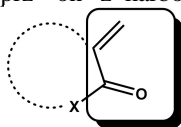


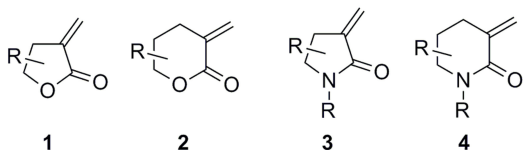
Walka z chorobami nowotworowymi jest jednym z najważniejszych wyzwań medycyny w krajach wysoko rozwiniętych. Poszukiwanie nowych związków o działaniu przeciwnowotworowym naukowcy często zwracają uwagę na związki naturalne, izolowane z roślin. Związki takie mogą być używane bezpośrednio lub też mogą stanowić punkt wyjścia do modyfikacji chemicznych, prowadzących niekiedy do bardziej aktywnych analogów o lepszym profilu farmakologicznym. O ogromnej liczbie biologicznie ważnych związków heterocyklicznych pochodzenia naturalnego posiada w swojej strukturze grupę egzo-metylenową sprężoną z karbonylem (Rys. 1).



X = O, NR

**Rys. 1.** Motyw strukturalny egzo-metylenowego wiązania sprężonego z grupą karbonylową.

Związki posiadające taki motyw występują licznie w roślinach z rodziny Asteraceae (Compositae) i posiadają szerokie spektrum aktywności biologicznej, wykazując działanie przeciwzapalne, antibakteryjne, antywirusowe, przeciwgrzybicze i przeciwnowotworowe. Najbardziej rozpowszechnioną grupą związków z takim ugrupowaniem są  $\alpha$ -metyleno- $\beta$ -laktony (1), ale spotykane są również  $\alpha$ -metyleno- $\gamma$ -laktony (2) oraz  $\alpha$ -metyleno- $\beta$ - i  $\alpha$ -metyleno- $\gamma$ -laktamy (odpowiednio 3 i 4) (Rys. 2).



**Rys. 2.** Struktura  $\alpha$ -metyleno- $\beta$ - i  $\alpha$ -metyleno- $\gamma$ -laktonów i -laktamów.

Związki zawierające ugrupowanie egzo-metylenowe sprężone z grupą karbonylową reagują w reakcji typu Michaela z grupami merkaptylowymi (-SH) reszt cysteiny w enzymach i innych białkach funkcjonalnych, a także z wolnym wewnątrzkomórkowym glutationem, co prowadzi do powstania kowalencyjnych adduktów. Alkylowanie komórkowych tioli zakłóca wiele ważnych procesów w komórkach, przez co może prowadzić do zahamowania proliferacji, indukcji apoptozy.

Najbardziej znanym i najszerzej badanym przedstawicielem związków zawierających motyw egzo-metylenowego wiązania sprężonego z grupą karbonylową jest partenolid, wyizolowany z liści złoćenia maruna (*Tanacetum parthenium*). Związek ten wykazuje silne działanie cytotoksyczne na wielu liniach komórkowych, a jego lepiej rozpuszczalna pochodna, dimetyloaminopartenolid (DMAPT), jest obecnie w Wielkiej Brytanii w trakcie badań klinicznych jako lek na białaczkę. Na poziomie molekularnym partenolid charakteryzuje się wielokierunkowym działaniem, angażując różne czynniki sygnałowe. Jednak najlepiej poznany mechanizm działania tego partenolidu jest hamowanie aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B, którego konstytutywna aktywność i aktywacja pod wpływem chemioterapeutyków jest przyczyną lekooporności w wielu typach nowotworów. Nowa strategia w leczeniu chorób nowotworowych polega na wykorzystywaniu związków o różnych punktach uchwytu w komórce, co znacznie zwiększa skuteczność terapii również w przypadku wrodzonej lub nabytej oporności komórek nowotworowych na stosowane leki. Ze względu na plejotropowe działanie, coraz częściej zwraca się uwagę na potencjalne nowe zastosowanie partenolidu w terapii skojarzonej, jako czynnika uwalniającego komórki nowotworowe na chemio- i radioterapię.

