

Projektowanie i synteza peptydomimetyków o aktywności antyangiogennej lub przeciwbólowej

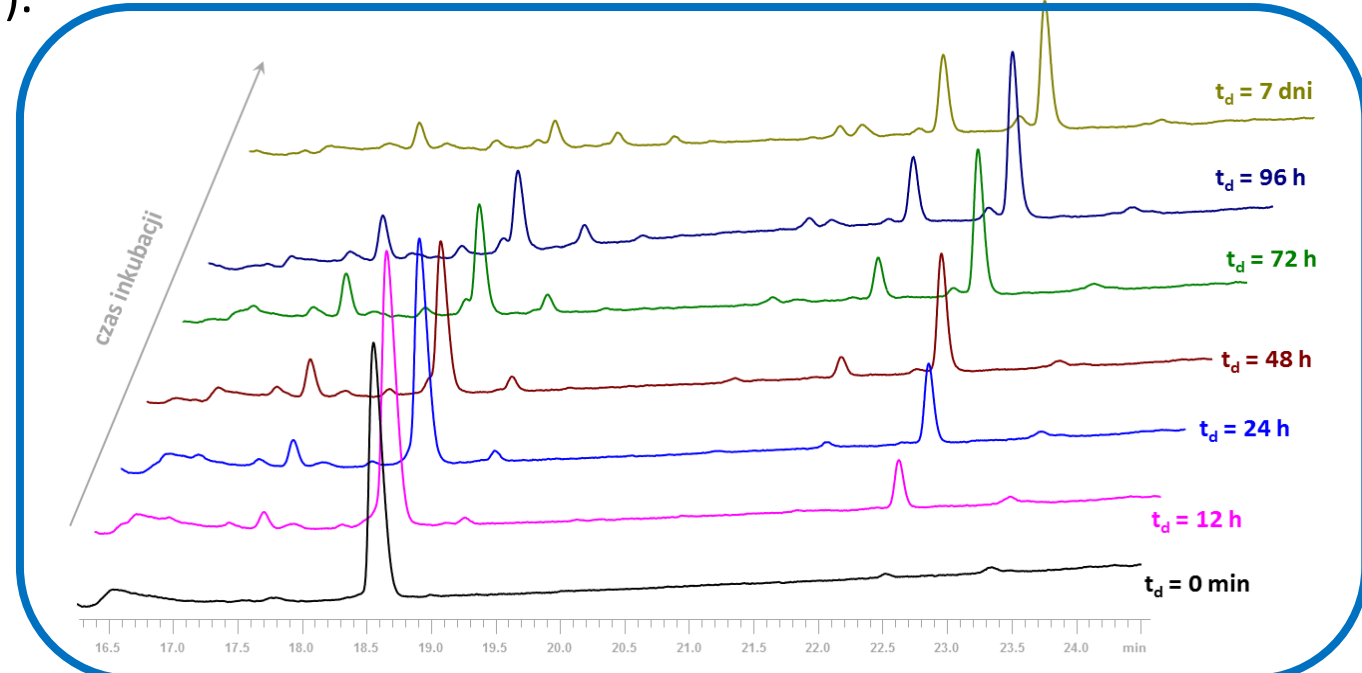
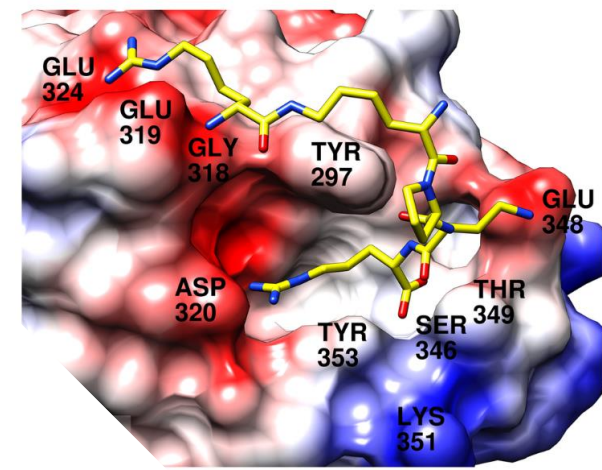
dr Dagmara Tymecka, Paulina Traczyk, Kamil Budziak, dr inż. Beata Wileńska, dr Ewa Witkowska

Peptydomimetyki antyangiogenne - inhibitory kompleksu VEGF-A₁₆₅/NRP-1

W naszej grupie od kilku lat zajmujemy się peptydomimetykami, będącymi inhibitorami kompleksu VEGF-A₁₆₅/NRP-1 (bardzo istotnego szlaku komunikacji międzykomórkowej warunkującego zdolność przyciągnięcia organizmu, a także biorącego udział w procesach progresji choroby nowotworowej czy w rozwoju innych chorób zależnych od utraty równowagi w jego pracy). Nasze prace badawcze dotyczą:

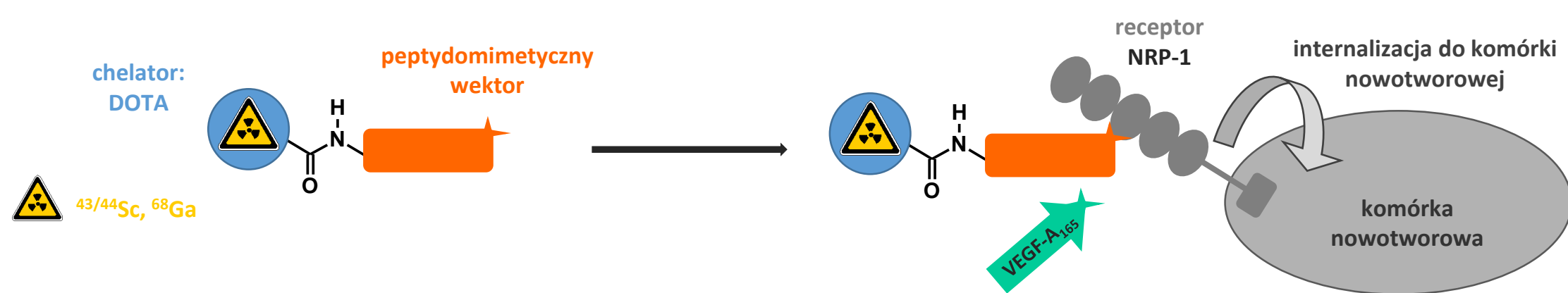
- prowadzenia badań zależności struktura – aktywność inhibitorowa peptydów i mimetyków peptydowych w tym:

- synteza docelowych związków
- badanie ich aktywności inhibitorowej przy użyciu immunoenzymatycznego testu ELISA
- badanie natury oddziaływań receptor NRP-1/inhibitor poprzez symulacje dynamiki molekularnej (we współpracy).



- badania czasu półtrwania w płynie fizjologicznym jakim jest ludzka surowica krwi przy zastosowaniu metody HPLC-MS.

W ostatnim czasie pracujemy także nad projektem wykorzystania inhibitorów kompleksu VEGF-A₁₆₅/NRP-1 jako wektorów do obrazowania patologicznej angiogenezy związanej z wczesnymi stadiami formowania się nowotworów złośliwych.

