

GINOP-2.3.2-15-2016-00049

Projekt címe: Új szintetikus kismolekulák tervezése szöveti reprogramozásra

Támogató alap: [ERFA](#) [1]

Projekt Azonosító	GINOP-2.3.2-15-2016-00049
Projekt neve	Új szintetikus kismolekulák tervezése szöveti reprogramozásra
Szakmai vezető, elérhetőségek	Dr. Kollár László, kollar@gamma.ttk.pte.hu [2]
Projektmenedzser, elérhetőségek	Gayár Csilla, gayar.csilla@pte.hu [3]
Projekt teljes költségvetése	1 275 445 773 Ft
Projekt időtartama	2017.02.01-2021.01.31

A jelen pályázatban új mitokondriális terápiát tervezünk **szívelégtelenségre és gyulladásos betegségekre** – köztük szeptikus sokkra -, és a fenti betegségek gyógyítására **új szintetikus kismolekulákat** tervezünk és állítunk elő, melyekkel a fenti betegségek progressziója lassítható, vagy megállítható. Jelenleg a szívelégtelenség egy népbetegség, míg a szeptikus sokk halandósága elképesztően magas (30-40%). Ezért társadalmi szempontból is rendkívüli fontosságú e területeken terápiás lehetőségek kidolgozása.

A projekt megvalósítása során **új mitokondriális terápiás módszer** megalapozását tervezzük szívelégtelenségre és gyulladásos betegségekre – köztük szeptikus sokkra -, és a fenti betegségek gyógyítására **új szintetikus kismolekulákat** tervezünk és állítunk elő, melyekkel a fenti betegségek progressziója lassítható, vagy megállítható. A kidolgozott terápiás módszer mind hazai, mind nemzetközi kitekintésben jelentős lépésnek minősül.

A projekt eredményeként olyan **multidiszciplináris stratégiai m?hely** j?het létre, amely hazai és nemzetközi pályázatokban sikeresen szerepelhet és lehet?séget biztosít nemzetközi kutatási hálózatokhoz történ? csatlakozásra is.

A tervezett szintetikus kémiai alkalmazások számos újdonságot hozhatnak: a heterogénizált katalizátorok vagy az alternatív oldószerek használata jól illeszkedik a modern kémia elvárásaihoz, hiszen alkalmazásuk a klasszikus reakciókhoz képest kisebb környezetterheléssel jár. Ugyanebbe az irányba hat a nagy szelektivitású (azaz nagy kemo-, regio- és enantioszelektivitással járó) reakciók fejlesztése, a céltermék minél kevesebb melléktermékkel kísért előállítás.

Mind a szintetikus kémiai, mind a biokémiai terület résztvevői több évtizedes tapasztalatokkal rendelkeznek a módszerek kifejlesztése és alkalmazása terén. A kutatócsoportok vezetői mögött megfelelő tudományos szakmai háttér áll; valamennyien akadémiai doktori fokozattal, vagy elkészült MTA doktora értekezéssel rendelkező senior kutatók.

Összefoglaló a projekt megvalósításának 1. évéről

Kialakításra került egy olyan, tudományosan versenyképes kutatóhely, amely a résztvevő kutatókat támogatja ismereteik bővítésében és tudományos céljaik elérésében. Vizsgálataink hozzájárulnak a mitokondrium károsodási folyamatok alaposabb megismeréséhez, melyek fontosak lehetnek a fent leírt modelleken kívül az öregedés – különösen a mitokondriális öregedés – folyamatainak jobb megismerésében. A vállalt biológiailag aktív

kismolekulák szintézise olyan új lehetőségeket biztosít számunkra, melyek segítségével új típusú gyógyszer-jelölt vegyületek kifejlesztését célozhatjuk meg. Ezek a származékok a mitokondriális permeabilitás átmenet és a PARP-1 gátlásán, valamint a mitokondriális fúzió aktiválásán keresztül pozitív irányba változtatják meg az átprogramozást és elősegítik a regenerációs folyamatok aktiválását.

