

Bruckner-termi előadás

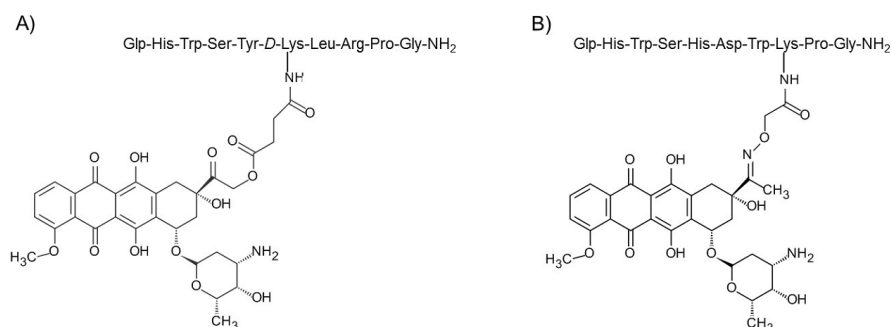
Mező Gábor

■ ELTE TTK Szerves Kémiai Tanszék
■ MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport

Variációk egy témára: gyógyszerek célba juttatása peptidekkel¹

A Nemzetközi Rákkutatási Ügynökség (IARC) legfrissebb tanulmánya szerint 2018-ban a becsült rákos megbetegedések száma 18,1 millióra, a halálozások száma pedig 9,6 millióra tehető, ezzel a rák a második leggyakoribb halálozási ok világszerte. Ezek alapján feltételezhető, hogy az évente regisztrált új esetek száma 2040-ig 29,5 millióra emelkedik. Bár jelentős fejlesztések történtek a rák gyógyításának területén, a további lehetőségek kutatása elengedhetetlen annak érdekében, hogy a halálozások száma ne emelkedjen ebben az ütemben. Az egyik lehetőség, amitől a szakemberek sokat várnak, a személyre szabott célzott kemoterápiás kezelés. A módszer Paul Ehrlich 1900-as évek elején megfogalmazott „mágikus golyó” (Magic Bullet) elméletéből ered, aki azt feltételezte, hogy a kórokozók felszínén olyan patogénekre jellemző oldalláncok (receptorok) vannak, melyek az egészséges sejtek felszínén nem találhatók meg. Így ha ezeket tudjuk támadni (elmélete szerint ellenanyagokkal), akkor az egészséges sejtek megkímélése mellett szelektíven elpusztíthatók a kórokozók. Majdnem 100 évnek kellett eltelnie, hogy ez az elv forradalmasítsa a tumorterápiát. Ma már az ellenanyagok fontos elemei a tumorok terápiás kezelésének. Mivel az ellenanyagok nagy specificitással ismerik fel a tumorsejteket, ezért arra gondoltak, hogy ha ezekhez ismert rákellenes szereket kapcsolnak, akkor az előállított ellenanyag-hatóanyag konjugátumok (antibody-drug conjugates; ADCs) még hatékonyabbak lehetnek az egyszerű ellenanyag-terápiánál [1]. Eddig négy ilyen konjugátum került forgalomba, de a siker nem áttörő. Az ADC-k előnye a nagy specificitás mellett a hosszú élettartam a véráramban

¹ Az ideai Zemplén Géza-fődíjas Mező Gábor előadásának szerkesztett változata.

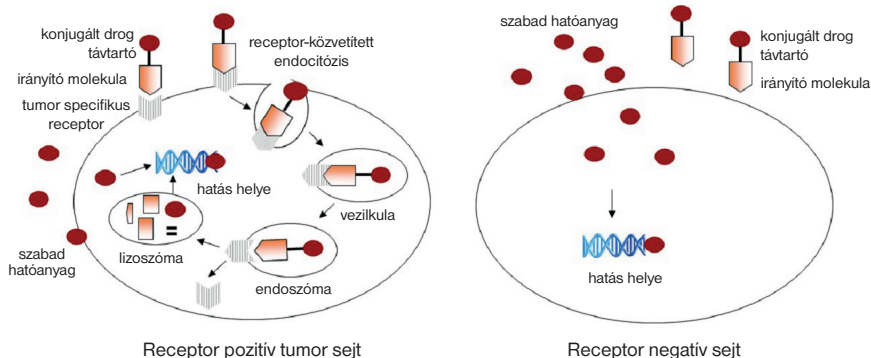


1. ábra. A Zoptarelin-doxorubicin (A) és a GnRH-III(Dau-Aoa) (B) sematikus szerkezeti ábrája