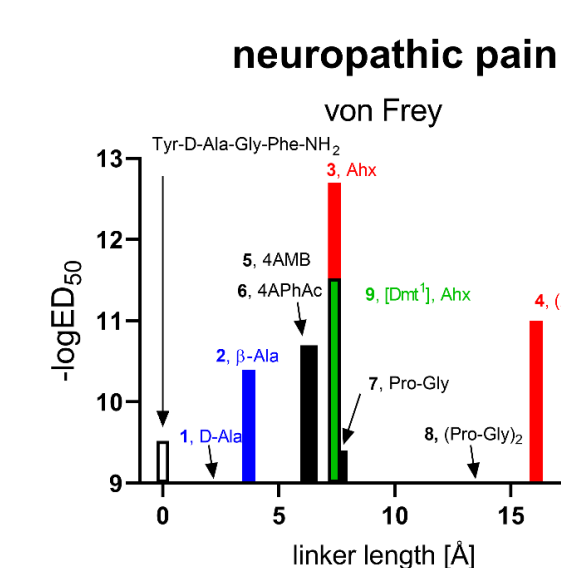
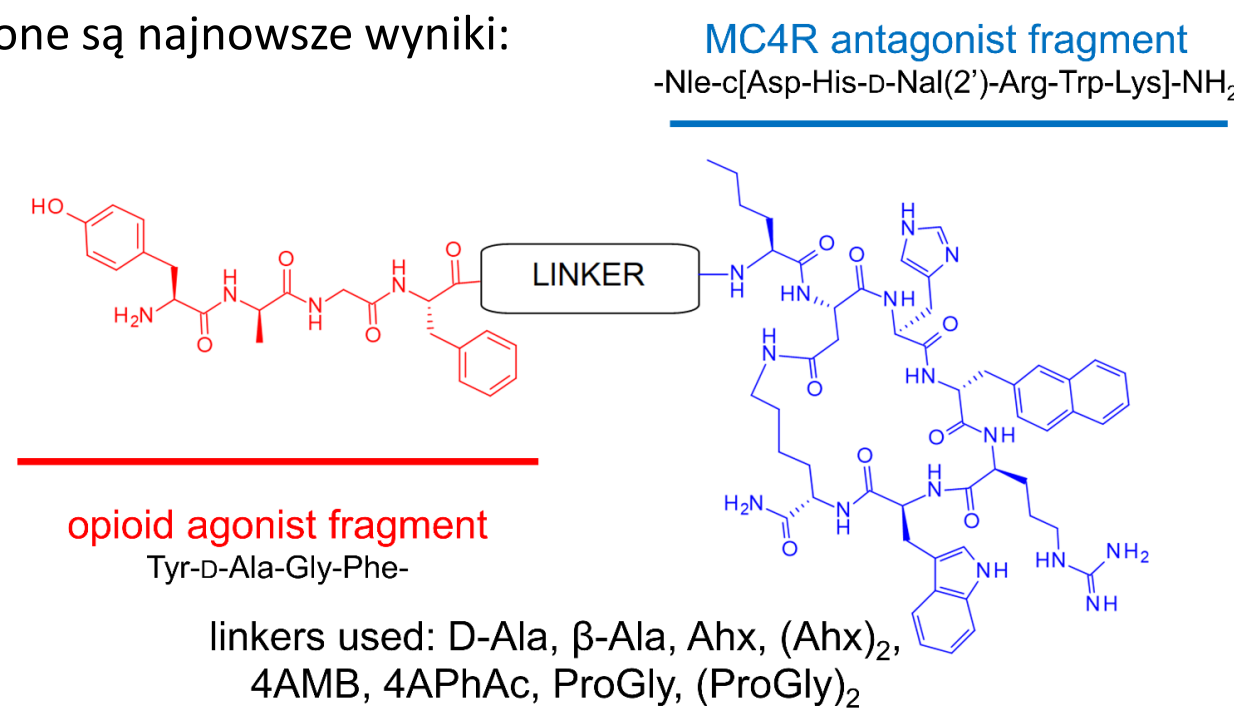


Peptydomimetyki przeciwbólowe - hybrydy opioidowo-melanokortynowe

Ból neuropatyczny jest skutkiem uszkodzenia lub choroby układu nerwowego. Ten szczególny rodzaj bólu często staje się przewlekły, a leki stosowane obecnie w leczeniu przewlekłego bólu na niego ograniczony wpływ. Na przykład stosowanie konwencjonalnych agonistów opioidowych w leczeniu przewlekłego bólu z komponentem neuropatycznym jest ograniczone ze względu na ich słabsze działanie przeciwbólowe i możliwość wystąpienia niepożądanych działań ubocznych, takich jak depresja oddechu, tolerancja i uzależnienie.

W naszej grupie od kilku lat, we współpracy z prof. dr hab. B. Przewlocką z Instytutu Farmakologii PAN, zajmujemy się hybridami składającymi się z dwóch rodzajów farmakoforów połączonych różnymi rodzajami linkerów. Pierwszy farmakofor jest agonistą opioidów, a drugi farmakofor jest antagonistą receptora melanokortyny-4.

Poniżej zamieszczone są najnowsze wyniki:

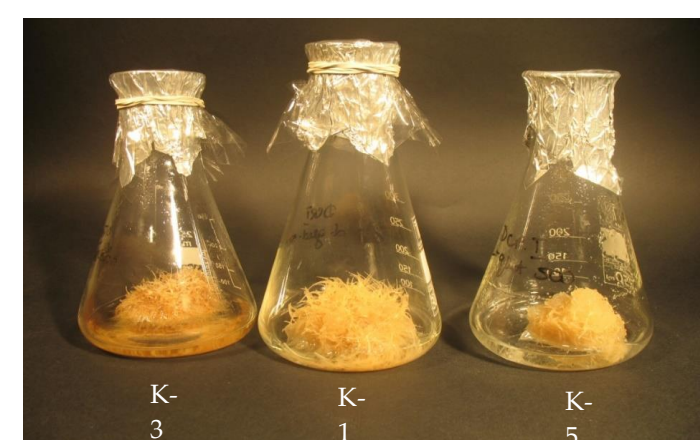
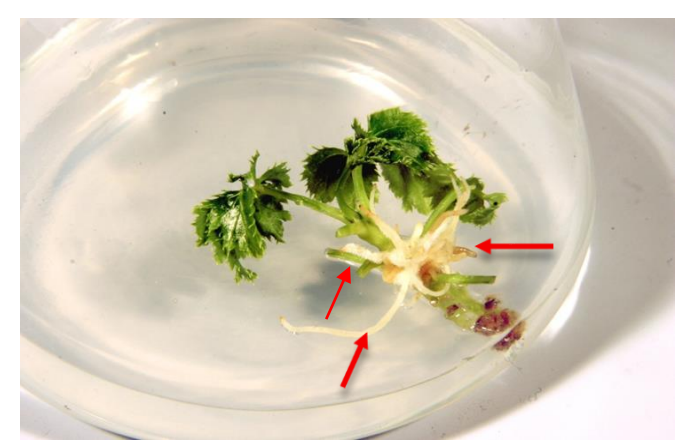


- hybrids with longer flexible linkers very effective in the neuropathic pain model
- activity in neuropathic pain related to a proper balance of receptor affinities

Zastosowanie spektrometrii mas do profilowania metabolitów w ekstraktach roślinnych

