



19.02.2019

IX Minisymposium Młodych Naukowców



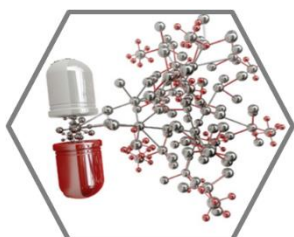
Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

KOMITET ORGANIZACYJNY

- *Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM*
- *Koło naukowe „Free Radicals” przy Zakładzie Chemii Fizycznej*
- *Katedra Chemii Analitycznej i Biomateriałów, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM*

SPONSORZY

1. Studenckie Towarzystwo Naukowe WUM



MIEJSCE KONFERENCJI

Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem medycyny
Laboratoryjnej WUM

ul. Banacha 1, 02-097
Warszawa

adres e-mail: 18.Minisymposium@gmail.com



PROGRAM MINISYMPOZJUM

19 lutego 2019 (wtorek)

12.30–12.55 rejestracja uczestników

13.00 Powitanie uczestników

13.15–13.55 (40 min.) **Rafał Augustyniak**

„Proteasom – struktura, dynamika i zastosowanie w terapii: od nowotworów po gruźlicę. Badanie maszyn supramolekularnych z wykorzystaniem spektroskopii NMR”

Wydział Chemii i Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych Uniwersytetu Warszawskiego

14.00–14.15 (15 min.) **Filip Charuk**, Iwona Winiecka

„Otrzymywanie nowych leków hipotensyjnych – pochodnych argininy o hybrydowym mechanizmie działania”

Studenckie koło naukowe „LEK”, Zakład Chemii Leków, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

14.20 – 14.35 (15 min.) **Katarzyna Tyszko**, Edyta Gilant, Piotr J. Rudzki

„Wpływ metabolitu na selektywność metody oznaczania arypiprazolu w osoczu ludzkim”

Instytut Farmaceutyczny, Zakład Farmakokinetiki, ul. Rydygiera 8, 01-793 Warszawa

14.40–14.55 (15 min.) **Beata Kobus**, Agnieszka E. Laudy

„Zdolność adaptacji szczepów bakterii do wzrostu w obecności chlorheksydyny”

Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

15.00–15.45 (45 min.) przerwa kawowa + sesja plakatowa

15.45–16.00 (15 min.) **Weronika Skowrońska**, Magdalena Dziedzic, Maria Ziaja, Agnieszka Bazyłko

„Zbadanie i porównanie aktywności przeciwutleniającej i przeciwzapalnej oraz wstępna analiza składu chemicznego wyciągów z korzeni i części nadziemnych *Arctium lappa* L. i *Arctium tomentosum* Mill. z różnych stanowisk naturalnych rejonu Podkarpacia”

Katedra Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny; Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Katedra Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Rzeszowski

16.05 – 16.20 (15 min.) **Piotr Baszkiewicz**, Katerina Makarova

„Badanie wpływu wybranych parametrów czasowych i biologicznych na wydajność transdukcji wirusowej przy pomocy analizy wielowymiarowej”

Dyplomant studiów I stopnia na kierunku Bioinżynieria Zwierząt, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Nauk o Zwierzętach

Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej WUM

16.25 – 16.40 (15 min.) **Sebastian Szmeja**, Tomasz Gubica

„Metody analizy fizykochemicznej stałych kompleksów cyklodekstryn z substancjami aktywnymi biologicznie”

Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

16.45 – 17.00 (15 min.) **Alicja Bieńkowska**, Magdalena Orzechowska, Maciej Małecki

„Ocena aktywności transdukcijnej preparatu genowego rAAV/GFP w warunkach hipertermii onkologicznej”

Zakład Farmacji Stosowanej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM

17.00 – 17.15 Podsumowanie Minisymposium

WYKŁAD PLENARNY

PROTEASOM – STRUKTURA, DYNAMIKA I ZASTOSOWANIE W TERAPII: OD NOWOTWORÓW PO GRUŻLICĘ. BADANIE MASZYN SUPRAMOLEKULARNYCH Z WYKORZYSTANIEM SPEKTROSKOPII NMR

dr RAFAŁ AUGUSTYNIAK

*Wydział Chemii i Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych,
Uniwersytet Warszawski*

Białka w żywych komórkach są bez przerwy syntetyzowane na rybosomach. Z drugiej strony białka uszkodzone, niepoprawnie zwinięte lub po prostu w danej chwili zbędne muszą być szybko zniszczone. Ich nagromadzenie prowadzi bowiem do poważnych zaburzeń homeostazy, a w dłuższej perspektywie skutkuje śmiercią komórki. Proteasom jest dużym kompleksem złożonym z wielu podjednostek białkowych, a jego funkcją jest proteoliza białek przeznaczonych do degradacji. Unikalna beczułkowata struktura proteasomu sprawia, że substraty są niszczone niezwykle selektywnie, gdyż tylko niektóre białka mogą dotrzeć do wnętrza enzymu posiadającego aktywność proteazy treoninowej. Wiedza o strukturze przestrzennej proteasomu, która została zdobyta na przestrzeni ostatnich 25 lat, przyczyniła się do zaprojektowania cząsteczek hamujących jego aktywność i wykorzystywanych obecnie w terapii nowotworów. Z drugiej zaś strony pochodzący z badań rentgenostrukturalnych obraz proteasomu jako cząsteczki sztywnej i statycznej nadal nie pozwala wyjaśnić na poziomie atomowym natury wielu procesów komórkowych zachodzących z jego udziałem. Podczas mojego wykładu przedstawiony zostanie wkład spektroskopii NMR w fazie ciekłej w zrozumienie funkcji biologicznej i mechanizmu regulacji proteasomu. Wyjaśniony zostanie sposób, w jaki najodleglejsze podjednostki proteasomu komunikują się ze sobą i dlaczego substraty degradowane są z różną szybkością. Przedstawię również, jak najnowsze eksperymenty NMR, specjalnie zaprojektowane do badań plastyczności konformacyjnej wielkich białek, mogą przyczynić się do inaktywacji proteasomu prątków gruźliczych, gdzie enzym ten jest niezbędny do wywołania choroby i zwiększa antybiotykooporność *Mycobacterium tuberculosis*. Nadrzędnym celem wykładu jest pokazanie wiodącej roli badań podstawowych prowadzonych na pograniczu biologii, chemii i fizyki w racjonalnym projektowaniu strategii terapeutycznych.

WYKŁADY

OTRZYMYWANIE NOWYCH LEKÓW HIPOTENSYJNYCH – POCHODNYCH ARGININY O HYBRYDOWYM MECHANIZMIE DZIAŁANIA

Filip Charuk, Iwona Winiecka

*Studenckie koło naukowe "LEK", Zakład Chemii Leków, Wydział Farmaceutyczny z
Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM
e-mail: filip.charuk@onet.pl*

System renina-angiotensyna-aldosteron (RAA) odgrywa kluczową rolę w regulacji prawidłowego ciśnienia krwi. Międzynarodowe Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego zaleca terapię skojarzoną poprzez zastosowanie dwóch lub więcej leków hipotensyjnych, z których trzy z sześciu głównych grup, należy do leków, których mechanizm działania związany jest z układem RAA. Pomimo zastosowania ogromnego arsenału leków przeciwko nadciśnieniu skuteczność hospitalizacji jest wciąż niezadowalająca, co wyjaśnia potrzebę poszukiwania nowych i bardziej skutecznych form terapii. Jedynym dotychczas wprowadzonym do leczenia inhibitorem reniny jest aliskiren.

Badania prowadzone nad tym lekiem dają podstawy do poszukiwań nowych leków – inhibitorów reniny. Zasadnym wydaje się również zaprojektowanie i otrzymanie potencjalnego leku o działaniu hipotensyjnym o hybrydowym mechanizmie działania. Poprzez wykorzystanie metod modelowania molekularnego możliwym stało się zaprojektowanie, w oparciu o fragment P₁-P₃ ludzkiego angiotensynogenu, inhibitorów reniny, które wykazują silniejsze wiązanie z centrum aktywnym enzymu, a także wykazują wyższą stabilność i biodostępność.

