Tytuł projektu

Nowe ligandy receptora 5-HT6 jako innowacyjna terapia w leczeniu glejaków

Zadania, działania, które będą realizowane w ramach projektu (opis, co zostanie zrobione, ew. zakupione)

- Wybór związków do badań biologicznych z zastosowaniem metod modelowania molekularnego oraz ich synteza
- Wstępna ocena potencjału cytotoksycznego wybranych związków na modelu nowotworowym GB *in vitro*, z użyciem linii komórkowych pochodzących od pacjentów
- Optymalizacja metod otrzymywania wybranych cząsteczek przy zastosowaniu ekologicznych metod syntezy
- Analiza potencjału antyneoplastycznego związków wyselekcjonowanych w poprzednich etapach na modelu GB *in vitro*.
- Charakterystyka profilu zanieczyszczeń i analiza profilu uwalniania wybranych cząsteczek
- Weryfikacja potencjału przeciwnowotworowego związku o najwyższej efektywności na modelu GB *in vitro* typu 3D

Grupy docelowe (do kogo skierowany jest projekt, kto z niego skorzysta)

Głównym celem projektu jest opracowanie nowej metody farmakoterapii glejaków wielopostaciowych. Planowany produkt pozostaje w zgodnie z zasadą uniwersalnego projektowania, charakteryzując się wysoką uniwersalnością, umożliwiającą jego użycie dla całego społeczeństwa. W ramach projektu powstanie także ekologiczna metoda syntezy finalnych związków. Aspekt ten wpłynie pozytywnie na ochronę środowiska. W projekcie wdrożona zostanie polityka równości szans i niedyskryminacji, obowiązująca na Politechnice Krakowskiej Do bezpośrednich odbiorców opracowanej technologii oraz związków bioaktywnych należy zaliczyć firmy farmaceutyczne i biotechnologiczne, działające na terenie Polski oraz Europy. Wymienione podmioty prowadzą działalność, polegającą na produkcji i sprzedaży farmaceutyków, także celowanych modulatorów w terapii przeciwnowotworowej. Część z nich posiada na terenie Polski działy rozwojowe R&D, prowadzące badania nad nowymi terapiami w chorobach onkologicznych.

Cel lub cele projektu

Glejaki (GB) stanowią prawie 50% nowotworów mózgu. Zidentyfikowano wiele zmian genetycznych odpowiedzialnych za ich powstawanie. Najczęściej wymienia się mutacje i nadekspresje receptorów kinazy tyrozynowej, takich jak EGFR oraz zmiany w sygnalizacji RAS/MAPK i szlaku PI3K/AKT/mTOR, które regulują proliferację komórek i apoptozę. W zależności od stopnia zaawansowania guza, leczenie GB polega na usunięciu chirurgicznym, ewentualnie w połączeniu z chemioterapią i radioterapią. W ostatnich latach zaobserwowano rozwój terapii celowanej. Jednakże zastosowanie selektywnych inhibitorów kinaz okazało się być mało skuteczne na etapie badań klinicznych. Mechanistyczny cel rapamycyny (mTOR) napędza kilka fizjologicznych i patologicznych procesów komórkowych i często ulega deregulacji w różnych typach nowotworów, w tym glejaku wielopostaciowym (GBM). Dotychczas żadne próby ukierunkowania tego szlaku za pomocą inhibitorów kinaz nie poprawiły

wyników leczenia pacjentów z GBM. Serotonina (5-HT) wymieniana jest jako czynnik wzrostu kilku typów komórek nowotworowych. Wykazano, że stymuluje proliferację, migrację i inwazję komórek glejaka. W przeciwieństwie do innych receptorów serotoninowych, ekspresja 5-HT$_6$R ogranicza się do ośrodkowego układu nerwowego. W zależności od czasu i lokalizacji subkomórkowej receptor ten może angażować różne szlaki sygnalizacyjne. 5-HT$_6$R moduluje różne kluczowe cele rozwojowe, takie jak mTOR. Konstytutywnie aktywne 5-HT$_6$R przyczyniają się do zwiększonej aktywności mTOR w mózgu. W niniejszym projekcie zaproponowano zastosowanie ligandów 5-HT$_6$R, jako pośrednich modulatorów kinaz mTOR oraz CDK-5. W przeciwieństwie do znanych rozwiązań w farmakoterapii glejaka, związki te łączą hamowanie szlaków sygnalizacji powiązanych ze wzrostem glejaków oraz ograniczają ilości serotoniny w środowisku guza.

