



A modern tumorterápia nyomában,

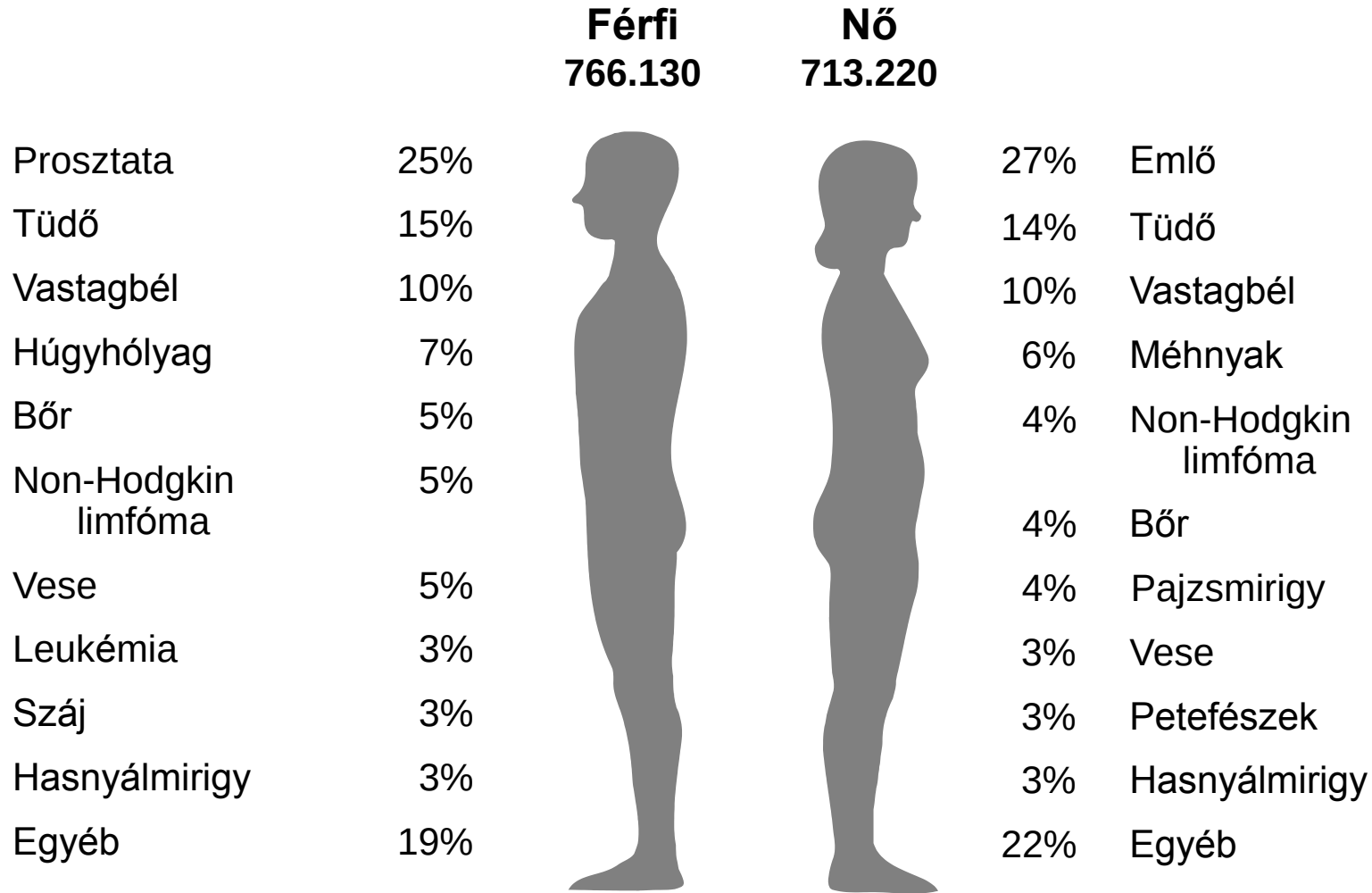
avagy milyen munka folyik a 407-es laborban

**50 éves az MTA-ELTE Peptidkémiai
Kutatócsoport**

Szabó Ildikó

2011.december 09.