W skład zaprojektowanej cząsteczki w centralnej jej części w pozycji P₁-P₁' umieszczono jednostkę pseudodipeptydową (AHGHA), będącą pochodną argininy umożliwiającą silne wiązanie inhibitora z reniną i warunkującą odporność na działanie enzymów proteolitycznych, przypuszcza się również, że możliwym jest uwalnianie się tlenu azotu z tej pochodnej, który jest silnym czynnikiem rozszerzającym naczynia tętnicze. Zastosowanie w terapii substancji o hybrydowym mechanizmie działania pozwoli na wyeliminowanie niedogodności związanych z przyjmowaniem zbyt dużej ilości leków w tym samym czasie, ponadto zapobiegnie skutkom ubocznym związanym z kombinacją leków.

Literatura:

1. Winiecka I., Jaworski P., Mazurek AP., Marszałek D., Goldnik A., Sokulski D., Novel renin inhibitors containing derivatives of N-alkylleucyl-β-hydroxy-γ-amino acids, *Journal of Peptides Science*, 22(2); (2016); 67-128.
2. Winiecka I., Marszałek D., Goldnik A., Jaworski P., Mazurek AP., Novel renin inhibitors containing a non-peptide aminoalkanoyl moiety at P₁-P₁' position, *Pharmazie*, 69; (2014); 263-270.

WPLYW METABOLITU NA SELEKTYWNOŚĆ METODY OZNACZANIA ARYPIPRAZOLU W OSOCZU LUDZKIM

Katarzyna Tyszko, Edyta Gilant, Piotr J. Rudzki

Instytut Farmaceutyczny, Zakład Farmakokinetiki, ul. Rydygiera 8, 01-793 Warszawa

e-mail: katarzyna.tyszko@student.uw.edu.pl

Arypiprazol jest lekiem antypsychotycznym i antydepresyjnym, stosowanym najczęściej w leczeniu schizofrenii. Monitorowanie poziomu leku we krwi oraz badanie równoważności biologicznej produktu leczniczego generycznego i referencyjnego wymaga opracowania metody oznaczania stężenia analitu w matrycy biologicznej. W celu potwierdzenie wiarygodności i przydatności metody, przeprowadzana jest jej walidacja zgodnie z wytycznymi Europejskiej Agencji Leków [1]. Ważnym elementem walidacji jest badanie selektywności, także wobec metabolitów.

Arypiprazol oraz jego główny metabolit dehydro-arypiprazol [2-5] oznaczano za pomocą spektrometrii mas sprzężonej z wysokosprawną chromatografią cieczową (LCMS-2010, Shimadzu). $^2\text{H}_8$ -Arypiprazol zastosowano jako wzorzec wewnętrzny. Próbkę do analizy przygotowano techniką ekstrakcji typu ciecz-ciecz, używając w tym celu roztwór ekstrahujący w składzie heksan/izopropanol, 98/2 v/v. Substancje rozdzielano na kolumnie analitycznej Zorbax SB-C18 (150 x 3 mm, 3,5 μm). Zastosowano wymywanie izokratyczne z fazą ruchomą składającą się z 0,1% kwasu octowego i acetonitrylu (54/46; v/v).

Zarejestrowano widma oraz monitorowano jony o wartościach m/z (masy jonu do liczby ładunków elementarnych): 448,15 (arypiprazol), 446,16 (dehydro-arypiprazol) oraz 456,15 (wzorzec wewnętrzny). Zaobserwowano zbliżone wartości m/z analitu i metabolitu. Optymalizacja parametrów pozwoliła na rozdzielenie nakładających się pików obu substancji.

Uzyskanie wiarygodnych wyników pomiaru stężeń aripiprazolu w osoczu wymaga chromatograficznego rozdzielania substancji czynnej od metabolitu.

Literatura:

1. Guideline on bioanalytical method validation. European Medicines Agency (EMA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2**). London, 21 July 2011.
2. Huang HC., et al., J. Chromatogr. B, 856; (2007); 57-61.
3. Hwang PL., et al., Electrophoresis, 31; (2010); 2778-2786.
4. Kim JR., et al, Br J Clin Pharmacol, 66; (2008); 802-810.
5. Nemoto K., et al, Pharmacopsychiatry, 47; (2014); 101-104.



NARODOWE CENTRUM NAUKI



Projekt 2015/19/B/ST4/03743 finansowany przez NCN: „Badania nad zastosowaniem polimerów wdrukowanych molekularnie do analizy substancji farmaceutycznych w układach biologicznych”

ZDOLNOŚĆ ADAPTACJI SZCZEPÓW BAKTERII DO WZROSTU W OBECNOŚCI CHLORHEKSYDYNY

Beata Kobus, Agnieszka E. Laudy

*Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny
Laboratoryjnej, WUM
e-mail: bsmolinska111@wp.pl*

Chlorheksydyna jest substancją powszechnie stosowaną w antyseptyce. Należy do związków powierzchniowo czynnych jakimi są biguanidyny. W stosunkowo niskich stężeniach chlorheksydyna wykazuje aktywność bakteriostatyczną, natomiast w wyższych nawet podczas krótkiego kontaktu działa biobójczo. [1] Jest to związek o najlepiej udokumentowanym działaniu na bakterie, które kolonizują skórę. Kąpiel z użyciem chlorheksydyny zmniejsza częstość zakażeń szpitalnych i kolonizacji skóry pacjentów przez bakterie odporne na wiele leków. [2]

Celem badania była obserwacja zdolności adaptacji szczepów do wzrostu w obecności wzrastających stężeń chlorheksydyny. W doświadczeniu została użyta substancja czynna – diglukonian chlorheksydyny (CHG), która jest stosowana w komercyjnych preparatach antyseptycznych. Badanie przeprowadzono na szczepach wzorcowych z kolekcji międzynarodowych ATCC i NCTC bakterii Gram-dodatnich (n=4) oraz Gram-ujemnych (n=4). Wartości MIC (Minimum Inhibitory Concentration) dla diglukonianu chlorheksydyny oznaczono w podłożach płynnych Mueller-Hinton oraz LB według zaceń EUCAST dla badań aktywności środków przeciwbakteryjnych. Wartości MIC chlorheksydyny, oznaczone na obydwu podłożach, wyniosły od 1 do 2 mg/L dla bakterii Gram-dodatnich, natomiast dla pałeczek Gram-ujemnych wartości MIC wynosiły od 1 do 16 mg/L. Hodowlę szczepów we wzrastającym gradiencie stężeń CHG prowadzono w podłożu LB, rozpoczęto ją od stężenia $\frac{1}{4}$ wartości MIC. Bakterie przesiewano na wzrastające stężenia chlorheksydyny po zaobserwowaniu wzrostu. Doświadczenie prowadzono przez okres 4-6 tygodni, w zależności od badanego szczepu. Większą zdolność adaptacji do wzrostu w obecności CHG wykazują bakterie Gram-ujemne. Dla szczepów: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* zaobserwowano zdolność do wzrostu w obecności chlorheksydyny w stężeniu 8 do 12 razy większym niż wyjściowe wartości MIC tego antyseptyku. Jedynie dla szczepu *Acinetobacter baumannii* wykazano adaptację do wzrostu w stężeniu antyseptyku 4 razy większym od wartości MIC. W przypadku bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus* i *Enterococcus*) zaobserwowano zdolność do wzrostu w stężeniu CHG od 4 do 6 razy większym niż wyjściowe wartości MIC wobec tych szczepów. Uzyskane wyniki wskazują, że długotrwałe miejscowe stosowanie chlorheksydyny może powodować pojawienie się oporności na ten środek antyseptyczny.