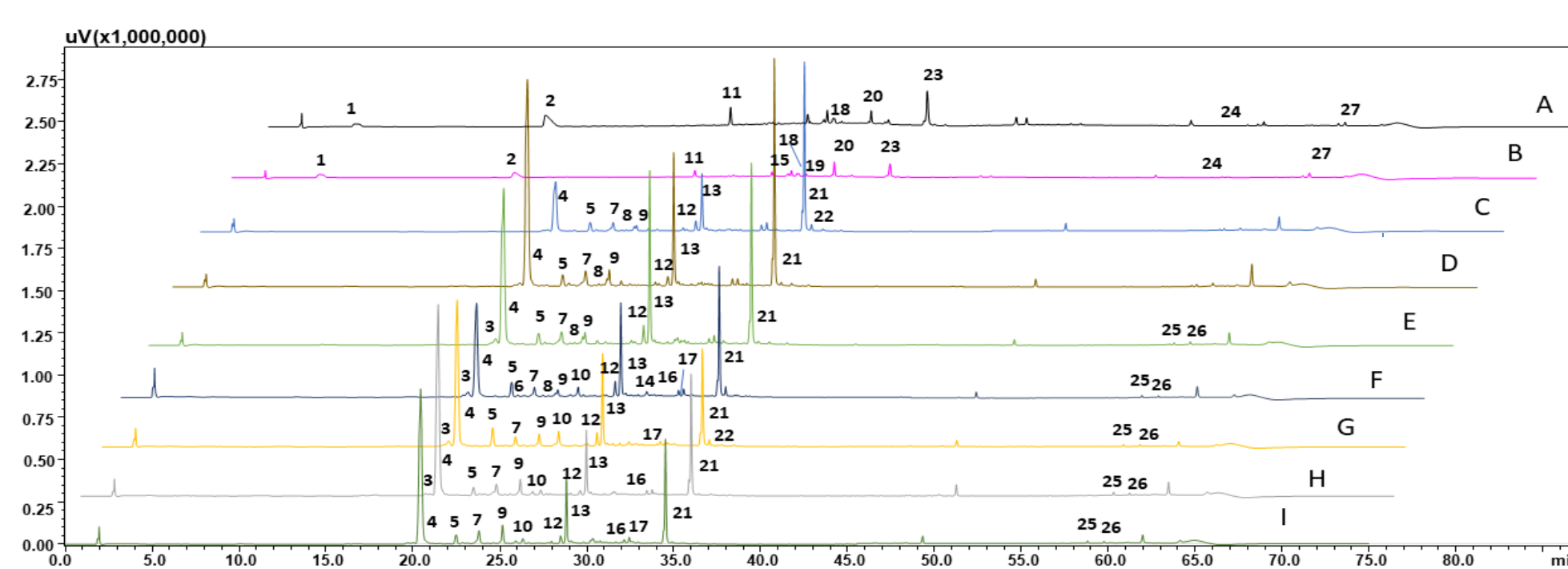
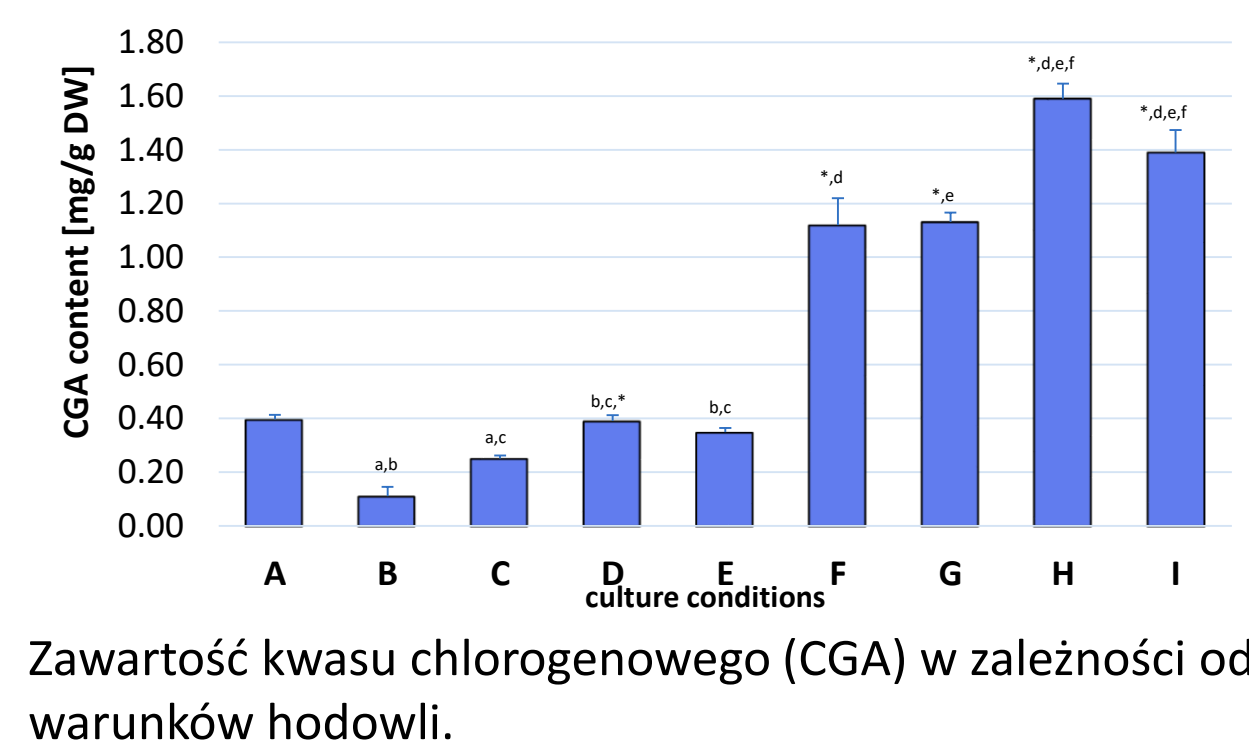
dr inż. Beata Wileńska

Badania prowadzone były we współpracy z Warszawskim Uniwersytem Medycznym, Wydziałem Farmaceutycznym, których celem było zbadanie zmian w profilu fitochemicznym i metabolicznym kultury korzeni włośchatych *Polyscias filicifolia* pod wpływem elicytacji. Rośliny z rodzaju *Polyscias* stosowane są w medycynie tradycyjnej w leczeniu różnych dolegliwości, m.in. otępienia, choroby psychicznej. Uważa się, że posiadają właściwości przeciwpalnicze, przeciwbakteryjne i adaptogenne.



Korzenie wyrastające z pędów zakażonych *Agrobacterium rhizogenes* ATCC 15834 po 4 tygodniach hodowli.

Trzy wyselekcjonowane linie korzeni owłosionych *Polyscias filicifolia* uzyskane w wyniku transformacji przeprowadzonej szczepem *Agrobacterium rhizogenes* ATCC 15834.



Chromatogramy HPLC-PDA-ESI-MS ekstraktu metanolowego pochodzącego z włośchatych korzeni hodowanych w różnych warunkach hodowli: (A) korzenie kontrolne zebrane po 10 dniach hodowli; (B) korzenie kontrolne zebrane po 20 dniach hodowli; (C) korzenie kontrolne zebrane po 30 dniach hodowli; (D) korzenie kontrolne zebrane po 40 dniach hodowli; (E) korzenie kontrolne zebrane po 50 dniach hodowli; (F) owłosione korzenie po 3 dniowej elicytacji z 50 μM MeJA; (G) owłosione korzenie po 7 dniowej elicytacji z 100 μM MeJA; (H) owłosione korzenie po 1 dniowej elicytacji z 100 μM MeJA 100, a następnie przeniesione do pożywki kontrolnej na 30 dni hodowli; (I) włoścате korzenie po 7 dniowej elicytacji z 100 μM MeJA 100, a następnie przeniesione do pożywki kontrolnej na 30 dni hodowli.