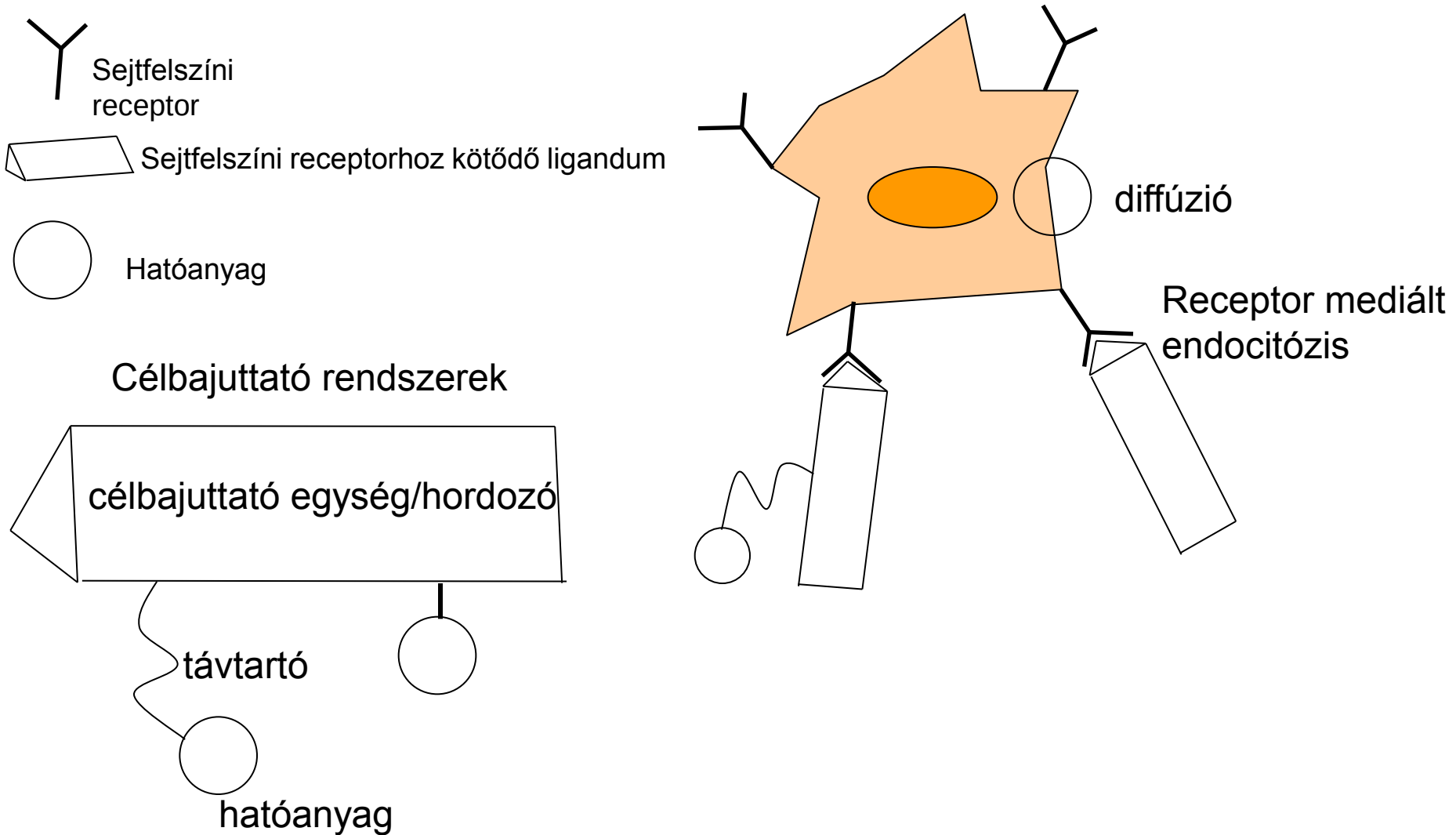
Rosszindulatú megbetegedések előfordulása



A rosszindulatú megbetegedések kezelése

- Daganatos megbetegedés diagnosztizálását követően:
 - Sebészeti beavatkozás
 - Szolid tumorok esetén
 - Kemoterápia, hormonterápia
 - Sebészeti beavatkozást követően
 - Nem szolid tumorok esetében
 - Szelektivitás, specificitás hiánya
 - Sugárterápia
 - Immunterápia
 - Génterápia

A gyógyszerek célzott sejtbe juttatása (*irányított kemoterápia*)