Literatura:

1. Bocian E., Tyski S., Chlorheksydyna – jeden z powszechnie stosowanych antyseptyków – właściwości chemiczne i biologiczne (część I), *Zakażenia* 2; (2010); 6-13.
2. Ruiz J., et al., Daily bathing strategies and cross-transmission of multidrug-resistant organisms: Impact of chlorhexidine-impregnated wipes in a multidrug-resistant gram-negative bacteria endemic intensive care unit. *American Journal of Infection Control*, 45; (2017); 1069-1073.

ZBADANIE I PORÓWNANIE AKTYWNOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCEJ I PRZECIWZAPALNEJ ORAZ WSTĘPNA ANALIZA SKŁADU CHEMICZNEGO WYCIĄGÓW Z KORZENI I CZĘŚCI NADZIEMNYCH *Arctium lappa* L. I *Arctium tomentosum* Mill. Z RÓŻNYCH STANOWISK NATURALNYCH REJONU PODKARPACIA

Weronika Skowrońska¹, Magdalena Dziedzic², Maria Ziaja³, Agnieszka Bazyłko¹

¹*Katedra Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM*

²*Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM*

³*Katedra Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Rzeszowski*

e-mail: weronika.skowronska@wp.pl

Korzeń i liście łopianu są substancjami roślinnymi stosowanymi w medycynie tradycyjnej do leczenia stanów zapalnych skóry (egzem, owrzodzeń i podrażnień) oraz schorzeń przewodu pokarmowego (niestrawności czy nieżytu żołądka). Przypisuje się im również właściwości hipoglikemizujące, detoksykujące i przeciwnowotworowe. Gatunkami dostarczającymi wymienionych substancji jest łopian większy (*Arctium lappa* L.), którego aktywność potwierdzono w wielu badaniach naukowych, a także równie często występujący w Polskiej florze łopian pajęczynowaty (*Arctium tomentosum* Mill.), dla którego dane literaturowe są znikome.

Celem przeprowadzonych badań była wstępna analiza składu chemicznego oraz porównanie aktywności przeciwutleniającej i przeciwzapalnej 70% etanolowych (v/v) wyciągów z korzeni i części nadziemnych *A. lappa* i *A. tomentosum* z różnych stanowisk naturalnych rejonu Podkarpacia.

Analizę składu chemicznego przeprowadzono metodami wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas oraz chromatografii cienkowarstwowej. Oznaczono również zawartość związków fenolowych z odczynnikiem Folina-Ciocalteu. Aktywność przeciwutleniającą i przeciwzapalną zbadano w układach bezkomórkowych: wpływ na wymiatanie syntetycznego rodnika DPPH, nadtlenku wodoru (H₂O₂) i anionorodnika ponadtlenkowego (O₂^{•-}), oraz aktywność oksydazy ksantynowej i lipooksygenazy.

Uzyskane wyniki są porównywalne dla obu gatunków. Ekstrakty posiadają silne właściwości przeciwutleniające, zaś ich zdolność hamowania enzymów jest nieznaczna. Wstępna analiza składu chemicznego wykazała, że łopian większy i pajęczynowaty mają podobny skład chemiczny. Korzenie są bogate w związki fenolowe, głównie pochodne kwasu kawowego, zaś w częściach nadziemnych obecne są flawonoidy – pochodne kwercetyny i kemferolu.

BADANIE WPLYWU WYBRANYCH PARAMETRÓW CZASOWYCH I BIOLOGICZNYCH NA WYDAJNOŚĆ TRANSDUKCJI WIRUSOWEJ PRZY POMOCY ANALIZY WIELOWYMIAROWEJ

Piotr Baszkiewicz¹, Katerina Makarova²

¹*Dyplomant studiów I stopnia na kierunku Bioinżynieria Zwierząt, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Nauk o Zwierzętach*

²*Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej WUM*
e-mail: piotr.baszkiewicz@gmail.com

Terapia genowa jeszcze pod koniec ubiegłego wieku napawała nadzieją i optymizmem na opracowanie skutecznych metod modyfikowania genetycznego organizmu w warunkach *in vivo* z osiągnięciem celów terapeutycznych dotychczas uważanych za nieosiągalne. Jednakże, pojawiające się problemy z wydajnym transportem genów terapeutycznych do komórek docelowych oraz ograniczone możliwości kontrolowania dalszych losów genów po wniknięciu szybko ostudziły zapał i skłoniły do poszukiwań rozwiązania w innych metodach. Aktualnie, zatwierdzony jest tylko jeden rodzaj terapii genowej z zastosowaniem wirusów jako wektorów na terenie Chin (leczenie raka płaskonabłonkowego regionu głowy i szyi z wykorzystaniem adenowirusów). Jednym z podstawowych problemów wirusów w terapii genowej, poza dużymi kosztami opracowania terapii, jest określenie odpowiedniej dawki, która nie będzie wywoływać efektu toksycznego jednocześnie zachowując zdolność wywołania efektu terapeutycznego.

Celem pracy jest wykonanie analizy wielowymiarowej PCA porównującej wydajności transdukcji wirusowej w warunkach *in vitro* na podstawie danych opublikowanych w pracach naukowych na przestrzeni ostatnich 20 lat oraz opracowanie na ich podstawie sztucznej sieci neuronowej. Do analizy wykorzystane zostały następujące parametry związane z transdukcją: rodzina i typ wirusa, typ komórki transdukowanej i gęstość hodowlana, miano wirusa, czas trwania transdukcji i czas pomiaru. Sztuczna sieć neuronowa (Artificial Neural Network – ANN) docelowo na podstawie danych wejściowych ma przewidywać spodziewaną wydajność transdukcji wirusowej z marginesem błędu do 5%. Sukces tego projektu będzie skutkować wieloma korzyściami – skróceniem czasu pracy laboratoryjnej oraz zmniejszeniem kosztów związanych z początkowymi etapami badań, w których wybiera się stosowny wektor wirusowy oraz warunki transdukcji by osiągnąć największą wydajność. Ostatecznie, możliwe będzie zmniejszenie kosztów samej terapii genowej przy jednoczesnym zwiększaniu jej dostępności dla pacjentów oraz potencjalnej popularyzacji wirusów w terapii genowej podczas opracowywania nowych leków.

Literatura:

1. Verma I.M., In: Boulyjenkov V., Berg K., Christen Y., Gene Therapy: Promises, Problems and Prospects, (eds) Genes and Resistance to Disease. Springer, Berlin, Heidelberg 2000.
2. Lehrman S., Virus treatment questioned after gene therapy death, *Nature*, 401: (1999); 517–518.
3. Pearson S., Jia H., Kandachi K., *China approves first gene therapy. Nature Biotechnology*, 22; (2004); 3–4.

METODY ANALIZY FIZYKOCHEMICZNEJ STAŁYCH KOMPLEKSÓW CYKLODEKSTRYN Z SUBSTANCJAMI AKTYWNYMI BIOLOGICZNIE

Sebastian Szmeja¹, Tomasz Gubica²

¹Studencie koło naukowe „Free Radicals”, Zakład Chemii Fizycznej

²Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM

e-mail: s.szmeja@gmail.com

Cyklodekstryny (CD) są cyklicznymi cukrami zbudowanymi z kilku (6, 7 lub 8) podjednostek glukozy. Kształt cząsteczek CD przypomina ścięty stożek z centralnie ułożoną wnęką molekularną. Wnętrze CD jest relatywnie hydrofobowe, natomiast zewnętrzna część hydrofilowa [1]. Dzięki unikalnym właściwościom amfifilowym oraz obecności wnęki molekularnej, cząsteczki CD tworzą kompleksy inkluzyjne (typu gość-gospodarz) z różnymi substancjami (na ogół mało polarnymi). Kompleksy CD wykazują lepszą rozpuszczalność w porównaniu do cząsteczek gościa [2], chronią zainkludowane substancje przed niekorzystnym wpływem czynników zewnętrznych [3] oraz maskują ich nieprzyjemny smak i zapach [4].