Wykorzystując wysorozdzielczy spektrometr mas – LCMS-IT-TOF (Shimadzu), dla poszczególnych pików na powyższym chromatogramie, zostały zaproponowane struktury związków z dokładnością pomiaru masy poniżej 5ppm. W dalszych badaniach zaproponowane struktury będą weryfikowane.

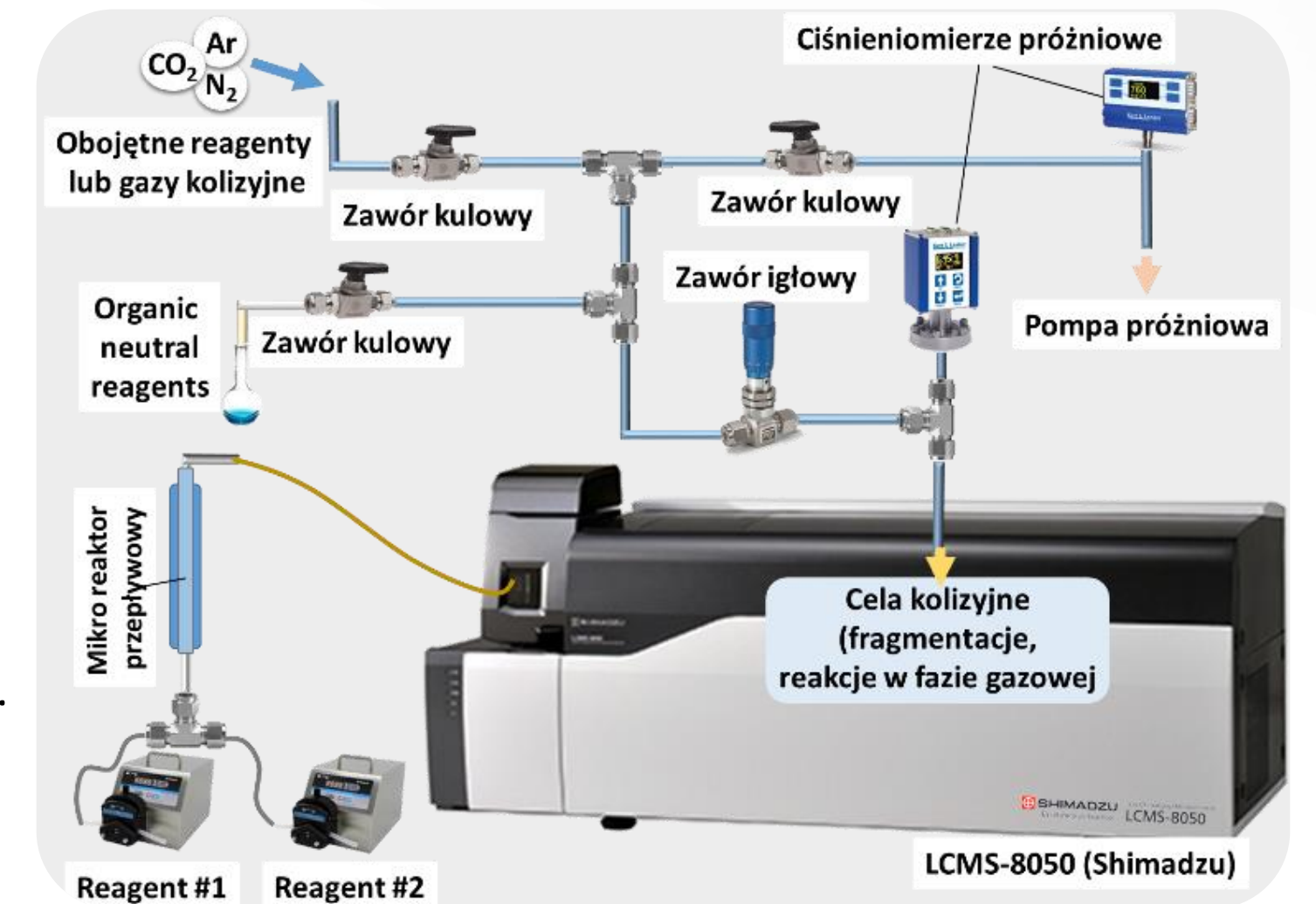
Badania mechanizmów reakcji technikami spektrometrii mas i metodami obliczeniowymi

dr Kacper Błaziak, Kinga Podgórniki

Badania mechanizmów reakcji z wykorzystaniem zaawansowanych technik spektrometrii mas i metod obliczeniowych.

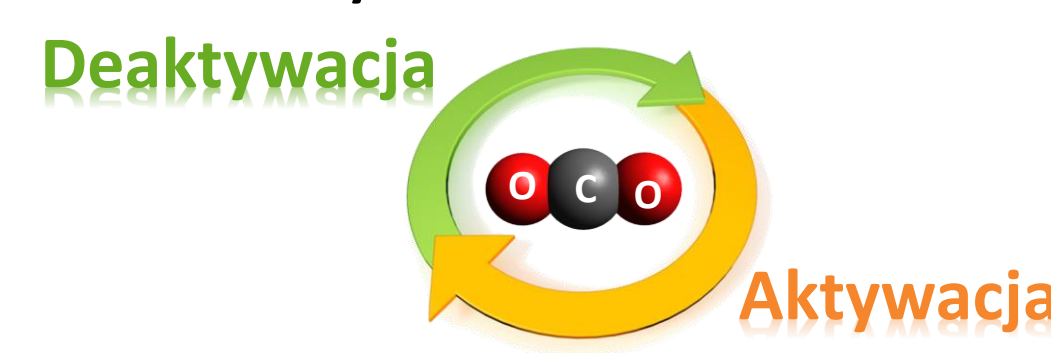
Unikatowa aparatura pomiarowa skonstruowana w oparciu o komercyjny spektrometr LCMS-8050 daje możliwość na kontrolowane wprowadzenie substratów reakcji do celi kolizyjnej spektrometru oraz wykonanie m.in. następujących badań:

- Monitorowanie reakcji w roztworze z wykorzystaniem detektora mas i reaktora przepływowego.
- Prowadzenie reakcji w fazie gazowej, w celi kolizyjnej spektrometru.
- Wyznaczenie energii aktywacji reakcji w fazie gazowej.
- Pomiar energii wiązań kowalencyjnych i niekowalencyjnych.



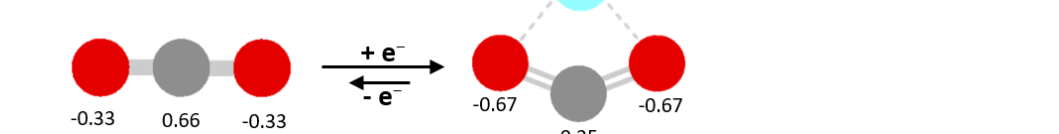
Aparatura wykorzystywana jest do pomiarów modelowych reakcji m.in. typu Gringarda, dekarboksylacji, Criegee'a, Lawesson'a.

Aktywacja i transformacja cząsteczek CO₂ oraz grup karboksylanowych w obecności pojedynczych centrów metalicznych.