GnRH

GnRH-I

<EHWSYGLRPG-NH₂

GnRH-II

<EHWSHGWPYGP-NH₂

GnRH-III

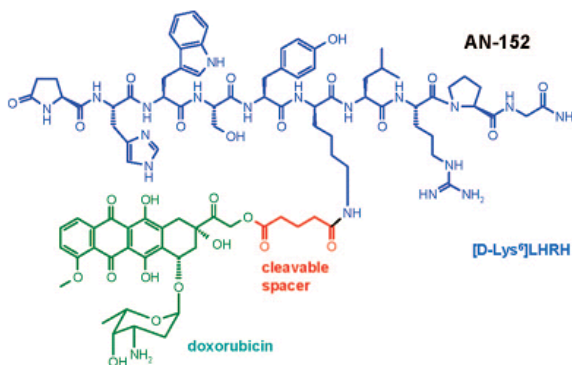
<EHWSHDWKPG-NH₂

Agonisták

Buserelin (*Suprefact*)
 Goserelin (*Zoladex*)
 Histrelin (*Vantas, Supprelin LA*)
 Leuprorelin (*Lupron, Viadur, Eligard*)
 Nafarelin (*Synarel*)
 Triptorelin (*Decapeptyl, Diphereline, Gonapeptyl*)
 Deslorelin (*Ovuplant*)

Antagonisták

Abarelix (*Plenaxis*)
 Cetrorelix (*Cetrotide*)
 Degarelix (*Firmagon*)
 Ganirelix (*Antagon*)



Agonisták

[D-Lys⁶]GnRH-II

[D-Lys⁶(Dau=Aoa)]GnRH-II

[D-Lys⁶]GnRH-II-PAP

(PAP: *proapoptotikus peptid*)

[D-Lys⁶(Dau=Aoa)]GnRH-II-PAP

[D-Trp⁶]GnRH-II

[D-Trp⁶]GnRH-II-PAP

[D-Nal⁶]GnRH-II

[D-Nal⁶]GnRH-II-PAP

Antagonisták

MI-1892

[MI-1892(Cys)]₂

(MI-1892)₂exemesztán-dioxim

(MI-1892-TEG)₂exemesztán-dioxim

MI-1892(TEG)

[MI-1892(Cys-TEG)]₂

MI-1892(CYRRL)₂

MI-1892(Dau=Aoa-YRRL)

MI-1892(Dau=Aoa)

MI-1892^[5Lys](Dau=Aoa)

MI-1892(Dau=Aoa)

MI-1892^[5Lys](Dau=Aoa)

Agonisták

GnRH-III

GnRH-III(Dau=Aoa) ✓

GnRH-III(Dau=Aoa-GFLG) ✓

GnRH-III(Dox-CO-(CH₂)₃-CO)

GnRH-III(Dau=N-NH-CO-(CH₂)-CO)

GnRH-III(Dau-PABC)

[N-MeSer⁴]-GnRH-III(Dau=Aoa)

GnRH-III(⁴Lys(X), ⁸Lys(Dau=Aoa))

(X: Ac ✓, Dau=Aoa ✓ Mtx,

Pr, *iBu*, *nBu*, CA, *iVA*, Hex, Myr)

GnRH-III(⁸Lys(X))