Ciekawe właściwości CD są wykorzystywane w przemyśle farmaceutycznym, spożywczym i kosmetycznym [5,6]. W Europie, Stanach Zjednoczonych i Japonii w lecznictwie wykorzystuje się kompleksy CD z substancjami aktywnymi (API), np. z diklofenakiem czy zyprazydonem [7]. Oprócz aktualnie dostępnych leków zawierających CD, w ośrodkach akademickich i przemysłowych prowadzi się intensywne badania podstawowe i aplikacyjne nowych kompleksów CD z API. Stąd też wynika potrzeba analizy nowych kompleksów CD-API w celu uzyskania ich pełnej charakterystyki fizykochemicznej.

W wystąpieniu omówione zostaną współczesne metody analizy stałych kompleksów CD-API. Najczęściej do tego celu wykorzystuje się kalorymetrię (DSC i TG), dyfrakcję rentgenowską (PXRD i SCXRD) oraz metody spektralne (FT-IR) [8].

Pod koniec prezentacji przedstawiony zostanie projekt rozpoczętych badań własnych dotyczących syntezy i charakterystyki fizykochemicznej naturalnych i hydroksypropylowych pochodnych CD z kofeiną (CA). W lecznictwie CA wykorzystuje się jako substancję potęgującą działanie analgetyczne substancji przeciwbólowych [9] oraz jako czynnik stymulujący OUN [10]. Kompleksy CA-CD zdecydowanie lepiej rozpuszczają się w wodzie w porównaniu z wolną CA i niwelują jej gorzki smak.

Literatura:

1. Szejtli J., Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry, *Chem. Rev.* 98: (1998): 1743-1753.
2. Loftsson T., Cyclodextrins and biopharmaceutics classification system of drugs, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 44: (2002): 63-67.
3. Loftsson T., Brewster ME., Pharmaceutical applications of cyclodextrins I: drug solubilization and stabilization, *J. Pharm. Sci.* 85: (1996): 1017-1025.
4. Sohi H., Sultana Y., Khar RK., Taste Masking Technologies in Oral Pharmaceuticals: Recent Developments and approaches, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 30: (2004): 429-448
5. Duchene D., Cyclodextrins and Their Industrial Uses, Editions de Santé, Paris, 1987.
6. Loftsson T., Duchene D., Cyclodextrins and their pharmaceutical applications, *Int. J. Pharm.* 329: (2007): 1-11.
7. Jambhekar SS., Breen P., Cyclodextrins in pharmaceutical formulations I: structure and physicochemical properties, formation of complexes, and types of complexes, *Drug Discov. Today* 21: (2016): 356-362.
8. Mura P., Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 113: (2015): 226-238.
9. Derry CJ., Derry S., Moore RA., Caffeine as an analgesic adjuvant for acute pain in adults. Cochrane Database Syst. Rev. 3: (2012): CD009281.
10. Nehling A., Daval JL., Debry G., Caffeine and the central nervous system: mechanism of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects, *Brain Res. Rev.* 17: (1992): 139-170.

OCENA AKTYWNOŚCI TRANSDUKCYJNEJ PREPARATU GENOWEGO rAAV/GFP W WARUNKACH HIPERTEMII ONKOLOGICZNEJ

Alicja Bieńkowska, Magdalena Orzechowska, Maciej Małecki

*Zakład Farmacji Stosowanej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny
Laboratoryjnej, WUM
e-mail: abienkowska@wum.edu.pl*

Rekombinowane wirusy związane z adenowirusami (rAAV) zyskują coraz większe znaczenie w badaniach doświadczalnych i klinicznych z zakresu terapii genowej. W lecznictwie obecne są już leki oparte na formule terapii genowej i wektorologii rAAV. Obecnie rozwój terapii genowej uzależniony jest przede wszystkim od poprawy wydajności wprowadzania genów do komórek, zwiększania selektywności transdukcji klonowanych wektorów, ograniczania działań niepożądanych. Istotna uwaga kierowana jest na fizykochemiczne metody transferu genu, podejmowane są próby potęgowania efektywności transdukcji na drodze hipertermii onkologicznej. Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu warunków hipertermii (40°C i 43°C) na efektywność transdukcji komórek raka jajnika wektorami rAAV/GFP. Poszukiwano funkcjonalnych połączeń między wydajnością transferu genów, a ekspresją genów kodujących białka szoku cieplnego (*HSP*). Otrzymane wyniki wskazują, że podwyższona temperatura zwiększa efektywność transdukcji komórek raka jajnika. Badane linie komórkowe (Caov-3 i NIH: OVCAR-3) różnią się konstytutywną ekspresją *HSP*. Komórki linii NIH: OVCAR-3 charakteryzuje wysoka ekspresja genów *HSP40* (*DNAJA2*, *DNAJB13*, *DNAJB2*, *DNAJB4*, *DNAJC7*), *HSP70* (*HSPA14*, *HSPA1A*, *HSPA1L*, *HSPA4*, *HSPA4L*, *HSPA6*) i *HSP90* (*HSP90AA1*, *HSP90B1*). Niższe poziomy ekspresji genów *HSP* oznaczono w linii Caov-3, która charakteryzuje się również mniejszą wydajnością transdukcji. Zaobserwowano równocześnie zmiany w ekspresji *HSP* zachodzące pod wpływem hipertermii. Wyniki otrzymane w niniejszej pracy wskazują, że wydajność transdukcji komórek w warunkach hipertermii jest zależna od sygnatur genów kodujących *HSP*. Przeprowadzone badania wnoszą użyteczne informacje pozwalające projektować protokoły kliniczne terapii genowej raka jajnika w warunkach hipertermii. Praca częściowo sfinansowana z projektu NCBiR Strategmed1/233264/4/NCBR/2014, MentorEYE.

Literatura:

1. Bieńkowska A., et al., Formułacje leków genowych, recepty genowe. *Farmacja Polska*, 10; (2018): 611-616.
2. Małecki M., Gene therapy. *Medycyna Wieku Rozwojowego*, 17; (2013): 189-190.
3. Hildebrandt B., et al., The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 43; (2002): 33-56.

PLAKATY

1.

ZASTOSOWANIE METOD OBLICZENIOWYCH W ANALIZIE STRUKTURY KOMPLEKSÓW SUPRAMOLEKULARNYCH SILDENAFIL – CYKLODEKSTRYNY

Iwona Lewandowska¹, Patrycja Jesionkowska¹, Łukasz Rezler¹, Monika Zielińska-Pisklak²,
Tomasz Gubica³, Łukasz Szeleszczuk³, Dariusz Pisklak³, Marcin Sobczak²

¹ Studencie koło naukowe „Spectrum”, Katedra Chemii Analitycznej i Biomateriałów

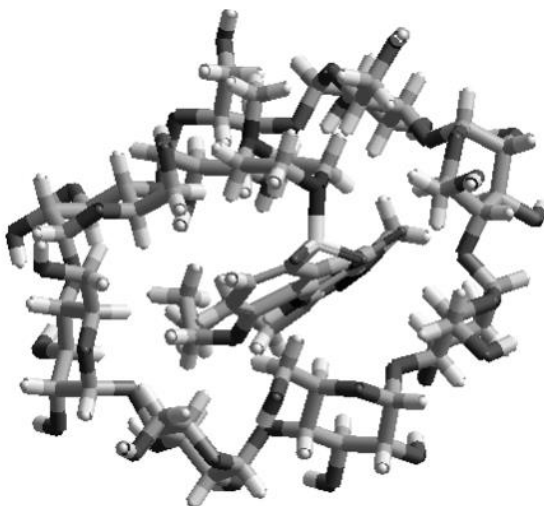
² Zakład Chemii Biomateriałów, Katedra Chemii Analitycznej i Biomateriałów

³ Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM

e-mail: mpisklak@wum.edu.pl

Nadciśnienie płucne (PH, ang. pulmonary hypertension) jest stosunkowo rzadkim schorzeniem o ciężkim przebiegu, charakteryzującym się występowaniem podwyższonego ciśnienia krwi w krwiobiegu płucnym. Do najważniejszych grup leków stosowanych w terapii PH zalicza się inhibitory fosfodiesterazy 5, a wśród nich – sildenafil. Problemem jest konieczność utrzymywania stałego stężenia wspomnianej substancji leczniczej w organizmie pacjentów i związane z tym częste podawanie leku (średnio 3 x na dobę). W związku z tym poszukuje się postaci leku o przedłużonym działaniu zawierających sildenafil. Idealnym rozwiązaniem wydają się być kompleksy sildenafilu z cyklodekstrynami (CDs, ang. cyclodextrins). Celem niniejszej pracy była analiza struktury kompleksów sildenafil- α CD, sildenafil- β CD, sildenafil- γ CD oraz sildenafilu z różnymi cyklodekstrynami modyfikowanymi (m.in. z 2-hydroksypropylocyklodekstryną, 2-HPCD) metodą funkcyjną gęstości elektronowej (DFT, ang. density functional theory) i wytypowanie kompleksu najbardziej stabilnego energetycznie.



Rys. Kompleks sildenafil – γ -cyklodekstryna.

2.

BADANIA SPEKTROSKOPOWE KOSMETYKÓW ANTI-AGING

Agnieszka Kłos¹, Patrycja Jesionkowska¹, Łukasz Rezler¹, Iwona Lewandowska¹, Monika Zielińska-Pisklak², Katarzyna Zawada³, Marcin Sobczak²

¹ *Studencie koło naukowe „Spectrum”, Katedra Chemii Analitycznej i Biomateriałów*

² *Zakład Chemii Biomateriałów, Katedra Chemii Analitycznej i Biomateriałów*

³ *Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy*

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM

e-mail: mpisklak@wum.edu.pl

Od około 20 lat obserwujemy gwałtowny rozwój kosmologii estetycznej, znanej pod nazwą „anti-aging cosmetology”. Przyczyną tego zjawiska jest powszechny, obecny w mediach kult zdrowia, piękna i młodości, a skutkiem – powiększająca się stale gama obecnych na rynku kosmetyków mających za zadanie zapobiegać, zatrzymać lub odwrócić efekty starzenia się skóry.

Celem pracy była ocena właściwości antyoksydacyjnych kremów pochodzących z drogerii, aptek oraz kosmetyków ekologicznych. Do analizy właściwości neutralizowania wolnego rodnika DPPH przez wybrane kosmetyki użyto spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR, ang. elektron paramagnetic resonance). Opracowano metodologię przygotowania kosmetyków o różnym składzie i właściwościach do badań techniką EPR polegającą na, m.in. właściwym rozcieńczeniu próbek kosmetyków (typ rozpuszczalnika i jego ilość), doborze odpowiednich proporcji emulsja kosmetyku – roztwór DPPH. W toku pracy zbadano również kinetykę neutralizowania DPPH, aby określić szybkość reakcji pomiędzy rodnikiem a składnikami poszczególnych kosmetyków. Oceniono również wstępnie stabilność analizowanych produktów w warunkach przyspieszonego starzenia (4 tyg., temp. 45°C).

Największą aktywność antyoksydacyjną posiadały preparaty: Super Power Mezo Serum (Bielenda) zawierające pochodną witaminy C (kwas 3-O-etyloaskorbinowy) oraz krem sporządzony z gotowych roztworów witamin A, E i C; obydwie kosmetyki neutralizowały ok. 60 mg DPPH w przeliczeniu na 1g produktu. Kolejnymi kosmetykami, które wykazywały aktywność antyrodnikową na wysokim poziomie były: serum olejowe Skin Boost (AA) zawierające – podobnie jak preparat firmy Bielenda – kwas 3-O-etyloaskorbinowy oraz krem Red Blocker wyprodukowany przez firmę Aflofarm, którego głównymi składnikami były wyciągi roślinne. Omawiane preparaty neutralizowały ok. 13-15 mg rodnika DPPH w przeliczeniu na 1g preparatu. Były to produkty kosmetyczne dość stabilne – obniżenie aktywności antyoksydacyjnej po 4 tygodniach przechowywania w cieplarni wynosiło jedynie, ok. 10% i 27%.

3.

ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII NMR W ROZTWORZE DO ANALIZY STABILNOŚCI LEKÓW POCHODNYCH DIHYDROPIRYDINY

Paulina Broła¹, Aleksandra Woś¹, Monika Zielińska-Pisklak², Łukasz Szeleszczuk³,
Dariusz Pisklak³

¹ Studencie koło naukowe „Spectrum”, Katedra Chemii Analitycznej i Biomateriałów

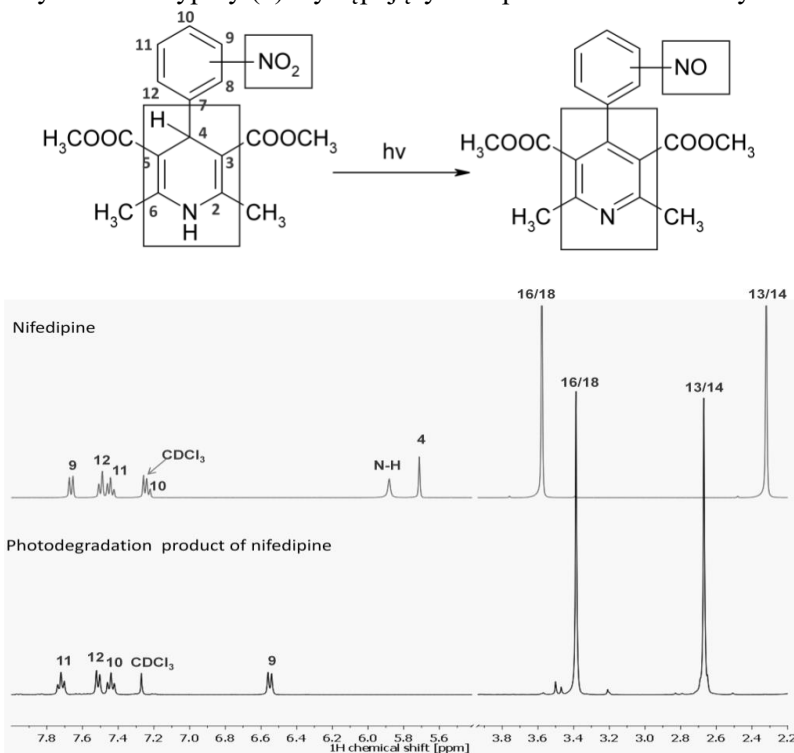
² Zakład Chemii Biomateriałów, Katedra Chemii Analitycznej i Biomateriałów

³ Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM

e-mail: mpisklak@wum.edu.pl

Pochodne dihydropirydyny (DHPs, ang. dihydropyridines) są jedną z podstawowych grup leków stosowanych w chorobach układu sercowo-naczyniowego, takich jak nadciśnienie czy choroba niedokrwienna serca. Najważniejszą cechą strukturalną zapewniającą właściwości farmakologiczne jest obecność w cząsteczce pierścienia dihydropirydynowego zapewniającego udział protonu N-H w wiązaniach wodorowych z odpowiednimi aminokwasami w centrach aktywnych receptorów związanych z kanałami wapniowymi. Niestety substancje lecznicze z grupy DHPs są bardzo wrażliwe na promieniowanie UV. Następstwem ekspozycji na światło są zmiany strukturalne cząsteczki, prowadzące do osłabienia lub zaniku aktywności farmakologicznej. W przedstawionej pracy zastosowano spektroskopię ¹H i ¹³C NMR w roztworze w celu określenia stabilności nifedypiny (1), nitrendypiny (2), nisoldypiny (3), nimodypiny (4), nilwadypiny (5), felodypiny (6), isradypiny (7), nikardypiny (8) i besylatu amlodypiny (9) występujących w produktach leczniczych.



