

Koniugaty celujące w mitochondria jako nowe środki przeciwnowotworowe

Mitochondria odgrywają ważną rolę w komórkach jako źródło energii komórki i generator reaktywnych substratów, które są szkodliwe dla żywych komórek. Zmiany w strukturze i funkcjach mitochondriów od dawna obserwowano w komórkach nowotworowych. Mitochondria komórek nowotworowych wykazują znacznie zwiększony potencjał transbłonowy w porównaniu z potencjałem w normalnych komórkach. Celowanie w mitochondria jako strategia leczenia nowotworów nabrała istotnego przyspieszenia w ostatnich latach. Dostarczanie środków terapeutycznych do mitochondriów jest trudnym wyzwaniem dla współczesnej farmakologii, ponieważ dostarczana cząsteczka musi przede wszystkim pokonać barierę błony komórkowej, a następnie być w stanie aktywnie celować w tę organelę wewnątrzkomórkową.

Delokalizowane kationy lipofilowe, takie jak kation trifenylofosfoniowy (TPP⁺) i rodamina, są dobrze znanymi cząsteczkami celującymi w mitochondria. Dobrze przenikają przez błony komórkowe, a poprzez oddziaływania hydrofobowe umożliwiają również transfer przez błony mitochondrialne. Opracowanie nowych skutecznych środków terapeutycznych ukierunkowanych na wewnątrzkomórkowe organelle, takie jak mitochondria, może stanowić nowe możliwości skutecznego leczenia chorób nowotworowych.

Dlatego **proponowany projekt dotyczy syntezy, wychwytu komórkowego, cytotoksyczności i kolokalizacji mitochondriów przez nowe ukierunkowane na mitochondria koniugaty kationu trifenylofosfoniowego (TPP⁺) i rodaminy z bardzo aktywnym polieterowym jonoforem - salinomycyną.**

W ostatnich latach udokumentowano, że salinomycyna indukuje apoptozę w wielu ludzkich komórkach nowotworowych zarówno wrażliwych na leki jak i wykazujących odporność wielolekową (MDR), a także jest niezwykle aktywna wobec macierzystych komórek nowotworowych (CSC). Wszystkie wyżej wymienione właściwości salinomycyny są ściśle związane z jej strukturą i zdolnością do tworzenia kompleksów z kationami metali (kompleksy typu gospodarz-gość) i transportu tych kompleksów przez dwuwarstwę lipidową i błony komórkowe.

Salinomycyna wywiera bezpośrednie działanie na mitochondria, pogarszając w ten sposób przeżywalność komórek. Powoduje ona również silne i zależne od czasu zmniejszenie poziomu ATP w komórkach rakowych, lecz nie w normalnych komórkach ludzkich.

Racjonalna modyfikacja salinomycyny może znacznie poprawić jej aktywność biologiczną. Z tego powodu powstałe związki zostaną przetestowane pod kątem ich aktywności biologicznej (*badania in vitro*) w ścisłej interdyscyplinarnej współpracy ze specjalistami w dziedzinie onkologii i biologii.

Aktywność przeciwnowotworowa wszystkich nowo zsyntetyzowanych hybryd salinomycyny zostanie zbadana wobec ludzkich komórek nowotworowych za pomocą testu MTT (*testy in vitro*). Działanie cytotoksyczne będzie również badane na normalnych komórkach w celu oszacowania toksyczności i selektywności badanych związków.

Biologiczny mechanizm działania naszych nowych koniugatów salinomycyny z kationem TPP⁺ i resztą rodaminy zostanie zbadany przy użyciu **testów biochemicznych i testów komórkowych**. Planujemy zastosować zaawansowane testy komórkowe, określających namnażanie komórek, toksyczność, żywotność, apoptozę, stres oksydacyjny oraz wykrywających żywe komórki. Badania te zapewnią nam dogodne i powtarzalne wyniki biologiczne prowadzące do **zrozumienia mechanizmu działania otrzymanych związków**. Aktywność biologiczna salinomycyny jest związana z jej zdolnością do przenoszenia kationów przez błony biologiczne. Zatem aktywność jonoforetyczna salinomycyny i jej koniugatów ukierunkowanych na mitochondria będzie również oceniana w **badaniach biofizycznych** z wykorzystaniem liposomów i płaskich dwuwarstw lipidowych. Istniejące dane sugerują, że apoptoza indukowana przez salinomycynę w komórkach nowotworowych może, przynajmniej częściowo, wynikać z jej bezpośredniego wpływu na mitochondria. Dlatego zmierzmy również zmierzyć zmiany potencjału błony mitochondrialnej ($\Delta\Psi$), produkcji ROS, zmiany pH matrycy, obrzęku i morfologii mitochondriów oraz oddychania zależnego od salinomycyny i jej koniugatów ukierunkowanych na mitochondria.

Wszystkie badania zaplanowane w ramach niniejszego projektu powinny pomóc w **znalezieniu korelacji między strukturą pochodnych salinomycyny a ich aktywnością biologiczną** (zależność struktura-aktywność, SAR). Obserwowane obecnie zainteresowanie naukowe koniugatami ukierunkowanymi na mitochondria, a także niezwykła aktywność przeciwnowotworowa salinomycyny, sprawiają, że projekt ten ma innowacyjny charakter, a jego wyniki naukowe mogą w najbliższej przyszłości pomóc w racjonalnym projektowaniu nowych leków.