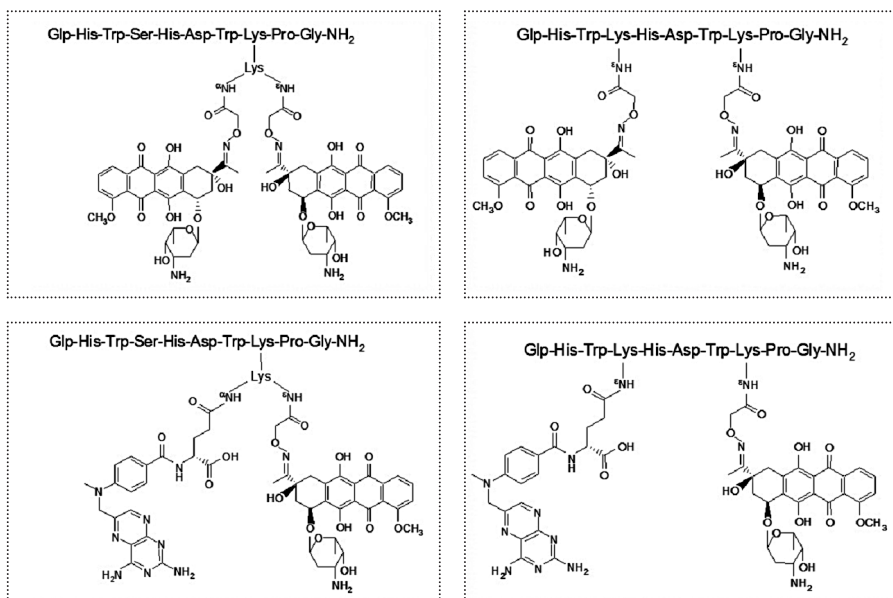
(akár hetek is), de alacsony a tumorszövet-permeabilitásuk, kevés hatóanyag kapcsolható hozzájuk és magas a költségük. Ezért egyre többen foglalkoznak olyan konjugátumok előállításával, amelyekben az irányító egység egy kis molekula (pl. folsav, peptidek). Ezek a kismolekula-hatóanyag konjugátumok (SMDCs) szintén nagy specificitással ismerhetik fel a tumorsejteket, nagyobb a szövet-permeabilitásuk, méretükhöz képest nagy a hatóanyag-tartalmuk és lényegesen olcsóbb az előállításuk [2]. Azonban a szervezetben gyorsan lebomlnak és kiürülnek. Jelenleg több ilyen molekula van a klinikai vizsgálat 3. fázisában, de piacra még nem kerültek. Az egyik ilyen ígéretesnek gondolt konjugátum, a Zoptarelin-doxorubicin (1A ábra) volt, ez azonban megbukott a 3. fázisban, mert nem bizonyult jobb és/vagy szelektívebb hatásúnak, mint a szabad hatóanyag [3]. Ennek oka lehet a hatóanyag és az irányító hatású GnRH (gonadotropin-releasing hormon) közötti észterkötés, ami nem elég stabil a véráramban, így észterázok hatására még a célba jutás előtt elbomolhat.

Az általunk követett koncepcióban a humán GnRH-I agonista peptidet egy másik, természetben előforduló GnRH-analógra

cseréltük, amelyet a nagy tengeri ingólából izoláltak (GnRH-III), és amelynek a szekvenciája csak a decapeptid 5–8 aminosavjában tér el (1/B ábra). Ennek a hormonpeptidnek az endokrin aktivitása 2–3 nagyságrenddel kisebb emlősökön, mint a GnRH-I peptidé. Így hordozóként történő alkalmazása során hormonális mellékhatás nem lép fel. Továbbá a szekvencia 8. pozíciójában található egy lizin, amelynek oldalláncja lehetséges konjugálási hely, így nem szükséges erre alkalmas aminosav külön beépítése. Hatóanyagként pedig daunorubicint (Dau) kapcsolunk a peptidhez oximkötéssel aminosavacetil (Aoa) linken keresztül [4]. Az oximkötés stabil semleges körülmények között (pl. a véráramban), így nem kell az idő előtti bomlással és így a felszabaduló szabad hatóanyag toxikus mellékhatásával számolni [5]. A tumorsejtbe receptor közvetített endocitózissal bejutó konjugátum a lizoszómákban lebomlik, és a keletkező metabolit (ebben az esetben H-Lys(Dau=Aoa)-OH) kifejtheti tumorellenes hatását (2. ábra). Mivel a keletkező metabolit kötődik a DNS-hez, de kisebb affinitással, mint a szabad Dau, ezért ezek a konjugátumok kevésbé aktívak, mint azok (észter-, hidrazonkötés, „self immolative spacer”) [6], amelyekből a sza-



2. ábra. A hatóanyag – irányító peptid konjugátumok szelektív hatása tumorsejteken



3. ábra. Két azonos, illetve különböző hatóanyagot tartalmazó konjugátumok

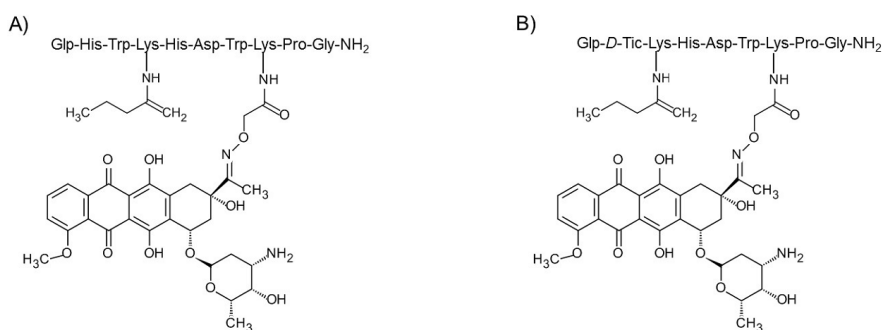
bad hatóanyag felszabadul. Viszont az oximkötést tartalmazó konjugátumok széles terápiás ablakkal rendelkeznek, előállításuk egyszerű és nagy mennyiségben is megoldható gazdaságosan.