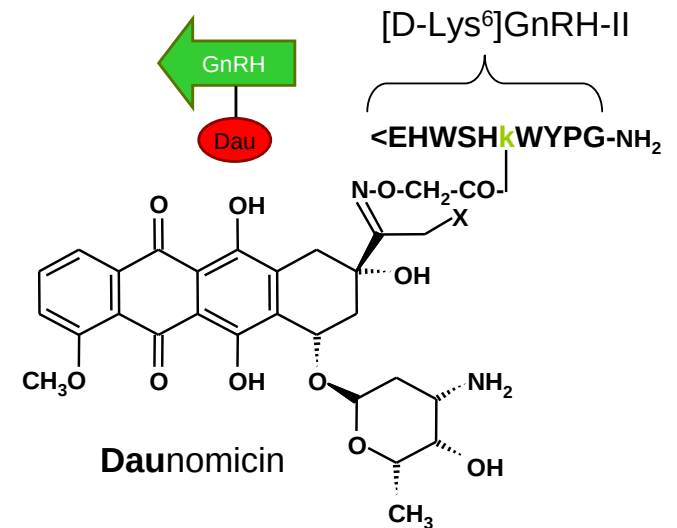
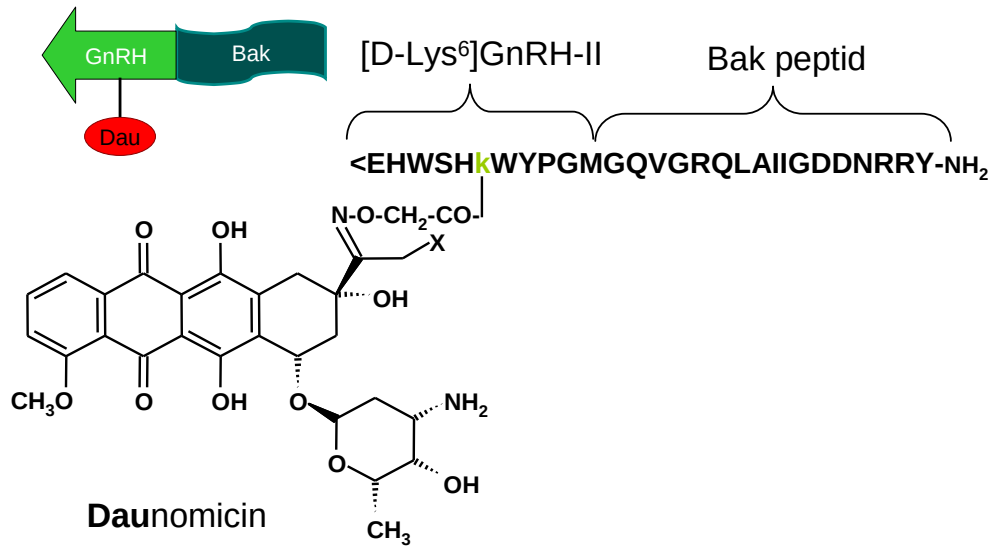
(X: *glut*PEG(*curcumin*),

Dau=Aoa-Lys(Dau=Aoa)

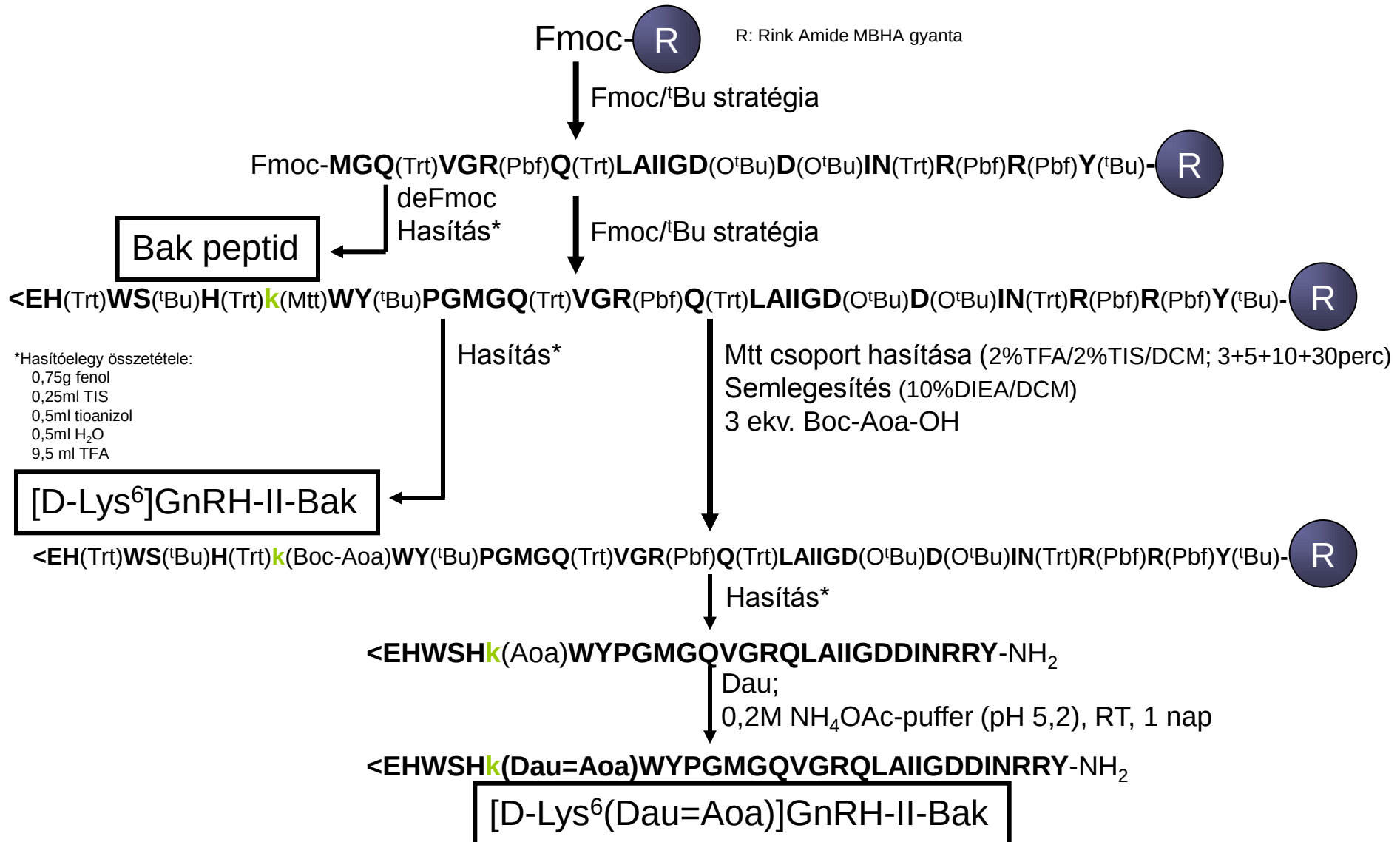
Mtx-Lys(Dau=Aoa)

