



**Резюме на проект по Фонд „Наука“ № 17010 – Конкурсна сесия 2017:  
„Нови RGD/полиамини – синтез и проучване за противотуморна  
активност“**

**Ръководител: Проф. д-р Стефка Василева Вълчева-Кузманова, дмн**

Злокачествените новообразувания са на едно от първите места като причина за смърт и са основен проблем на общественото здравеопазване.

Що се отнася до химиотерапията на рака, един от основните проблеми е свързан с това, че лекарствата не са селективни по отношение на раковите клетки. Увреждането на нормалните клетки от тях води до тежки нежелани лекарствени реакции, които ограничават приложимата доза на противотуморните лекарства. Освен това, някои от цитостатиците не са разтворими и е много трудно да бъдат въведени в клетката.

През последните години се използва нов подход за лекарствен дизайн – комбиниране на два или повече фармакологични ефекта в един лиганд. Бивалентният лиганд запазва силата на ефектите на отделните лекарствени молекули (синергичен ефект, по-ниски дози и по-малко странични ефекти), а в същото време при едновременното им прилагане се преодоляват някои ограничения, характерни за индивидуалните молекули.

Сред цял спектър от късоверижни пептиди, аналозите на RGD представляват атрактивни средства за селективно доставяне на цитостатици до ракови клетки. Те притежават силен афинитет и селективност към интегрини, свърхекспресирани на клетъчната мембрана на някои туморни и ангиогенни ендотелни клетки. Линеини и циклични пептиди, съдържащи RGD (Arg-Gly-Asp) аминокиселинна последователност, се използват като агенти-доставчици за нискомолекулни лекарствени средства, пептиди и белтъци до ендотелни и туморни клетки.

**Цел:**

Получаване на нови хибридни структури – RGD/полиамини, които действат като специфични носители за терапевтични агенти.

**Задачи:**

1. Получаване на нови хибридни пептидни структури;
2. *In vitro* изследване за потенциален цитотоксичен ефект на синтезираните пептидни конюгати;

3. Изследване потенциала на новополучените структури като преносители на терапевтични агенти.

**Очаквани резултати:**

- ❖ Ще се създадат нови, неописани в литературата аналози на RGD-пептиди и техни конюгати с по-силно изразени цитотоксични свойства.
- ❖ Получените резултати могат да бъдат основа за разработването на нов клас лекарствени форми.
- ❖ Проведените изследвания ще допринесат за академичното израстване на колектива.
- ❖ Участието на студенти в проекта ще повиши интереса им към новостите в областта на експерименталната медицина.

**Постигнати резултати:**

В резултат на изпълнението на проекта са синтезирани два нови RGD пептидни миметика с участието на аргининовите небелтъчни аминокиселинни аналози Agb (2-амино-4-гуанидино-маслена киселина) и Agp (амино-3-гуанидино-пропанова киселина), както нативния RGD трипептид и неговия канаванинов аналог CavGD.

Синтезирани са осем нови RGD пептидни конюгати с участието на аргининовите небелтъчни аминокиселинни аналози – Agb, Agp, канаванин (Cav) и два диамина – 1,2-етилендиамин (1,2-EDA) и 1,4-диаминобутан (1,4-DAB). Използван е стандартен протокол за твърдофазен пептиден синтез. Пептидните миметици и аналози са получени с висока чистота и добър добив.

За дизайна на целевите пептидни миметици – RGD аналози и конюгати, са направени следните модификации в структурата на нативния RGD:

- ❖ модификация в позиция 1: аргининовият остатък е заменен с негови структурни аналози – небелтъчните аминокиселини Agb, Agp и Cav;
- ❖ модификация в позиция 3: модифициране на C-края на Asp с диамините – 1,2-EDA и 1,4-DAB.

След приключване на синтеза и пречистване на пептидите чрез гел-филтрация, степента на химическа чистота на получените съединения е определена чрез високоефективна течна хроматография и капилярна електрофореза. Масспектрометричният анализ потвърждава предварително изчислените молекулни маси на синтезираните пептиди.

Направена е биологична оценка на двата нови RGD аналога, модифицирани в 1-ва позиция с Agb и Arg. Цитотоксичният ефект на AgbGD и ArgGD миметиците и изходния RGD пептид е определен върху шест туморни клетъчни линии чрез МТТ тест. Резултатите показват, че пептидният миметик – AgbGD, има повишен цитотоксичен

ефект върху HT-29, MDA-MB-231 и MCF-7 клетки в сравнение с изходния RGD пептид. В сравнение с RGD пептида, двата аналога показват повишен инхибиторен ефект върху HepG2 клетките. Най-висок цитотоксичен ефект показва AgbGD върху HT-29 клетки. AgrGD има повишен инхибиторен ефект в сравнение с изходния RGD пептид върху PC-3 клетки. A-549 клетките са нечувствителни към действието на AgbGD, AgrGD и RGD. Скъсяването на дължината на страничната верига на аминокиселината Arg променя активността на аналозите, като повишава тяхната цитотоксичност. Ефектът на тестваните пептиди е концентрация-зависим и проявява специфичност спрямо клетъчните линии. Върху MCF-10 референтната не-ракова линия пептидните аналози, както и RGD пептидът, нямат изразена цитотоксичност, което е добър показател за липсата на токсичност на веществата.

Пептидите са много привлекателни за откриване и разработване на лекарства с цитотоксичен ефект поради ниската им себестойност, оралната им приложимост и възможността да се извършват сравнително лесно изследвания върху зависимостта между молекулната структура и активността. От друга страна, използването на естествени полиамини и техни аналози е обещаваща стратегия за лечение на рак. Получаването на конюгати от тези две групи естествени вещества би довело до потенциране на противотуморния им ефект. RGD пептидите могат да подобрят доставянето на полиамини до туморните клетки.

Резултатите от проекта допринасят за откриване и разработване на нови молекули с цитотоксичен ефект.

Проектът допринася за развитие на едно от приоритетните научни направление в МУ – Варна: направление „Онкология“.

Резултатите са включени в този дисертационен труд на Момчил Константинов Ламбев за придобиване на ОНС „Доктор“ на тема: „Нови RGD/полиамини – синтез и проучване за противотуморна активност“.