Annak érdekében, hogy a konjugátum hatékonyságát javítsuk, többféle módosítást hajtottunk végre. Korábbi tapasztalataiból tudtuk, hogy a GnRH-III 4-es pozícióban a Ser kicserélhető Lys-re, így újabb konjugációs helyet tudunk a peptidbe beépíteni. Ezáltal többféle, két azonos vagy két

különböző hatóanyagot (Dau és methotrexát, Mtx) tartalmazó konjugátumot tudunk előállítani (3. ábra), amelyek bizonyos tumortípusokon hatékonyabbnak bizonyultak [7,8].

Jelentős előrelépést jelentett az a megfigyelés, hogy ha a 4-es pozícióba beépített Lys oldalláncát acilezzük rövid szénláncú zsírsavakkal, akkor a konjugátum enzimekkel szembeni stabilitása nő, és egyben a tumorsejtek általi felvétel is megnő. Az optimális szerkezetnek a vajsavval mó-

4. ábra. A két leghatékonyabbnak bizonyult GnRH-III–daunorubicin konjugátum sematikus szerkezete



dosított konjugátum bizonyult (4/A ábra), amely nemcsak *in vitro*, de *in vivo* körülmények között is igen hatékony [9,10]. Ebből a vezérmolekulából próbáltunk még még hatékonyabbakat előállítani a GnRH-III szekvenciájában lévő aminosavak nem természetes aminosavakkal történő cseréjével. Végül a leghatékonyabb konjugátumnak az bizonyult, amelyben a 2. és 3. pozícióban található His-t és Trp-t egy D-Tic (1,2,3,4-tetrahidroizokinolin-3-karbonsav) aminosavra cseréltük (Glp-D-Tic-Lys(Bu)-His-Asp-Trp-Lys(Dau=Aoa)-Pro-Gly-NH₂, ahol Glp = piroglutaminsav) [11]. Ennek a konjugátumnak már mind az *in vitro*, mind az *in vivo* tumorelles hatása megközelíti azonos konjugátumok hatékonyságát, amelyekből a szabad hatóanyag felszabadul, de toxikus mellékhatása elenyésző azokhoz képest (4/B ábra).

A célzott tumorterápiára alkalmas konjugátumok tervezése komplex feladat, amely során nemcsak a kémiai szempontokat kell figyelembe venni, hanem azokat a biológiai folyamatokat (stabilitás, receptorkötődés, sejtbjutás, metabolizmus) is, amelyek jelentősen befolyásolják egy konjugátum hatékonyságát. Tízéves munkánk ezen a tudományterületen, amelyet legjobban publikációink segítségével lehet nyomon követni, számos megfigyeléssel és vegyülettel gazdagította a célzott tumorterápiára irányuló kutatások tárházát.

IRODALOM

[1] Mukherjee A, Waters AK, Babic I, Nurmemmedov E, Glassy MC, Kesari S, Yenugonda VM, Hum Antibodies (2019) 27, 53–62.
 [2] Zhuang C, Guan X, Ma H, Cong H, Zhang W, Miao Z, Eur J Med Chem. (2019) 163, 883–895.
 [3] <https://www.businesswire.com/news/home/20170501005409/en/Aeterna-Zentaris-Announces-ZoptEC-Phase-3-Clinical>
 [4] Szabó I, Manea M, Orbán E, Csámpai A, Bősze S, Szabó R, Tejada M, Gaál D, Kapuvári B, Przybylski M, Hudecz F, Mező G, Bioconjug Chem (2009) 20, 656–665.
 [5] Orbán E, Mező G, Schlage P, Csík G, Kulić Z, Ansonge P, Fellingner E, Möller HM, Manea M, Amino Acids (2011) 41, 469–483.
 [6] Schlage P, Mező G, Orbán E, Bősze S, Manea M, J Control Release (2011) 156, 170–178.
 [7] Leurs U, Mező G, Orbán E, Öhlschlager P, Marquardt A, Manea M, Biopolymers (2012) 98, 1–10.
 [8] Leurs U, Lajkó E, Mező G, Orbán E, Öhlschlager P, Marquardt A, Kőhidai L, Manea M, Eur J Med Chem (2012) 52, 173–183.
 [9] Hegedüs R, Manea M, Orbán E, Szabó I, Kiss E, Sipos E, Halmos G, Mező G. Eur J Med Chem (2012) 56, 155–165.
 [10] Kapuvári B, Hegedüs R, Schulcz Á, Manea M, Tóvári J, Gacs A, Vincze B, Mező G, Invest New Drugs (2016) 34, 416–423.
 [11] Schuster S, Biri-Kovács B, Szeder B, Buday L, Gardi J, Szabó Z, Halmos G, Mező G, Pharmaceutics (2018) 10, Article No.: 223.