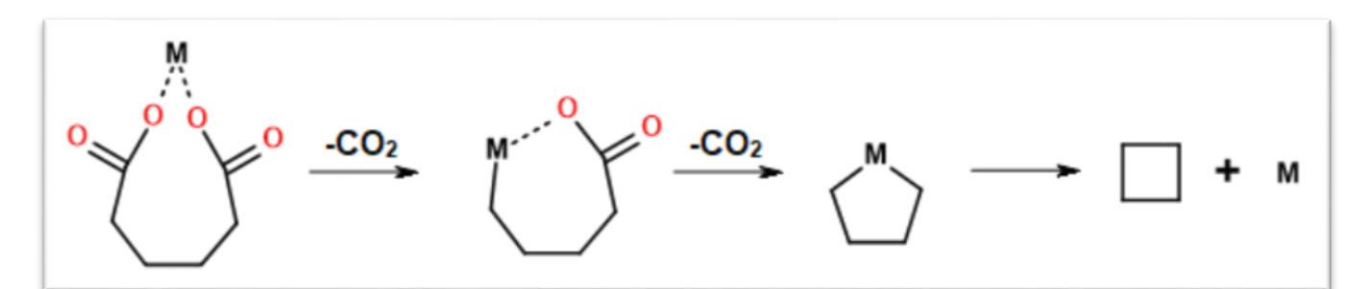


W celu rozpoznania zdolności katalitycznych wybranych centrów metalicznych, prowadzone są zarówno pomiary technikami spektrometrycznymi jak i obliczenia kwantowo-chemiczne wymagają energetycznych modelowych reakcji w fazie gazowej.

- Aktywacja dwutlenku węgla na pojedynczych atomach metali – analiza aktywności centrów metalicznych w reakcjach kompleksowania CO₂.

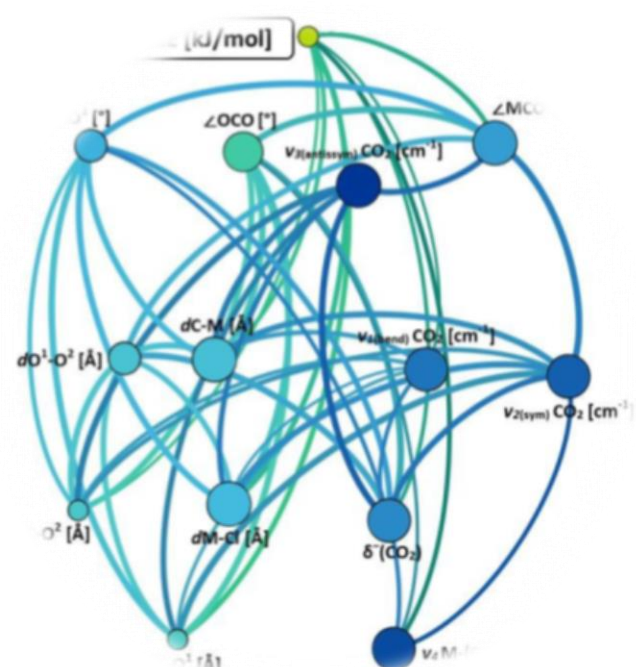


- Reakcje dekarboksylacji prowadzące do powstania związków metaloorganicznych w fazie gazowej – perspektywa Gringarda.



Badania mechanizmów reakcji starzenia się aerozolu atmosferycznego z wykorzystaniem technik obliczeniowych chemii kwantowej i metod statystycznych.

- W tej części badań w celu określenia kluczowych właściwości fizyko-chemicznych wybranych składników aerosolu atmosferycznego wykorzystywane są techniki obliczeniowe chemii kwantowej (metody DFT, *ab initio*, MCSCF) oraz metody statystyczne.



Badania prowadzone w ramach grantu badawczego OPUS NCN, pt. "Badania laboratoryjne i terenowe procesów starzenia się wtórnego aerozolu organicznego (SOA) w atmosferze na obszarach pozamiejskich", realizowanego w ramach konsorcjum wraz z Instytutem Chemii Fizycznej PAN oraz Instytutem Ochrony Środowiska – Instytutem Badawczym.

Fascynujący świat foldamerów oligomocznikowych i ich pochodnych

dr hab. Karolina Pułka-Ziach

dr Naveen Gupta, mgr Paulina Bachurska-Szpała, mgr Katarzyna Kędzia, Rafał Chojnacki

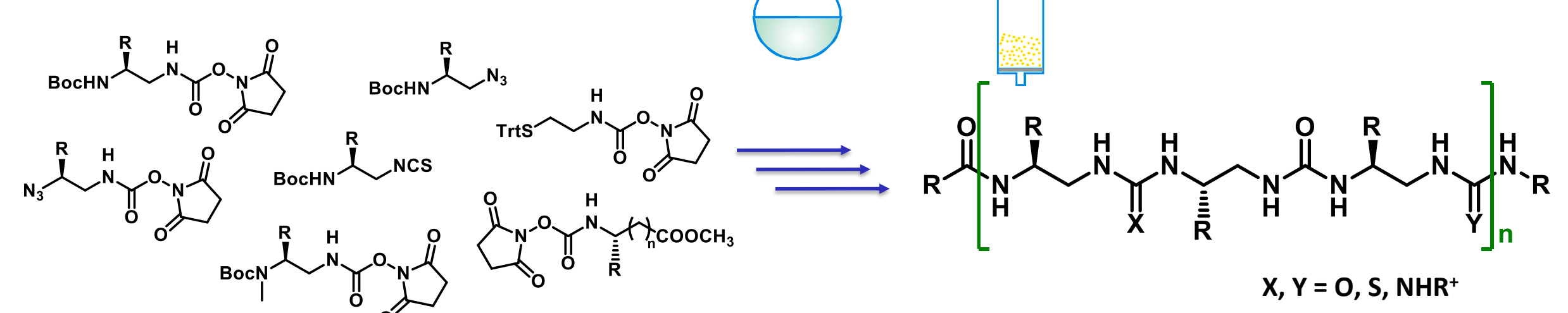
Finansowanie – granty: OPUS 10, SONATA BIS 7

Współpraca naukowa z grupą prof. Sławomira Sęka (CNBCH UW) oraz prof. Gillesa Guicharda (IECB)