Celem projektu jest zwiększenie potencjału komercjalizacyjnego badań podstawowych, realizowanych na Politechnice Krakowskiej w projekcie NCN Preludium *„Nowe ligandy receptora 5-HT$_6$ z grupy sulfonamidowych pochodnych cyklicznych aryloguanidyn w leczeniu glejaków wielopostaciowych"*. W ramach działań objętych PoC zaplanowano optymalizacje metod syntezy wybranych cząsteczek, z zastosowaniem syntezy wspieranej sonochemicznie lub mikrofalowo oraz szczegółową ocenę potencjału przeciwnowotworowego ligandów 5-HT$_6$R, na wybranych liniach glejaka *in vitro*. Głównym celem projektu ma być potwierdzenie antyneoplastycznej aktywności opracowanych związków, stosując między innymi model badawczy 3D, który zgodnie z literaturą przedmiotu uznawany jest za zbliżony do mikrośrodowiska komórek nowotworowych *in vivo*. Zaplanowano pozyskanie materiału badawczego od pacjentów ze zdiagnozowanym GB w ramach współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Łodzi oraz wykonanie testów *in vitro* z wykorzystaniem pozyskanych linii. Oceniony zostanie potencjał do hamowania proliferacji, migracji i inwazji oraz promowania apoptozy. Związki przeznaczone do badań biologicznych będą częściowo pochodziły z prowadzonego wcześniej projektu Preludium, a częściowo będą modyfikowane po przeprowadzeniu analiz *in silico*. Działanie to ma na celu potencjalne zwiększenie zdolności modulacyjnej względem wybranych ścieżek sygnalizacji oraz poprawę penetracji bariery krew-mózg. Efektem projektu będą związki o potwierdzonej aktywności przeciwnowotworowej w kierunku GB, na etapie wczesnych badań przedklinicznych. Dodatkowo zoptymalizowana zostanie ich metoda syntezy oraz scharakteryzowany profil uwalniania oraz profil zanieczyszczeń.

Efekty, rezultaty projektu (jeśli opis zadań, działań nie zawiera opisu efektów, rezultatów)

W ramach prac objętych projektem wytypowano 8 cząsteczek posiadających wysokie powinowactwo do receptorów serotoninowych, które następnie zostały poddane szczegółowej analizie pod kątem aktywności przeciwnowotworowej *in vitro*. Trzy badane związki pochodziły z zakończonego wcześniej projektu Preludium, realizowanego na Politechnice Krakowskiej. Pięć nowych ligandów zaprojektowano w oparciu o uzyskane wcześniej wyniki, przy wsparciu metod modelowania molekularnego.

Jednym z efektów projektu PoC jest opracowanie nowej, bezrozpuszczalnikowej metody syntezy wspomnianych cząsteczek, prowadzonej sonochemicznie. Pomimo braku rozpuszczalnika, upłynnienie reagentów w środowisku reakcji pozwala na

efektywne wykorzystanie ultradźwięków jako medium dostarczającego energię do układu. Zastosowanie opracowanej metody pozwoliło na otrzymanie produktów z wysoką wydajnością w zakresie 64-87%, przy czasie reakcji wynoszącym poniżej 2 godzin.

Badania *in vitro* zostały przeprowadzone przy zastosowaniu handlowych linii komórkowych glejaka, a także komórek wyizolowanych od pacjentów onkologicznych, przy współpracy z Łódzkim Uniwersytetem Medycznym. Testowane związki wykazywały wysoką aktywność przeciwnowotworową. Do szczegółowych badań wybrano dwa z nich, które cechowała najwyższa selektywność, w odniesieniu do komórek prawidłowych – astrocytów.

Dwie wybrane cząsteczki **L184** oraz **JK 75** poddano dalszym analizom na modelach komórkowych 2D oraz 3D, z zastosowaniem 4 linii glejaka w tym 2 wyprowadzonych z materiału nowotworowego pozyskanego od pacjentów onkologicznych. Stwierdzono, iż badane związki wykazują aktywność proapopototyczną, antyproliferacyjną oraz cechują się zdolnością ograniczania inwazyjności komórek GB w warunkach *in vitro*, choć poszczególne linie GB cechowały się różną wrażliwością zależną od stężenia. Wyniki analizy ujawniły także zdolność **L184** oraz **JK 75** do wpływu na cykl komórkowy, sugerując częściowy blok cyklu w fazie G0/G1

Oba związki są obiecującymi kandydatami do dalszych badań jako potencjalne chemioterapeutyki. Ze względu na prawdopodobnie odmienny mechanizm działania w porównaniu z obecnie stosowanymi terapiami, **L184** oraz **JK 75** mogą istotnie przyczynić się do walki z problemem lekooporności. Projekt realizowano przy udziale doradczym dwóch partnerów gospodarczych, Farmina sp. z o.o. oraz AT Analytica.

Wartość projektu, (łączny koszt)
698 880,00 zł

Wysokość wkładu Funduszy Europejskich
698 880,00 zł