W Zakładzie Chemii Biomolekularnej od kilku lat zajmujemy się badaniami zależności pomiędzy strukturą a aktywnością przeciwnowotworową heterocykli zawierających egzo-metylenowe wiązanie sprężone z grupą karbonylową, syntetyzowanych w Instytucie Chemii Organicznej Politechniki Łódzkiej. Prowadzone przez nas badania przesiewowe (test MTT) na liniach komórkowych raka piersi (MCF-7, MDA-MB-231) oraz białaczki promielocytowej HL-60 i limfoblastycznej NALM-6, pozwoliły nam wyłonić związki o największej cytotoksyczności, które dalej w bardziej szczegółowych testach *in vitro* wykazywały zdolność indukcji apoptozy, a także hamowały migrację komórek nowotworowych oraz obniżają poziom markerów odpowiedzialnych za przerzutowanie.

**Celem naukowym tego projektu jest zbadanie aktywności przeciwnowotworowej dwóch serii  $\alpha$ -metyleno- $\beta$ -laktonów, otrzymanych z Zakładu Chemii Organicznej Politechniki Łódzkiej. W pierwszej kolejności, w celu wyselekcjonowania związków o najlepszym indeksie terapeutycznym (związek bardziej toksyczny w stosunku do komórek nowotworowych niż komórek zdrowych), przeprowadzone zostaną eksperymenty przesiewowe na dwóch nowotworowych liniach komórkowych (HL-60 i MCF-7) oraz porównawczo na komórkach linii nie-nowotworowych (MCF-10A i HUVEC). Następnie zbadana zostanie aktywność przeciwnowotworowa wybranych związków (po 2 z każdej serii). Badania będą obejmowały ocenę: proliferacji komórek i cyklu komórkowego, zdolności do indukcji apoptozy, stresu oksydacyjnego, uszkodzenia DNA, zmian potencjału błonowego mitochondriów, zmian wewnątrzkomórkowej puli zredukowanego (GSH) i utlenionego (GSSG). W tym aspekcie będą również oceniane aktywności czynników transkrypcyjnych: p53 oraz NF- $\kappa$ B oraz zmiany poziomu białek zaangażowanych w regulację cyklu komórkowego i apoptozy. Ostatnim etapem projektu będzie poszukiwanie synergistycznego działania wybranych  $\alpha$ -metyleno- $\beta$ -laktonów i znanych leków przeciwnowotworowych, o różnych molekularnych mechanizmach działania. Wykonane zostaną testy skojarzone, z użyciem znanych chemioterapeutyków (taksol, oksaliplatyna, 5-fluorouracyl) oraz promieniowania jonizującego. Celem tego etapu projektu jest ustalenie, czy  $\alpha$ -metyleno- $\beta$ -laktony mogą nasilać przeciwnowotworowe działanie znanych chemioterapeutyków.**

Proponowane w projekcie badania mają przede wszystkim charakter poznawczy (akademicki) i mogą przyczynić się do poszerzenia wiedzy na temat zależności pomiędzy strukturą a aktywnością przeciwnowotworową słabo dotychczas poznanych  $\alpha$ -metyleno- $\beta$ -laktonów, a także wykreować dalsze kierunki badań w tej dziedzinie. W dalszej perspektywie planowane badania mogą przyczynić się do znalezienia nowego związku o dużej aktywności przeciwnowotworowej lub opracowania nowej

przeciwnowotworowej terapii skojarzonej, a więc projektujemy również wymierny aspekt praktyczny. Spodziewamy się, że nowe syntetyczne ε-metyleno-ε-laktony, podobnie jak ε-metyleno-ε-laktony b i d hamowały aktywność NF-κB, a co za tym idzie b i d mogły uwrażliwiać komórki nowotworowe na działanie znanych leków przeciwnowotworowych.