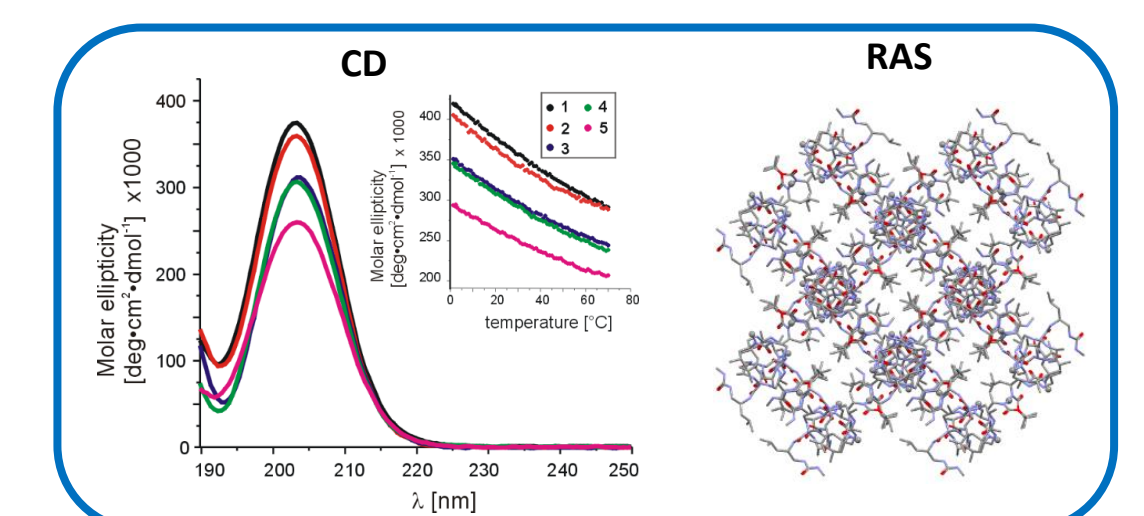
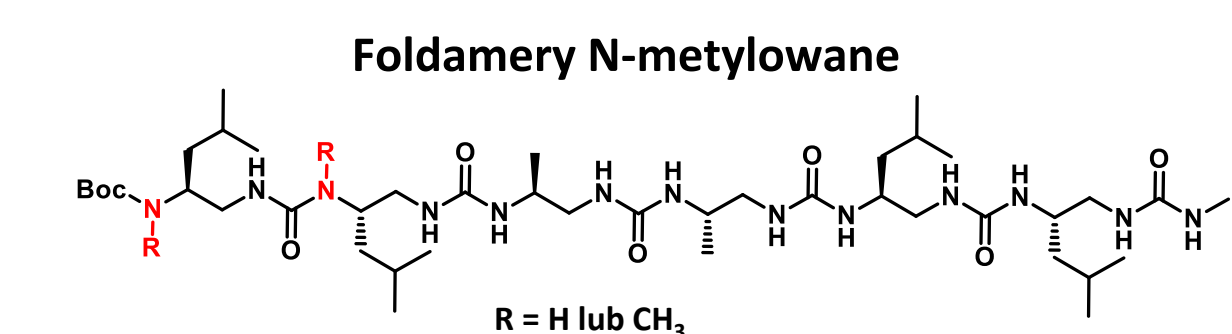
Foldamery to nienaturalne oligomery, które przyjmują dobrze zdefiniowane, specyficzne i przewidywalne struktury II-rzędowe.

Oligomoczniki to foldamery zbudowane z jednostek połączonych grupami mocznikowymi, związując się w helisy typu 2.5, stabilizowane 3-centrowym wiązaniem wodorowym.

Synteza oligomoczników i ich pochodnych w oraz na w środowisku mikrofal

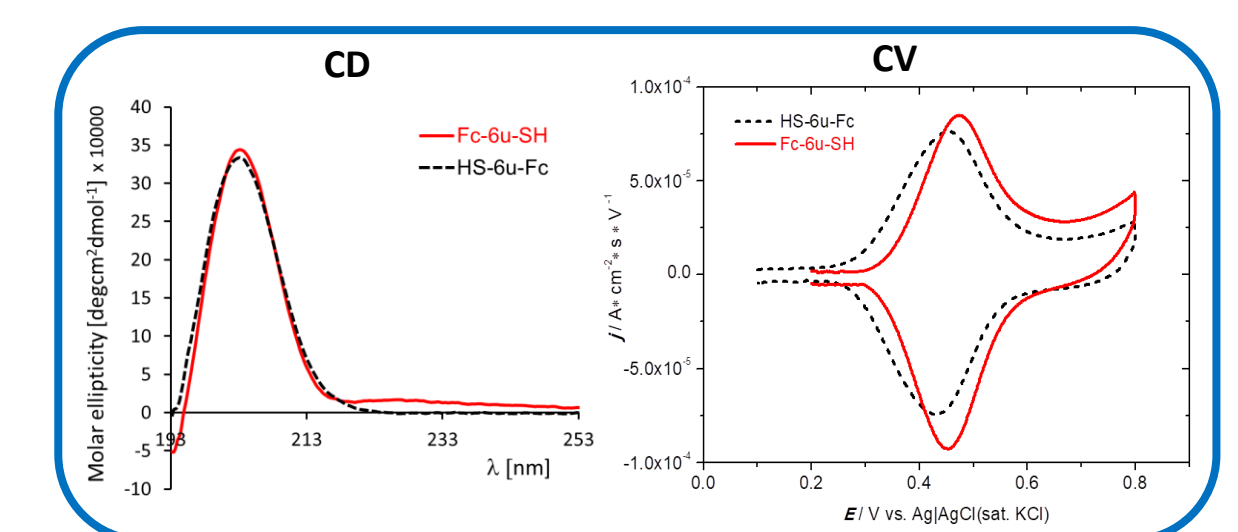
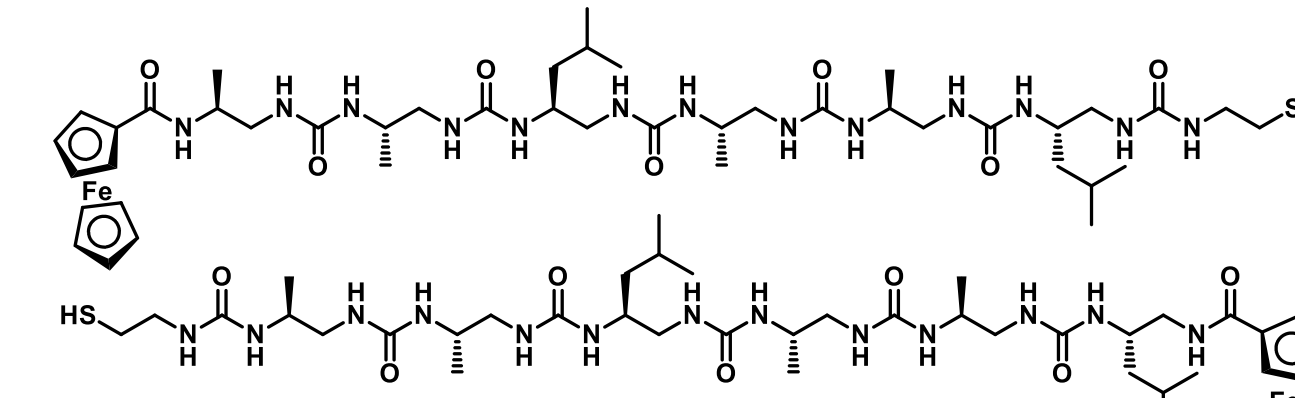


Wpływ budowy foldameru oligomocznikowego na strukturę II-rzędową oraz właściwości fizykochemiczne