4.

SYNTEZA I BADANIA FIZYKOCHAMICZNE HYDROKSYAPATYTU WZBOGAONEGO W JONY ŻELAZA (III) I SELENU (IV) O POTENCJALNYM ZASTOSOWANIU JAKO NOSNIKA DO DOKOSTNEGO PODANIA LEKÓW

Joanna Eifler, Aleksandra Laskus, Joanna Kolmas

Katedra Chemii Analitycznej i Biomateriałów, Zakład Chemii Analitycznej,

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM

e-mail: jmeifler@gmail.com

Hydroksyapatyt (HAp) o wzorze ogólnym $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ należy do grupy fosforanów wapnia i zawiera w swojej strukturze krystalicznej dodatkowo grupy hydroksylowe. Jest związkiem modelowym dla tzw. apatytu biologicznego, głównego składnika frakcji nieorganicznej tkanek zmineralizowanych [1]. Stechiometryczny hydroksyapatyt występuje w przyrodzie niezwykle rzadko – wynika to z jego podatności do ulegania różnym izomorficznym podstawieniom, co jednocześnie czyni go interesującym obiektem badań w kierunku pozyskiwania materiałów kościotępczych o pożądanych właściwościach. Celem tego projektu było uzyskanie na drodze syntezy hydroksyapatytu podstawionego jonami żelaza (III) lub/i selenu (IV) w różnych stosunkach molowych oraz zbadanie właściwości fizykochemicznych otrzymanych związków. Inkorporacja jonów żelaza wpływa na krystaliczność oraz rozpuszczalność HAp [2], ponadto wzmacnia własności magnetyczne syntetyzowanych materiałów, co może być wykorzystane w diagnostyce obrazowej lub terapii hipertermicznej nowotworów [3]. Z kolei jony selenianowe (IV) wykazują aktywność przeciwbakteryjną, antyoksydacyjną i chemoprewencyjną, jak również promują proliferację zdrowych osteoblastów [4].

Syntezę materiałów prowadzono dwiema metodami. Pierwszą z nich była klasyczna metoda mokra polegająca na strącaniu osadów poprzez stopniowe wkraplanie roztworu $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (z ewentualnym dodatkiem Na_2SeO_3) do roztworu $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (z ewentualnym dodatkiem $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) w temperaturze pokojowej. Druga metoda polegała na wytrącaniu osadu w podwyższonej temperaturze, w obecności dodatkowo wersenianu disodowego oraz bromku heksadecylotrimetyloamoniowego [5].

Otrzymane proszki apatytów poddane zostały analizie metodą spektroskopii w średniej podczerwieni (FT-IR). Potwierdzono otrzymanie hydroksyapatytu dla każdej próbki. Morfologia otrzymanych kryształów została zbadana przy użyciu skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM). W dalszych etapach pracy planowane jest zbadanie stopnia krystaliczności otrzymanych materiałów oraz oszacowanie wielkości kryształitów (PXRD – proszkowa dyfrakcja rentgenowska oraz transmisyjna mikroskopia elektronowa TEM), a także ocena zawartości jonów żelaza (III) i selenu (IV) w uzyskanych próbkach (ICP-OES). Następnie wybrane proszki posłużą do opracowania porowatych materiałów kompozytowych jako nośników substancji leczniczych stosowanych w terapii schorzeń kostnych.

Literatura:

1. Kolmas J.: Badania apatytów syntetycznych i apatytu biologicznego tkanek twardych zęba metodami spektroskopii NMR i IR w ciele stałym, rozprawa doktorska, Warszawski Uniwersytet Medyczny, 2006.
2. Wang J., Nonami T., Yubata K.: Syntheses, structures and photophysical properties of iron containing hydroxyapatite prepared by a modified pseudo-body solution, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19; (2008); 2663–2667.
3. Koksai O.K., Wrobel P., Apaydin G., Cengiz E., Lankosz M., Tozar A., Karahan I.H., F. Özkalayci: Elemental analysis for iron, cobalt, copper and zinc decorated hydroxyapatite synthetic bone dusts by EDXRF and SEM, *Microchemical Journal*, 144; (2019); 83-87.
4. Uskoković V., Iyer M. A., Wu V. M.: One ion to rule them all: combined antibacterial, osteoinductive and anticancer properties of selenite-incorporated hydroxyapatite, *Journal of Materials Chemistry B*, 5(7); (2017); 1430–1445.
5. Wang J., Xue C., Zhu P.: Hydrothermal synthesis and structure characterization of flower-like self-assembly of silicon-doped hydroxyapatite, *Materials Letters*, 196; (2017); 400-402.

5.

OPRACOWANIE I WALIDACJA METODY CHROMATOGRAFICZNEJ (HPLC-UV/VIS) OZNACZANIA KSANTYNY

Arkadiusz Kocur, Dorota Marszałek
Zakład Chemii Leków, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem
Medycyny Laboratoryjnej, WUM
e-mail: arkadiusz.kocur95@gmail.com

Ksantyna (3,7-dihydropuryno-2,6-dion) jest zasadą azotową powszechnie występującą w płynach ustrojowych organizmów żywych. Bierze ona udział w licznych przemianach metabolicznych, będąc bezpośrednim prekursorem kwasu moczowego. Dodatkowo jest składnikiem rybonukleotydu – monofosforanu ksantozyny (XMP), istotnego w przemianach zasad purynowych- syntezie DNA, RNA i glikoprotein. Ze względu na swoje strukturalne podobieństwo do innych zasad azotowych, ściślej puryn, oznaczenie ilościowe tego związku w matrycach biologicznych jest problematyczne, stąd podjęcie takiego tematu badań jest uzasadnione.

W ramach walidacji i opracowania metody z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną (HPLC-UV/VIS) określono warunki analizy, dobrano kolumnę oraz fazę ruchomą pozwalające na dogodny rozdział i oznaczenie ilościowe ksantyny w obecności innych zasad azotowych i ich pochodnych (adenina, guanina, ksantozyna, hipoksantyna). Oznaczenie prowadzono w odwróconym układzie faz, z elucją izokratyczną. Sporządzono krzywe wzorcowe, opracowano metodykę przygotowania roztworów wzorcowych i analizę chromatograficzną. Dodatkowo, przy sporządzaniu roztworów wzorcowych, poprzez dodanie albuminy, uwzględniono potencjalny efekt matrycy biologicznej. Uzyskane wyniki zostały poddane walidacji, która dowiodła o liniowości, precyzji, oraz odtwarzalności opracowanej metody.

Zwalidowana metoda oznaczania ksantyny, została wykorzystana do farmakodynamicznego monitorowania kwasu mykofenolowego (MPA) w osoczu u pacjentów po przeszczepieniach narządowych. Lek ten bowiem jest silnym inhibitorem dehydrogenazy inozynomonofosforanowej (IMPDH), która katalizuje przemianę monofosforanu inozyny do monofosforanu ksantozyny. W związku z tym zmierzone stężenie ksantyny w osoczu będzie jedną ze składowych odzwierciedlających poziom aktywności tego enzymu, co jest istotne z punktu widzenia terapii immunosupresyjnej za pomocą preparatów uwalniających MPA (kwas mykofenolowy występuje w leczeniu w postaci estru – mykofenolanu mofetylu, oraz soli sodowej). Im bardziej lek będzie powodował inhibicję enzymu (zmniejszał aktywność enzymatyczną IMPDH), tym mniejsze będzie zmierzone stężenie ksantyny w osoczu.

Dodatkowo stężenie uzyskane z krzywej wzorcowej (pole powierzchni piku od stężenia) pozwoli lepszą optymalizację farmakoterapii tym lekiem, poprzez porównanie inhibicji enzymu przez MPA, przed i po podaniu leku u danego pacjenta.