Célkitűzés

Proapoptotikus GnRH-II peptidkonjugátumok előállítása



Proapoptotikus peptidkonjugátumok szintézise



A szintetikusan előállított peptidek kémiai jellemzése

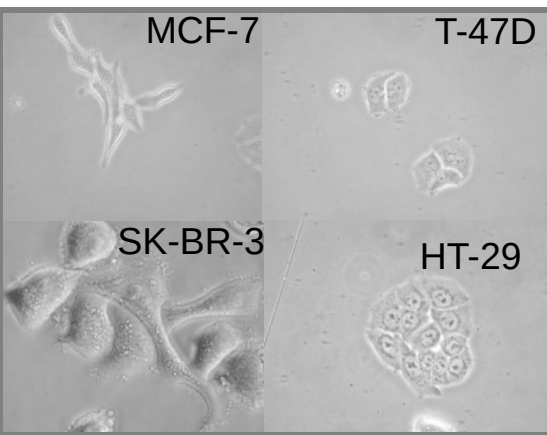
	t_R^* perc	M_{av} (számolt)	M_{av} (mért)
[D-Lys ⁶]GnRH-II	22,3	1307,4	1307,0
Bak	26,4	2174,5	2175,0
[D-Lys ⁶]GnRH-II-Bak	28,0	3464,9	3465,4
[D-Lys ⁶ (Dau=Aoa)]GnRH-II-Bak	30,1	4049,2	4049,1

*: Oszlop: Phenomenex Luna, C18, 5 μ m, 100Å; 250x 4,6 mm; flow rate: 1 ml/perc, Gradiens: 0-50min:0-90% B-eluens;

Eluensek: A-Eluens: víz/0,1% TFA; B-Eluens: 80% acetonitril/20% víz/0,1% TFA

†: Bruker Daltonics Esquire 3000plus (Bréma, Németország) ioncsapdás tömegspektrométer. Spektrum felvétele a 50–2000 m/z tartományban

A hatóanyagot tartalmazó konjugátumok *in vitro* citotoxikus (72h) hatásának meghatározása