A célvegyületek szintézise részben korábbi alapvázak új funkciók csoportjainak kialakítására, másrészt farmakológiai fontosságú alapvázak új szintetikus elképzelések mentén történő kialakítására irányul. Az elmúlt időszakban nagyhatékonyságú konvencionális és modern szintetikus módszerek (elsősorban átmenetifém-katalizált keresztkapcsolási és karbonilezési homogénkatalitikus reakciók) olyan kombinációit alkalmaztuk, amelyek lehetővé tették nemcsak a céltermékek szintézisét, de a zöldkémiai alapelvek előtérbe helyezését is. A kiváló hozamokkal és minimális melléktermék-képzéssel járó reakciók lehetővé tették új szintetikus építőelemek nagy változatosságú panelszerű beépítésére. A katalitikus reakciók megvalósításának előfeltétele a katalizátorként alkalmazott átmenetifém-komplexek elemi reakcióinak, a koordinációs szférában lejátszódó átalakulások feltérképezése. Jelentős előrelépést sikerült elérnünk új funkcionális (elsősorban karbonilezési (amino- és alkoxikarbonilezési) reakciók modellvegyületeken történő megvalósítása terén.

Az előállított vegyületcsaládok között találtunk ígéretes hatású PARP inhibitor vegyületet. A kurkumin származékok között azonban egyértelmű hatás-szerkezet összefüggést nem sikerült megállapítani a sejtproliferáció befolyásolására gyakorolt hatásuk alapján.

Mivel a mitokondriumok fragmentációja számos olyan betegség kialakulásában és progressziójában játszik jelentős szerepet, mint a kardiovaszkuláris-, metabolikus- és gyulladásos betegségek és a tumorok. Ezért rendkívül fontos célunk olyan nem toxikus vegyületek kifejlesztése, melyek aktiválni tudják a mitokondrium fúziót. Kimutattuk, hogy egy amidoxim származék aktiválja az Opa1 GTP-áz (ami felelős a belső membrán físziojájért) és összességében a mitokondriális fúzió aktiválásáért, anélkül, hogy a mitokondriális légzési láncot negatívan befolyásolná. A fenti vegyület protektív hatásának bizonyult számos betegség modellen és humán vizsgálatokban. Ehhez a vegyülethez hasonló szerkezetű származékokkal rendelkezünk és elkezdjük ezek vizsgálatát is. Ez az amidoxim származék nemcsak mitokondriális fúzió aktivátor, de nagyon kedvező toxikológiai jellemzőkkel is bír.

Kimutattuk továbbá, hogy a PARP gátlása megvédi a mitokondriális fragmentációt oxidatív stresszben és ez a folyamat részben az Akt, MKP-1 és PKCdelta aktiválásával történik. Azonosítottunk továbbá egy új retrográd útvonalat, melyen keresztül a PARP1 enzim gátlása védi a mitokondriumot: ez a PARP-1-ATF4-MKP-1-JNK/p38 MAPK-mitokondrium retrográd útvonal.

In vivo vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a doxycyclin (antibiotikum) védő hatást mutat krónikus szívkárosodás modellen és gátolja a mitokondriális fragmentációt, valamint az oxidatív stressz indukálta és a membrán potenciál összeomlást. Ez további vizsgálatainkat tekintve azt is jelenti, hogy létezhet más kémiai alapstruktúra a mitokondrium fragmentációval szembeni védelemben.

Összefoglaló a projekt megvalósításának 2. évéről

A projekt keretében - a 2. mérföldkő célkitűzéseivel összhangban - a következő részterületeken végeztünk kutatásokat. (A felsorolás nem teljes.)

- PARP-1, PARP-2, mPT inhibitor és Opa1 aktivátor kismolekulák szintézise

Benzimidazolok (mint potenciális PARP inhibitor vegyület család) és paramágneses vinilhalogenidek Buchwald-Hartwig-keresztkapcsolási reakcióival új tetraciklusos vegyületeket, továbbá 4-karboxamidobenzimidazol származékokat, 5-karboxamido kinoxalinokat, liponsavamid-nitroxid konjugátumokat szintetizáltunk. Benzimidazol származékok, piridin-amidoximok, fahéjsav-amidoximok, valamint a BGP-15 szintézise során olyan palládium-katalizált szintetikus megközelítéseket alkalmaztunk, amelyek a korábbi szintézislépések számát lényegesen csökkentik, szelektivitásuk révén jobb hozamot tesznek lehetővé.

- Új, palládium- és ródium-katalizált homogénkatalitikus reakciók alkalmazása ismert kismolekulák előállítására irányuló szintézisekben.

