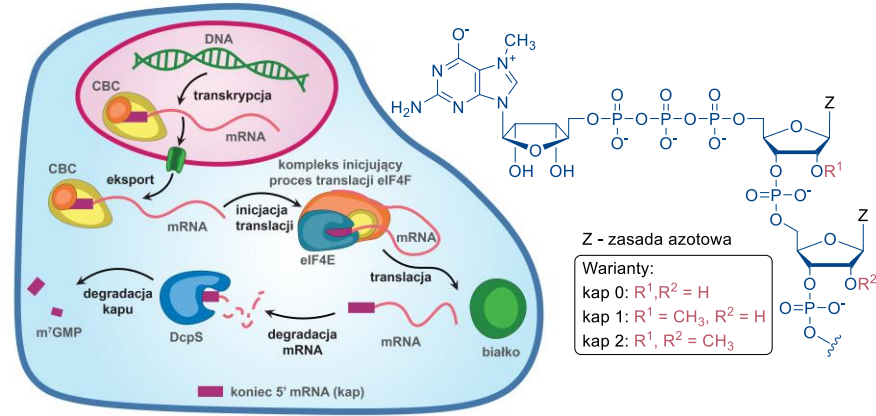


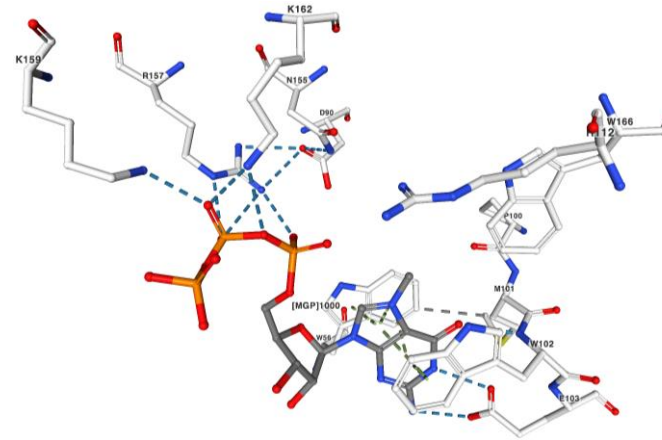
Synteza i badanie właściwości oligofosforanowych pronukleotydów inhibitorów translacji zależnej od kapu

Sebastian Gołojuch, Laboratorium Chemii Bioorganicznej, Centrum Nowych Technologii, promotor: prof. dr hab. Jacek Jemielity

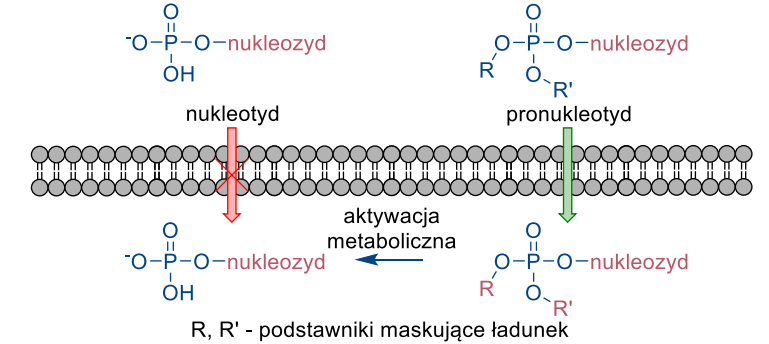
Struktura i funkcje kapu



Powinowactwo analogów kapu do eIF4E



Dostarczanie nukleotydów do komórek



Nukleotydy są związkami o bardzo niewielkiej przenikalności przez błonę komórkową. Stanowi to przeszkodę w wykorzystaniu potencjału terapeutycznego nukleotydowych analogów kapu. Jedną ze strategii pozwalających rozwiązać ten problem jest zastosowanie pronukleotydów – prekursorów nukleotydów o zwiększonej przenikalności przez błonę komórkową, ulegających transformacji do aktywnej formy w warunkach wewnątrzkomórkowych. Strategię taką udało się pomyślnie zastosować w kontekście monofosforanowych inhibitorów białka eIF4E [8, 9]. Ich powinowactwo do białka eIF4E jest jednak nieporównywalnie mniejsze od di-, tri-, czy tetrafosforanów nukleotydów.

Cele i rezultaty projektu

Głównymi celami niniejszego projektu były:

- chemiczna synteza oligofosforanowych pronukleotydów inhibitorów białka eIF4E, posiadających zdolność do penetracji błony komórkowej,
- weryfikacja ich właściwości biofizycznych, biochemicznych i biologicznych.