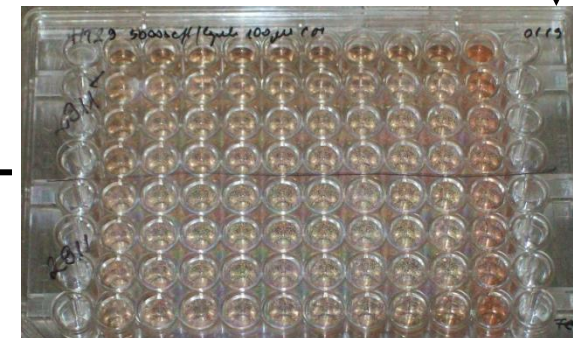
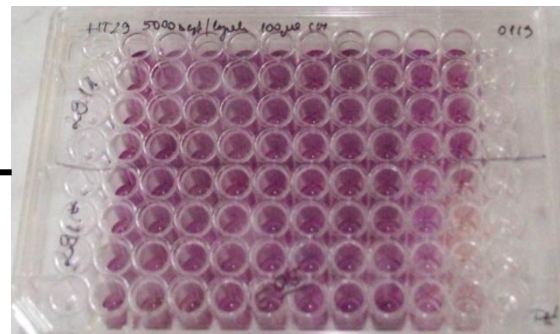
Sejtek kiosztása (24 óra, 37°C)



Sejtek kezelése
(72 óra, 37°C, CM, koncentráció:
 $2,56 \cdot 10^{-4} - 100 \mu\text{M}$)



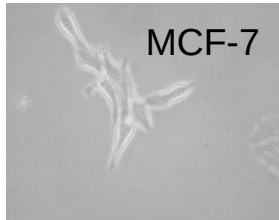
IC₅₀ érték meghatározása



MTT-teszt (3,5 óra, 37°C)

Eredmények

A peptidkonjugátumok in vitro citotoxikus (72h) hatása



[D-Lys ⁶]GnRH-II 37,4	— Dau → 0,1-0,3	[D-Lys ⁶ (Dau =Aoa)]GnRH-II 4,1
↓ Bak 35,5 ↓		↓ Bak 35,5 ↓
[D-Lys ⁶]GnRH-II- Bak 33,1		[D-Lys ⁶ (Dau =Aoa)]GnRH-II- Bak 0,01

Eredmények

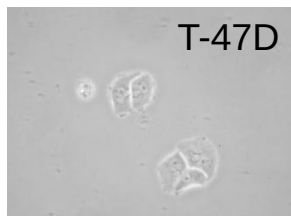
A peptidkonjugátumok in vitro citotoxikus (72h) hatása



[D-Lys ⁶]GnRH-II 78	— Dau → 0,2	[D-Lys ⁶ (Dau =Aoa)]GnRH-II 3,9
↓ Bak 62,4 ↓		↓ Bak 62,4 ↓
[D-Lys ⁶]GnRH-II- Bak 55,8		[D-Lys ⁶ (Dau =Aoa)]GnRH-II- Bak 0,3

Eredmények

A peptidkonjugátumok in vitro citotoxikus (72h) hatása



[D-Lys ⁶]GnRH-II >100	— Dau → 0,2	[D-Lys ⁶ (Dau =Aoa)]GnRH-II 3,9
↓ Bak 38,1 ↓		↓ Bak 38,1 ↓
[D-Lys ⁶]GnRH-II- Bak 63,6		[D-Lys ⁶ (Dau =Aoa)]GnRH-II- Bak 1,3