Literatura:

1. Cooper N., et al., Quantification of uric acid, xanthine and hypoxanthine in human serum by HPLC for pharmacodynamic studies, *Journal of Chromatography*, B 837.1-2 (2006); 1-10.
2. Tore VN., Bergan S., Determination of inosine monophosphate dehydrogenase activity in human CD4+ cells isolated from whole blood during mycophenolic acid therapy, *Therapeutic drug monitoring*, 28.5; (2006); 608-613.

6.

NOWE METODY IDENTYFIKACJI ZBLIŻONYCH MORFOLOGICZNIE TAKSONÓW SKRZYPÓW (*Equisetum* L.) I ICH WŁAŚCIWOŚCI LECZNICZE ORAZ TOKSYKOLOGICZNE

Katerina Makarova¹, Katarzyna Zawada¹, Joanna J. Sajkowska-Kozielewicz¹,
Syaratul Dalina Yusoff², Wojciech Szypuła³, Joanna Giebułtowiec⁴

¹*Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem
Medycyny Laboratoryjnej, WUM*

²*Centrum Badań nad Lekami i Ziołami, UKM, Wydział Farmaceutyczny,
50300 Kuala Lumpur*

³*Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem
Medycyny Laboratoryjnej, WUM*

⁴*Zakład Bioanalizy i Analizy Leków, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny
Laboratoryjnej, WUM*

e-mail: dalina.yusoff@ukm.edu.my

Skrzyp polny (*Equisetum arvense* L.) to bylina z rodziny skrzypowatych (Equisetaceae), powszechnie występująca w całej Europie (z wyjątkiem wysp śródziemnomorskich), w północnej Azji i Ameryce oraz w północnej i południowej Afryce. Jego ziele jest bogatym źródłem substancji o działaniu prozdrowotnym, chętnie wykorzystywanych w produkcji kosmetyków i suplementów diety do pielęgnacji skóry, włosów i paznokci o właściwościach wzmacniających, przeciwutleniających, przeciwstarzeniowych czy łagodzących trądzik młodzieńczy i różowaty. Do głównych składników bioaktywnych skrzypu należy m.in. krzem i krzemiany (5-8%), potas (1,8%), glin (1,3%), siarka, magnez czy mangan. Ponadto zawiera on kwasy fenolowe, flawonoidy (głównie glikozydy kwercetyny, kemferolu i apigeniny), triterpenoidy, alkaloidy, saponiny oraz fitosterole.

Powszechne zastosowanie skrzypu polnego w kosmetologii i medycynie przyczynia się do częstych pomyłek i zafałszowań surowca. Skrzyp polny jest często mylony z innymi gatunkami, morfologicznie do niego podobnymi i trudnymi do identyfikacji, zwłaszcza w fazie juwenilnej, takimi jak: *E. pratense*, *E. fluviatile*, *E. palustre*, *E. x litorale*, *E. ramosissimum* czy *E. sylvaticum*. Niektóre z nich, na przykład *E. palustre*, mogą wytwarzać alkaloidy, które mogą wywoływać szereg objawów niepożądanych, takich jak toksyczność ostra czy porażenie (u zwierząt gospodarskich), co ma istotne znaczenie praktyczne.

Powszechnie wykorzystywana, oparta na morfologii identyfikacja surowca może prowadzić do niejednoznacznych wniosków, powinna być wykonywana tylko na świeżej roślinie i wymaga wykwalifikowanego botanika. Z tych powodów obecnie coraz częściej polecane są inne metody, takie jak chromatografia czy Barcoding DNA.

Celem pracy było usystematyzowanie wiadomości dotyczących składu, aktywności przeciwutleniającej i toksyczności wybranych gatunków skrzypu oraz analiza perspektyw rozwoju metod służących do ich identyfikacji.

7.

PORÓWNANIE PRZYROSTU BIOMASY W HODOWLACH MYCELIALNYCH GATUNKU GRZYBA *Armillaria mellea* NA PODŁAŻACH NIEKONWENCJONALNYCH

Agata Sośnicka, Jadwiga Turło

Katedra i Zakład Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM
e-mail: asosnicka@wum.edu.pl, jadwiga.turlo@wum.edu.pl.

Opieńka miodowa (*Armillaria mellea*) jest grzybem saproficznym i pasożytniczym, należącym do grupy grzybów znanych pod nazwą *white-rot fungi* [1]. Grupa ta swoją nazwę zawdzięcza zdolności do rozkładania ligniny i celulozy, powodując pojawienie się białych śladów na zaatakowanym drewnie. Istnieją udokumentowane dowody na zdolność rozkładu przez danego grzyba niektórych toksycznych zanieczyszczeń środowiskowych, opornych na działanie innych mikroorganizmów, co jest uwarunkowane obecnością w strukturze grzyba kompleksu enzymatycznego [2].

Badanie polegało na wstępnym sprawdzeniu możliwości wykorzystania jako substratów podłoża hodowlanego niekonwencjonalnych źródeł węgla i azotu, w dużej mierze stanowiących produkty odpadowe różnych gałęzi przemysłu, celem ich utylizacji. Przetestowano łącznie 79 dwuskładnikowych wariantów mediów hodowlanych, zachowując stosunek węgla do azotu ustalony na podstawie składu pożywki optymalnej.

Użyte substraty to: azotan (V) amonu, chlorek amonu, celuloza, DDGS (suszony wywar gorzelniany), drewno (sosna, topola, modrzew), ekstrakt drożdżowy, glukoza, melasa, mocznik, CSL (namok kukurydziany), pepton sojowy, sacharoza, serwatka, skrobia.

Podłoża zostały przygotowywane w kolbkach o pojemności 100 ml, wysterylizowano je w autoklawie, a następnie zaszczerpiono inokulum pochodzącym z mycelialnej hodowli wgłębnej (hodowanej na podłożu optymalnym przez 14 dni) i umieszczono na wytrząsarce. Po 14 dniach wytrząsania hodowla została zdjęta z wytrząsarki i każdą z kolb zawierającą inny wariant medium hodowlanego poddano oględzinom przyrostu biomasy. Na tej podstawie wyróżniono warianty podłoży, na których przyrost biomasy był widoczny i te warianty zostały zakwalifikowane do dalszych badań.

Otrzymane wyniki wskazują na to, iż produkcja biomasy *A. mellea* zachodzi szczególnie wydajnie na podłożach zawierających DDGS, CSL, melasę i serwatkę, będących produktami odpadowymi przemysłu, przyczyniając się tym samym do ich utylizacji. Na podłożach zawierających azotan (V) amonu, chlorek amonu i mocznik na ogół nie dochodziło do produkcji biomasy, bądź była ona niewielka. Reszta substratów, w zależności od doboru drugiego składnika, powodowała umiarkowany lub niewielki przyrost biomasy grzyba.

Literatura:

1. Turło J., Turło A., Application of mushroom cultures and isolated enzymes for biodegradation of organic environmental pollutants. *Military Pharmacy and Medicine*, VI-3; (2013); 27-36.
2. Baumgartner K., Coetzee M.P.A., Hoffmeister D., Secrets of the subterranean pathosystem of *Armillaria*. *Molecular Plant Pathology*, 12(6); (2011); 515-534.

8.

ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH W OWOCACH ARONII CZARNOOWOCOWEJ W ZALEŻNOŚCI OD REGIONU POCHODZENIA ORAZ CZASU ZBIORU

Natalia Dobros, Katarzyna Zawada, Agnieszka Ginał, Iwona Wawer

*Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM*

e-mail: dobros.natalia@gmail.com

Polska jest największym producentem aronii czarnoowocowej (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott), wytwarzającym około 90% światowych zbiorów tych owoców. Są one bogatym źródłem związków polifenolowych, takich jak kwasy fenolowe, flawonoidy, w tym antocyjany, procyanidyny, flawonole, flawanole. Związki te wykazują właściwości antyoksydacyjne, przeciwzapalne, immunostymulujące, przeciwnowotworowe oraz przeciwbakteryjne. Wzmacniają ściany naczyń krwionośnych, przeciwdziałają miażdżycy, chorobom serca oraz przewodu pokarmowego. Ze względu na swoje unikalne właściwości prozdrowotne, aronia jest cennym, jednak wciąż niedocenionym surowcem dla przetwórstwa [1, 2].