Otrzymano szereg pochodnych rybonukleotydów guaninowych, zawierających modyfikacje w obrębie zasady azotowej, rybozy oraz części oligofosforanowej. Ich zdolność do penetracji błony komórkowej, podatność na metaboliczną aktywację i degradację, cytotoksyczność, oraz wpływ na ekspresję wybranych białek zbadano na liniach komórkowych K562, A549 i MDA-MB-231. Otrzymane pronukleotydy okazały się skutecznie penetrować błonę komórkową, ulegać szybkiej aktywacji metabolicznej do nukleotydów o wysokim powinowactwie do białka eIF4E, a niektóre z zastosowanych modyfikacji zwiększyły również odporność na degradację enzymatyczną powstałych w wyniku aktywacji inhibitorów.

Badania są objęte procedurą patentową.

Kap umieszczony na końcu 5' eukariotycznego mRNA zbudowany jest z 7-metyloguanozyny połączonej mostkiem 5',5'-trifosforanowym z pierwszym nukleotydem transkryptu. Jedną z ważniejszych funkcji kapu jest udział w inicjacji procesu translacji w wyniku oddziaływania z czynnikiem inicjującym proces translacji 4E (eIF4E), wchodzącym w skład kompleksu inicjującego translację eIF4F. Zaangażowane w oddziaływanie z końcem 5' mRNA białko eIF4E może być ważnym celem terapeutycznym. Jego nadekspresja jest charakterystyczna dla wielu rodzajów nowotworów i wiąże się z zaburzeniem zależnej od kapu translacji, co prowadzi do promowania ekspresji białek powiązanych z kancerogenezą i proliferacją komórek nowotworowych [1].

Potencjalną strategią terapeutyczną w nowotworach z występującą nadekspresją eIF4E może być inhibicja zależnej od kapu translacji przez zastosowanie inhibitorów blokujących interakcję białka eIF4E z mRNA [2]. Inhibitory eIF4E będące analogami kapu charakteryzują się wysokim powinowactwem i dużą selektywnością [3]. W ich oddziaływanie z białkiem eIF4E zaangażowana jest 7-metyloguanina, która oddziałuje warstwowo z dwoma tryptofanami z kieszeni wiążącej białka, ale duże znaczenie mają również oddziaływania jonowe pomiędzy resztą fosforanową a arginina oraz lizynami. Rozbudowa reszty fosforanowej przekłada się na znaczne poprawienie powinowactwa analogów do białka.

Literatura

- [1] Polunovskiy V.A., et al. The Cap-Dependent Translation Apparatus Integrates and Amplifies Cancer Pathways. *RNA Biol.* 2006, 3, 10-17.
- [2] Kim H.J. Cell fate control by translation: mRNA translation initiation as a therapeutic target for cancer development and stem cell fate control. *Biomolecules.* 2019, 9, 665.
- [3] Ziemiński M., et al. Potential therapeutic applications of RNA cap analogs. *Futur Sci.* 2013, 5, 1141-1172.
- [4] A. Niedzwiecka, et al., Biophysical Studies of eIF4E Cap-binding Protein: Recognition of mRNA 5' Cap Structure and Synthetic Fragments of eIF4G and 4E-BP1 Proteins, *J. Mol. Biol.* 2002, 319, 615-635.
- [5] S. Gołojuch, et al., Exploring tryptamine conjugates as pronucleotides of phosphate-modified 7-methylguanine nucleotides targeting cap-dependent translation, *Bioorganic Med. Chem.* 2020, 28, 115523.
- [6] J. Kowalska, et al., Phosphorothioate analogs of m⁷GTP are enzymatically stable inhibitors of cap-dependent translation, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 19, 1921-1925.
- [7] J. Zuberek, et al., Influence of Electric Charge Variation at Residues 209 and 159 on the Interaction of eIF4E with the mRNA 5' Terminus, *Biochemistry.* 2004, 43, 5370-5379.
- [8] Li S, Jia Y, Jacobson B, et al. Treatment of breast and lung cancer cells with a N-7 benzyl guanosine monophosphate tryptamine phosphoramidate pronucleotide (4Ei-1) results in chemosensitization to gemcitabine and induced eIF4E proteasomal degradation. *Mol. Pharm.* 2013, 10, 523-531.
- [9] Okon A, Han J, Dawadi S, et al. Anchimerically Activated ProTides as Inhibitors of Cap-Dependent Translation and Inducers of Chemosensitization in Mantle Cell Lymphoma. *J. Med. Chem.* 2017, 60, 8131-8144.