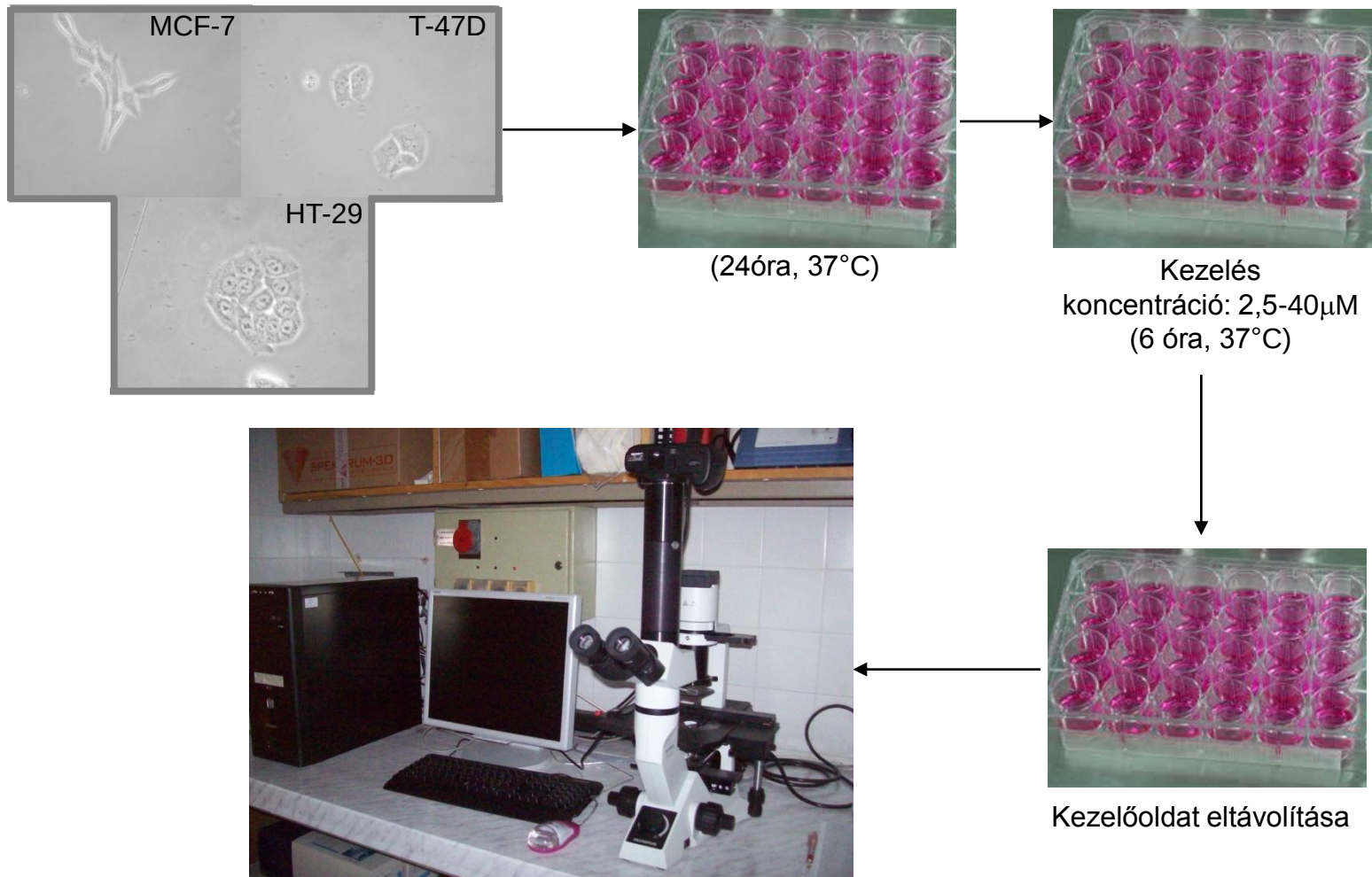
Eredmények

A peptidkonjugátumok in vitro citotoxikus (72h) hatása



[D-Lys ⁶]GnRH-II 56,8	— Dau → 0,4	[D-Lys ⁶ (Dau =Aoa)]GnRH-II 1,4
↓ Bak 62,5 ↓		↓ Bak 62 ↓
[D-Lys ⁶]GnRH-II- Bak 69,7		[D-Lys ⁶ (Dau =Aoa)]GnRH-II- Bak 0,6

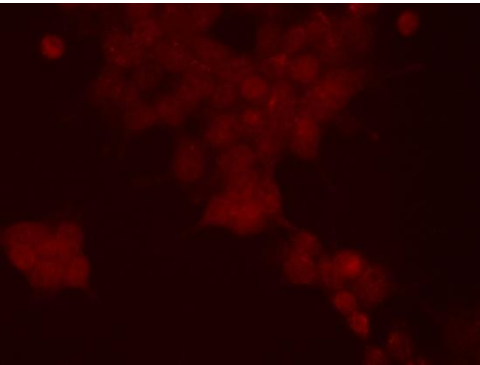
A [D-Lys⁶(Dau=Aoa)]GnRH-II-Bak konjugátum sejtbejutásának meghatározása fluoreszcens mikroszkóp



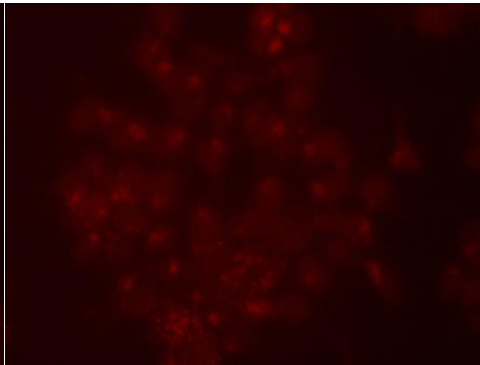
Eredmények

A [D-Lys⁶(Dau=Aoa)]GnRH-II-Bak konjugátum fluoreszcens mikroszkóppal meghatározott sejtbejutási képessége