Mind az új katalizátorrendszerek (foszfakoronaéter típusú ligandumok, P-heterociklusos származékok átmenetifém-komplexei) kifejlesztése, mind a környezetbarát (zöldkémiai) megközelítések területén végeztünk kutatómunkát. Alternatív szén-monoxid források (paraformaldehid, hangyasav, dimetilformamid) és alternatív oldószerek (ionfolyadékok, gamma-valerolakton) sikeresen alkalmazhatók különböző karbonilezési reakciókban. Palládium-katalizált aminokarbonilezés mint kulcsreakció felhasználásával magvalósítottuk tiazolok és tiadiazolok aminokarbonilezését; oxazolinok szintézisét aminokarbonilezés/gyűrűzárás reakcióssal; aminotiazol és aminotiadiazol származékok mint nukleofilek alkalmazásával karbonsavamidok szintézisét.

- A katalizátorok elválasztásának és újra-felhasználásának vizsgálata ionfolyadék / szerves oldószer kétfázisú rendszerek vagy reverzibilis oldószerek felhasználásával.

Vizsgáltuk benzimidazol származékok előállítását ionfolyadék oldószerben. Foszfónium-, pirdínium- és imidazóliumionokkal módosított hordozókat készítettünk, melyekre palládium-katalizátorokat rögzítettünk. A katalizátorok aktivitását és a megfelelő szelektivitás eléréséhez szükséges reakciókörülményeket modell-vegyületeken teszteltük. Magnetit tartalmú poli-ionfolyadék hordozóra rögzített Pd-katalizátorokat készítettünk, melyek a reakció végén egy mágnes segítségével távolíthatók el a reakcióelegyből.

- PARP-inhibitorok gyulladásgátló hatásának vizsgálata; a mitokondriális permeabilitás gátlása új kismolekulákkal és ezek jelátviteli hatásainak analízise.

Az újonnan szintetizált vegyületek PARP1 gátló hatását vizsgáltuk rekombináns PARP1-en. Több vegyület nano-moláris koncentráció tartományban is gátló hatást fejtett ki. A PARP1 gátlók gátolják az oxidatív stressz indukálta sejthalált bizonyos körülmények között. A BGP-15 vegyülethez hasonló új amidoxim származékok hatását is vizsgáltuk a mitokondriális fragmentációra. In vitro assay rendszert fejlesztettünk ki Opa1-Opa1 interakciók vizsgálatára. Vizsgálataink mutatták, PARP gátlók képesek voltak csökkenteni a mitokondriális fragmentációt, valamint az apoptotikus és nekrotikus sejthalált is modell rendszerekben. Kimutattuk RAW makrofágokon, hogy az LPS indukálta mitokondriális permeabilizáció gátolható a mitokondriális ciklofilin D elnyomásával, és jelentősen lecsökkenthető az LPS-indukálta Citokin és Kemokin expresszió, mind sejtes modellen, mind LPS-indukálta élő állat modellen. Egy 4-quinazolinon származék (PARPI)-kavitand kölcsönhatást vizsgálva a mikroszolváció fontosságára hívtuk fel a figyelmet.

- Mitokondriális fragmentáció gátlásának vizsgálata cardiomiocitákon és pulmonáris epiteliális sejteken; mP.T gátlók vizsgálata hipertónia indukálta szívnagyobbodásra és a szöveti reprogramozásra.

Az SHR állatokon végzett BGP-15 kezeléssel vizsgáltuk a következő fehérjéket: TGF-beta/SMAD2; STAT-JAK. Neonatalkardiomyocitákon végzett szelektív alpha-1-actinin és MitoTrack-red jelölésekkel nyomon követtük a mitokondriális fragmentációt különböző stresszorok (h₂O₂, NMMG) és hatóanyagok (L2286, BGP15, Olaparib) jelenlétében. Az OPA TG genotípus hatását vizsgáltuk szívelégtelenség kialakulására. Elkészítettük 6 hónapos OPA1 TG és vad típusú egerek baseline echokardiográfiás felvételeit; létrehoztunk egy új szívelégtelenség modellt. Resveratrollal szívelégtelen betegpopuláción végzett humán klinikai vizsgálatból származó vér RNA minták integritás vizsgálatát végeztük el.

A kutatócsoport tagjai részt vettek a 2018. második felében megérkezett 6 nagyműszer beszerzésében és beüzemelésében. A projekt számának feltüntetésével 2018. májusáig 40 közlemény (közülük 22 kiemelkedő hatású (Q1 kategóriájú)) jelent meg. A 2018 végéig megjelenő közleményeink száma várhatóan kb. 55 (közülük kb. 30 Q1 kategóriájú).