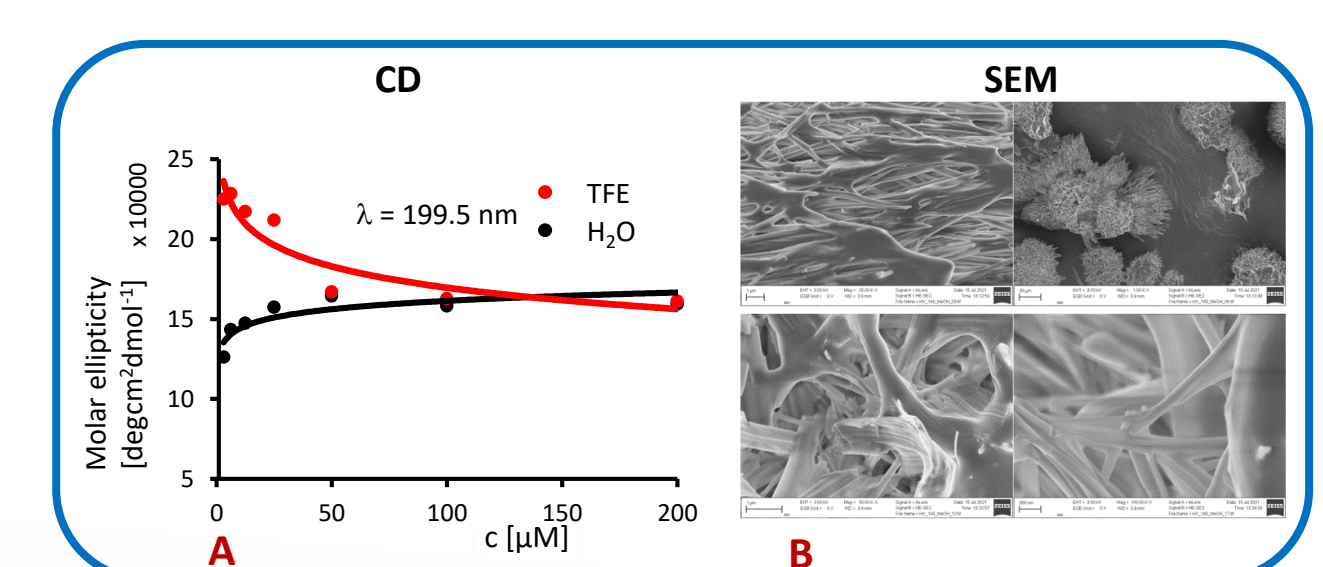
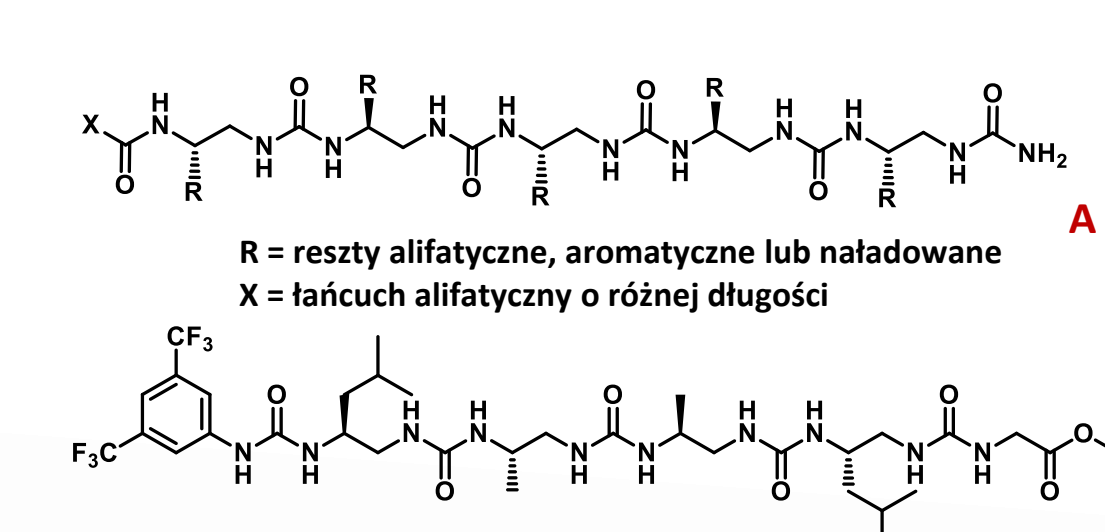
- N-metylowane na N-końcu foldamery oligomocznikowe zachowują strukturę helikalną, ale charakteryzują się zwiększoną labilnością konformacyjną w roztworze w stosunku do związków wyjściowych.

Foldamery elektrochemicznie aktywne



- Kierunek momentu dipolowego cząsteczki względem podłoża wpływa na zachowanie elektrochemiczne monowarstw złożonych z oligomoczników osadzonych na elektrodzie złotej.

Foldamery samoorganizujące do struktur wyższego rzędu



- Foldamery oligomocznikowe wykazują tendencję do samoorganizacji ze względu na międzycząsteczkowe oddziaływania hydrofobowe oraz wiązania wodorowe.

Pracownicy

dr hab. Karolina Pułka-Ziach

dr Kacper Błaziak

dr Anna Puszko

dr Dagmara Tymecka

dr inż. Beata Wileńska

dr Naveen Gupta (post-doc)



Doktoranci

mgr Paulina Bachurska-Szpala

mgr Katarzyna Kędzia

mgr Katarzyna Masłowska (RadFarm)

mgr Radosław Piast (MISDoMP)

