszystkich cząsteczek określona została aktywność ich działania względem kinazy FLT3 oraz wybranych związków referencyjnych, którymi były: UNC2025 i MRX-2843. Wyznaczona została również stabilność chemiczna oraz stabilność na mikrosomach mysich oraz ludzkich. Określone zostały parametry fizykochemiczne oraz rozpuszczalność w roztworach o pH 4,5 i 7,4. Przeprowadzone były również analizy pozwalające na określenie przepuszczalności nowych cząsteczek przez błony biologiczne. Pochodne o jak najlepszej selektywności wobec kinazy FLT3 były następnie testowane na modelach komórkowych takich jak: KASUMI-1, NOMO-1 oraz MOLM-13. Są to ludzkie linie komórkowe ostrej białaczki szpikowej. Spośród zsyntezowanych przeze mnie związków wybrałam dwie struktury wiodące. Związki te zostały wybrane na podstawie podobieństwa strukturalnego względem związków referencyjnych. Co więcej wartości IC_{50} wybranych związków były zbliżone do wartości IC_{50} związków referencyjnych. Ponadto wybór ten podyktowany był badaniem *in vitro*, które wykazało dużo lepszą efektywność działania związków, które posiadają w swej strukturze układ C1-C4 z jednym wiązaniem nienasyconym. Molekuły te wykazują także dużo lepszą rozpuszczalność oraz biodostępność. Dodatkowo związki te trafiły na badania toksykologiczne w celu wyznaczenia dla nich maksymalnej tolerowalnej dawki. Jeden z wybranych związków wiodących wykazuje duży potencjał na „lek” i zakwalifikowanie go w przyszłości do badań klinicznych.

W pracy tej opisałam również proces optymalizacji ścieżki syntezy jednego z wybranych związków referencyjnych. Prace optymalizacyjne wykonałam głównie przy wykorzystaniu prężnie rozwijającej się w ostatnich latach technologii przepływowej (FLOW). Niektóre etapy optymalizowałam także przy zastosowaniu reaktora mikrofalowego.