Gyógyszerfejlesztés Pécsen és Veszprémben (1. rész)

2017-ben a Pécsi Tudományegyetem és konzorciumi partnere, a Pannon Egyetem GINOP pályázat keretében (GINOP-2.3.2-15-2016-00049) 1,275 Mrd Ft támogatást nyert el gyógyszerfejlesztési

céllal. Az 'Új szintetikus kismolekulák tervezése szöveti reprogramozásra' című pályázat során a konzorcium munkájában részt vevő kutatók szívelégtelenségre és gyulladáshoz vezető betegségekre alkalmazható új, mitokondriális módszer megalapozását tűzték ki célul. A szeptikus sokkra és a fenti betegségek gyógyítására új szintetikus kismolekulákat terveznek és állítanak elő, amelyekkel a betegségek progressziója jó eséllyel lassítható vagy megállítható.

A kutatási projekt vezetője Kollár László, a PTE Természettudományi Karának professzora, társprojektvezetője Sümegi Balázs, a PTE Általános Orvostudományi Karának professzora, a konzorciumi partner munkáját Skodáné Földes Rita, a Pannon Egyetem professzora irányítja.

Az elvégzett kutatómunkáról a program vezetői nemcsak a támogató felé tartoznak beszámolósi kötelezettséggel, hanem időről időre – a támogatási szerződés előírásaival összhangban, a szélesebb közvélemény tájékoztatására – sajtóközleményekkel is jelentkezniük kell. Jelen közleményben – a kutatómunka összetettsége miatt – csupán az új vegyületek előállítását célzó kémiai vizsgálatokról számolunk be röviden.

Az elmúlt időszakban a szintetikus kémiai műhelyekben (a Pannon Egyetem Szerves Kémia Intézeti Tanszékén Skodáné Földes Rita, a PTE ÁOK Szerves és Gyógyszerkémiai Intézetében Kálai Tamás, a PTE TTK Kémiai Intézetében Kollár László vezetésével) folyó kutatásokból, a tervezett szintézisekhez kapcsolódó alapkutatási eredményeinkből számos közleményt jelentettünk meg vezető nemzetközi folyóiratokban.

Kísérleteink részben korábbi alapvázak új funkciók csoportjainak kialakítására, másrészt farmakológiai fontosságú alapvázak új szintetikus elképzelések mentén történő felépítésére irányulnak. Ezek közül a legelőrehaladottabb fázisban a nitrogéntartalmú gyűrűs vegyületek (N-heterociklusos származékok), és különösképpen ezek stabilis nitroxidjainak kutatása áll. Utóbbiak nem-vitamin hatású antioxidánsoknak tekinthetők.

A célvegyületek egy része megkívánja új, szintetikus megközelítések alkalmazását. A kiváló hozamú szerves kémiai alapreakciók mellett olyan nagy szelektivitású (azaz több lehetséges termék esetén egyetlen termék keletkezését preferáló) homogénkatalitikus reakciók is szerepet kapnak, ahol a reakció 'lelke' (kevésbé fennköltén a reakció végrehajtásának 'eszköze'), az átmenetifémeket tartalmazó ún. komplex vegyület.

A tervezett vegyületek között előfordulnak olyanok, amelyek molekulái tükörképi párok formájában léteznek, és e párok eltérő biológiai aktivitással rendelkezhetnek. A modern szintetikus kémia eredményeinek, valamint saját kutatási eredményeink felhasználásával lehetőség nyílik csupán egyik tükörképi forma előállítására.

Az előállított vegyületek között találtunk ígéretes hatású, potenciális farmakológiai alkalmazással kecsegtető származékokat. Ezen eredményeinkről szóló rövid közleménnyel várhatóan fél év múlva jelentkezünk.

Menedzser: [Gayár Csilla](#) [4]

Archív:

Forrás webcím: <https://pii.pte.hu/ginop-232-15-2016-00049>

Hivatkozások

[1] <https://pii.pte.hu/tamogato-alap/erfa>

[2] <mailto:kollar@gamma.ttk.pte.hu>

[3] <mailto:gayar.csilla@pte.hu>

[4] <https://pii.pte.hu/menedzser/gayar-csilla>