Studenci

Natalia Gędek, Karolina Kędzińska, Oliwia Agajew,

Kinga Podgórnica, Michał Dudziński

Publikacje

1. A. Piotrowska, J. Starnowska-Sokół, W. Makuch, J. Mika, E. Witkowska, D. Tymecka, A. Ignaczak, B. Wilenska, A. Misicka, B. Przewlocka, *Novel bifunctional hybrid compounds designed to enhance the effects of opioids antagonize the pronociceptive effects of nonopioid peptides as potent analgesics in a rat model of neuropathic pain*, Pain, 162(2), 432-445 (2021), IF=6,029
2. K. Masłowska, P.K. Halik, D. Tymecka, A. Misicka, E. Gniazdowska, *The Role of VEGF Receptors as Molecular Target in Nuclear Medicine for Cancer Diagnosis and Combination Therapy*, Cancers (article in Special Issue Combination Therapies in Cancers), 13(5), pp. 1-46, 1072 (2021), IF= 6.126
3. G.W. Collie, C. M. Lombardo, S. H. Yoo, K. Pułka-Ziach, V. Gabelica, C.D. Mackereth, F. Rosu, G. Guichard, *Crystal structures capture multiple stoichiometric states of an aqueous self-assembling oligoureic foldamer*, Chemical Communications, 57, 9514-9517 (2021) IF = 6.222
4. Y.S. Lee, M. Remesic, C. Ramos-Colon, Z. Wu, J. LaVigne, G. Molnar, D. Tymecka, A. Misicka, J.M. Streicher, V.J. Hruby, F. Porreca, *Multifunctional enkephalin analogs with a new biological profile: MOR/DOR agonism and KOR antagonism*, Biomedicines, 9(6), 625 (2021), IF=6.081
5. A.K. Puszko, P. Sosnowski, R. Rignault-Bricard, O. Hermine, G. Hopfgartner, K. Pułka-Ziach, Y. Lepelletier, A. Misicka, *Urea-peptide hybrids as VEGF-A₁₆₅/NRP-1 complex inhibitors with improved receptor affinity and biological properties*, International Journal of Molecular Sciences, 22(1), 72 (2021), IF= 5.923
6. D. Tanács, R. Berkecz, A. Misicka, D. Tymecka, F. Fülöp, D.W. Armstrong, I. Ilisz, A. Péter, *Enantioseparation of β²-amino acids by liquid chromatography using core-shell chiral stationary phases based on teicoplanin and teicoplanin aglycone*, Journal of Chromatography A, 1653, 462383 (2021), IF=4,049
7. R.W. Piast, R.M. Wiczorek, N. Marzec, M. Garstka, A. Misicka, *Phage display identified short peptide capable of hydrolyzing calcium pyrophosphate crystals - the etiological factor of chondrocalcinosis*, Molecules, 26, 5777 (2021), IF= 4.411
8. B. Witkowski, J. Chi, P. Jain, K. Błaziak, T. Gierczak, *Aqueous OH kinetics of saturated C₆-C₁₀ dicarboxylic acids under acidic and basic conditions between 283 and 318 K; new structure-activity relationship parameters*, Atmospheric Environment, 267, 118761 (2021), IF= 4.798
9. A. Jezierska, K. Błaziak, S. Klahm, A. Lüchow, J.J. Panek, *Non-covalent forces in naphthazarin—cooperativity or competition in the light of theoretical approaches*, International Journal of Molecular Sciences, 22(15), 8033 (2021), IF= 4.556
10. K. Burdach, D. Tymecka, A. Urban, R. Lasek, D. Bartosik, S. Sęk, *Interactions of linear analogues of battacin with negatively charged lipid membranes*, Membranes, 11(3), 192, (2021), IF= 3.987
11. I. Baranowska, O. Gawrys, M.M. Roszkowska-Chojecka, B. Badzyska, D. Tymecka, K.H. Olszynski, E. Kompanowska-Jezińska, *Chymase dependent pathway of Angiotensin II generation and rapeseed derived peptides for antihypertensive treatment of spontaneously hypertensive rats*, Frontiers in Pharmacology, 12, 658805 (2021), IF = 5.810
12. D. Dziubak, A.K. Puszko, P. Bachurska, K. Pułka-Ziach, S. Sęk, *Oligoureic molecular lifter triggered by electric field*, Electrochimica Acta, 403, 139634, (2022), IF = 6.901
13. K. Masłowska, E. Witkowska, D. Tymecka, P.K. Halik, A. Misicka, E. Gniazdowska, *Synthesis, Physicochemical and Biological Study of Gallium-68- and Lutetium-177-Labeled VEGF-A₁₆₅/NRP-1 Complex Inhibitors Based on Peptide A7R and Branched Peptidomimetic*, Pharmaceutics, 14(1), 100, (2022), IF= 5.863
14. A. Śliwińska, R. Figat, A. Zgadzaj, B. Wileńska, A. Misicka, G. Nałęcz-Jawecki, A. Pietrosiuk, K. Sykłowska-Baranek, *Polyscias filicifolia (Araliaceae) Hairy Roots with Antigenotoxic and Anti-Photogenotoxic Activity*, Molecules 27, 186 (2022), IF=4,411
15. E. Witkowska, M. Godlewska, J. Osiejuk, S. Gątarz, B. Wileńska, K. Kosińska, J. Starnowska-Sokół, A. Piotrowska-Murzyn, P.F.J. Lipiński, J. Matalińska, J. Dyniewicz, P.K. Halik, E. Gniazdowska, B. Przewlocka, A. Misicka, *Bifunctional opioid / melanocortin peptidomimetics for use in neuropathic pain: variation in the type and length of the linker connecting the two pharmacophores*, International Journal of Molecular Sciences (Section Molecular Pathology, Diagnostics, and Therapeutics, Special Issue Dual Targeting as a Strategy to Counteract Chronic Diseases), 23 (2), 674, (2022), IF= 5.923

Tematyka badań:

Chemia peptydów i peptydomimetyków

- Projektowanie, synteza i badania konformacyjne peptydomimetyków o działaniu antyangiogennym
- Synteza, badania konformacyjne i właściwości foldamerów oligomocznikowych i ich pochodnych
- Helikalne foldamery jako związki modelowe do badania daleko zasięgowego transportu elektronów
- Badania stabilności peptydomimetyków w płynach fizjologicznych za pomocą HPLC-MS
- Zastosowanie znakowanych radioizotopowo peptydomimetycznych inhibitorów kompleksu VEGF/NRP-1 jako wektorów do obrazowania patologicznej angiogenezy związanej z wczesnymi stadiami formowania się nowotworów złośliwych
- Synteza peptydów bifunkcyjnych o potencjalnej aktywności przeciwbólowej
- Badania aktywności związków wykazujących potencjalne właściwości antyangiogenne za pomocą metod immunoenzymatycznych oraz badań *in vitro*
- Zastosowanie metod spektrometrii mas do identyfikacji metabolitów w próbkach pochodzenia roślinnego i zwierzęcego
- Projektowanie minimalnych enzymów zdolnych do przenoszenia grup fosforanowych
- Badania mechanizmów reakcji technikami spektrometrii mas i metodami obliczeniowymi.
- Aktywacja i transformacja cząsteczki CO₂ oraz grup karboksylanowych w obecności pojedynczych centrów metalicznych.

Finansowanie

- BST-501/1000336/2021, prof. dr hab. Aleksandra Misicka-Kęsik, „Chemia peptydów i peptydomimetyków”
- Grant NCN, Opus 17, nr projektu 2019/33/B/NZ7/02818, prof. dr hab. Aleksandra Misicka-Kęsik, „Radioizotopowo znakowane peptydomimetyczne inhibitory kompleksu VEGF/NRP-1 do obrazowania patologicznej angiogenezy związanej z wczesnymi stadiami formowania się nowotworów złośliwych”,
- Grant NCN, Opus 10, nr projektu 2015/19/B/ST5/00700, dr hab. Karolina Pułka-Ziach, „Helikalne foldamery jako związki modelowe do badania daleko zasięgowego transportu elektronów”,
- Grant NCN, Sonata Bis 7, nr projektu 2017/26/E/ST5/00559, dr hab. Karolina Pułka-Ziach „Foldamerowe mimetyki alfa helis - synteza, samoorganizacja i rozpoznanie molekularne”,
- Grant NCN, Preludium 13, nr projektu 2017/25/N/NZ7/00960, mgr Radosław Piast, „Ewolucja kierunkowa peptydów zdolnych do rozpuszczania kryształów dwuwodnego pirofosforanu wapnia - czynnika etiologicznego dny rzekomej”
- Grant NCN, Opus 21, 2021/41/B/ST10/02748, KONSORCJUM - kierownik z ramienia Wydziału Chemii UW – dr Kacper Błaziak, „Badania laboratoryjne i terenowe procesów starzenia się wtórnego aerozolu organicznego (SOA) w atmosferze na obszarach pozamiejskich”

Prace magisterskie zakończone w 2020/2021 r.

1. Dominika Wodowska „Badania nad wykorzystaniem amidów jako syntetycznych ekwiwalentów nietrwałych aldehydów fluorooctowych” (współpromotor prof. dr hab. Bartłomiej Furman)
2. Rafał Chojnacki „Synteza i badania stabilności konformacyjnej foldamerów tiomocznikowo-mocznikowych”
3. Aleksandra Płoska „Synteza oraz badanie *in vitro* stabilności metabolicznej krótkich lipopeptydów w ludzkiej surowicy krwi”

Prace licencjackie zakończone w 2020/2021 r.

1. Paulina Traczyk „Synteza analogów peptydomimetyku Lys(hArg)-Dab-Pro-Arg-OH zawierających modyfikację w pozycji C-końcowej argininy”
2. Przemysław Sałański „Karbaminianowe bloki budulcowe do syntezy helikalnych foldamerów oligomocznikowych”
3. Kamil Budziak „Synteza analogów peptydomimetyku Lys(Har)-Dap-Pro-Arg-OH zawierających modyfikację w pozycji C-końcowej argininy”