MCF-7

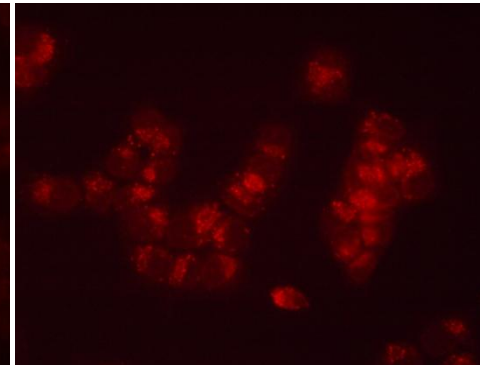


Dau, 2,5μM

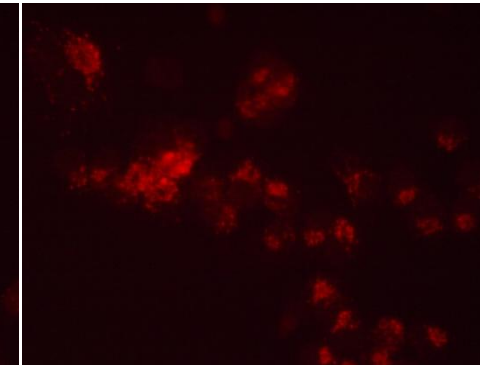


konjugátum, 5μM

T-47D

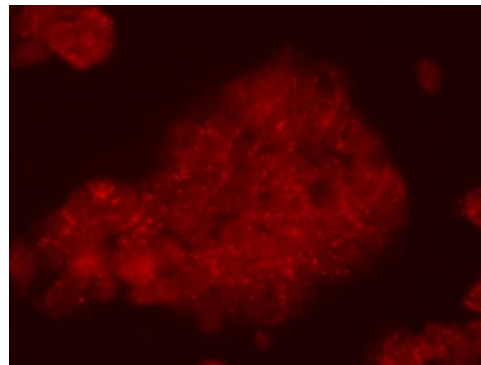


Dau, 2,5μM

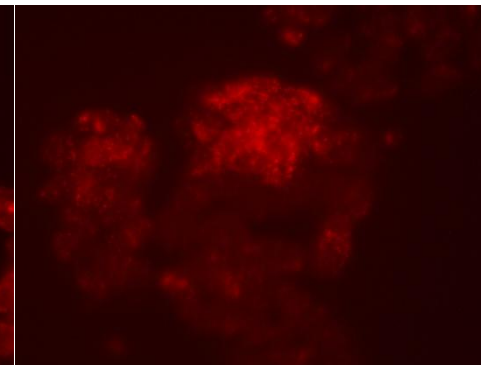


konjugátum, 5μM

HT-29



Dau, 2,5μM



konjugátum, 5μM

Összefoglalás

- Különböző GnRH analógokból hatóanyagot tartalmazó konjugátumok szintézise
 - GnRH-II
 - agonista
 - antagonistá
 - GnRH-III
 - agonista
- GnRH konjugátumok *in vitro* citotoxikus, citosztatikus hatásának meghatározása különböző tumor sejtvonalakon
- Konjugátumok sejtbejutási képességének meghatározása (áramlási citométer, fluoreszcens mikroszkóp)
- *In vivo* tumorelles hatás meghatározása
 - GnRH-III(Dau=Aoa) (~40%), GnRH-III(Dau=Aoa-GFLG) (~50%)
 - GnRH-III(⁴Lys(Ac),⁸Lys(Dau=Aoa)) (~50%), GnRH-III(⁴Lys(Dau=Aoa)),⁸Lys(Dau=Aoa)) (~40%)
 - GnRH-III(⁴Lys(*n*Bu),⁸Lys(Dau=Aoa)), GnRH-III(⁴Lys(*i*Bu),⁸Lys(Dau=Aoa)), MI-1892(Dau=Aoa), MI-1892[⁵Lys](Dau=Aoa), [D-Lys⁶(Dau=Aoa)]GnRH-II-Bak

Köszönetnyilvánítás