Celem pracy było określenie zmienności całkowitej zawartości związków polifenolowych w owocach aronii czarnoowocowej w zależności od regionu pochodzenia i czasu zbioru. Owoce pozyskano z plantacji z województwa mazowieckiego, podlaskiego i wielkopolskiego w latach 2016 i 2017. Materiał badawczy stanowiły zliofilizowane owoce, z których przygotowano ekstrakty metanolowe. Zakres pracy obejmował oznaczenie całkowitej zawartości polifenoli metodą Folina-Ciocalteu, flawonoidów metodą kolorymetryczną z wykorzystaniem chlorku glinu oraz antocyjanów metodą różnicowego pH. Oznaczono również aktywność antyoksydacyjną z wykorzystaniem testu FRAP.

Lokalizacja plantacji oraz czas zbioru znacząco wpływają na zawartość związków polifenolowych i aktywność antyoksydacyjną owoców aronii. Całkowita zawartość polifenoli i flawonoidów dla wszystkich regionów była najwyższa dla zielonych owoców. W trakcie ich dojrzewania zaobserwowano spadek związków polifenolowych, a następnie powolny wzrost. Najwyższą aktywność antyoksydacyjną odnotowano również dla zielonych owoców. Natomiast owoce w połowie sezonu wegetacyjnego, w sierpniu i na początku września, charakteryzowały się najwyższą zawartością antocyjanów.

Literatura:

1. Jurikova T., Mlcek J., Skrovankova S., Sumczynski D., Sochor J., Hlavacova I., Snopek L., Orsavova J., Fruits of black chokeberry *Aronia melanocarpa* in the prevention of chronic diseases. *Molecules*, 22(6); (2017); 944-967.
2. Denev P., Čiž M., Kratchanova M., Blazheva D., Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenols reveal different antioxidant, antimicrobial and neutrophil-modulating activities. *Food Chem*, 284; (2019); 108-117.

Badania przeprowadzono w ramach projektu nr 2015/17/B/NZ7/03089, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

9.

WSTĘPNE BADANIA AKTYWNOŚCI PRZECIWBAKTERYJNEJ WYBRANYCH POCHODNYCH TRIAZOLI I TETRAZOLI

Katarzyna Chojnowska¹, Magdalena R. Błaszczuk¹, Ewa Siemieniowska¹,

Daniel Szulczyk², Monika Wujec³

¹ *Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM*

² *Katedra i Zakład Biochemii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM*

³ *Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie.*

e-mail: chojnowskakasia@wp.pl

Ciągłe narastanie oporności drobnoustrojów na antybiotyki stanowi od wielu lat problem globalny i powoduje konieczność poszukiwania nowych, skutecznych w walce z zakażeniami, leków. Do obiecujących grup związków chemicznych o znanej, szerokiej aktywności biologicznej i potencjalnym działaniu przeciwdrobnoustrojowym należą różne pochodne triazoli i tetrazoli [1,2,3,4].

Celem pracy było sprawdzenie potencjalnego działania przeciwbakteryjnego kilkudziesięciu wybranych pochodnych triazoli i tetrazoli. Badania prowadzono metodą krążkowo-dyfuzyjną oraz oznaczając wartość najmniejszego stężenia hamującego (MIC), wg wytycznych CLSI.

Spośród pochodnych 1,2,4-triazolino-3-tionu trzy związki w metodzie krążkowo-dyfuzyjnej wykazały aktywność wobec wzorcowych szczepów bakterii, zarówno Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych (strefy zahamowania wzrostu 12-22 mm). Pierścienie dwóch aktywnych związków zawierają w pozycji 1 podstawnik hydroksylowy, w przypadku trzeciego związku jest to pierścień pirolidynowy. Obecność tych podstawników ma prawdopodobnie wpływ na działanie przeciwbakteryjne. Pochodne 1,2,4-triazolino-5-tionu nie wykazały działania na badane szczepy bakterii.

W grupie badanych 4-metoksy-1H-tetrazolo-5-aminy, jeden związek ((N-(2-fluorofenilo) -1-(4-metoksyfenilo) -1H-tetrazolo-5-amina), wyróżnił się ze względu na najsilniejsze działanie i najszersze jego spektrum, obejmujące także bakterie Gram-ujemne (strefy zahamowania 11-29 mm, wartości MIC 4-8 µg/ml). Na aktywność tego związku przypuszczalnie wpływa obecność i położenie pierścienia fenyłowego podstawionego atomem fluoru. Kilkanaście innych pochodnych z tej grupy wykazało jedynie słabe działanie wobec bakterii Gram-dodatnich.

Literatura:

1. Sun XY., Jin YZ., Li FN., Li G., Chai KY., Quan ZS., *Arch. Pharm. Res.*, 29; (2006); 1080-1085.
2. Stefańska J., Nowicka G., Struga M., Szulczyk D., Kozioł AE., Augustynowicz-Kopeć E., Napiórkowska A., Bielenica A., Filipowski W., Filipowska A., Drzewiecka A., Giliberti G., Madeddu S., Boi S., La Colla P., Sanna G., *Chem. Pharm. Bull.*, 63; (2015); 225-236
3. Lee CH., Liu JW., Li CC., Tang YF., Su LH., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 55; (2011); 4058-4063.
4. Ostrovskii VA., Koldobskii, GI., Trifonov RE., *Comp. Heterocycl. Chem.*, 6; (2008); 257- 423.

10.

ANALIZA ILOŚCIOWA PREPARATÓW ZAWIERAJĄCYCH IZOFLAWONY SOJOWE

Ilona Bodek¹, Agnieszka Zielińska²

¹*Studencie koło naukowe „Free Radicals”, Zakład Chemii Fizycznej, Wydział
Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM*

²*Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM*
e-mail: ilona.bodek@onet.eu, agnieszka.zielinska@wum.edu.pl

Soja warzywna (*Glycine max* (L.) Merr.) z rodziny Fabaceae (Bobowate) jest jednym z najbogatszych źródeł izoflawonów. Roślina ta pochodzi z Azji. Jej nasiona zawierają dużo cennych składników: białko wysokowartościowe, tłuszcze, błonnik, saponiny, izoflawony - głównie genisteinę i daidzeinę. Izoflawony mogą występować w postaci wolnej jako aglikony (aktywne biologicznie) lub tworzyć glikozydy, malonyloglukozydy i acetyloglukozydy (formy nieaktywne biologicznie). Ze względu na podobną budowę chemiczną do estrogenów są one klasyfikowane jako fitoestrogeny, które oddziałują z receptorem ER β . Wiele przeprowadzonych badań wykazuje, że izoflawony występujące w produktach sojowych pomagają regulować gospodarkę hormonalną u kobiet, obniżają poziom cholesterolu, poprawiają funkcję śródbłoka, zmniejszają sztywność tętnic, zapobiegają osteoporozie oraz wykazują działanie przeciwnowotworowe. Podobieństwo strukturalne do estrogenów budzi niepokój związany z bezpieczeństwem ich stosowania. Jednak z badań EFSA (European Food Safety Authority) wynika, że izoflawony nie mają szkodliwego wpływu na tkanki piersi, macicy i tarczycy u kobiet w okresie postmenopauzalnym.

Celem podjętych badań było oznaczenie zawartości izoflawonów w wybranych preparatach metodą HPLC-DAD oraz porównanie z deklaracją producenta. Materiał użyty do badań stanowiło pięć suplementów diety oraz jeden lek, dostępne na polskim rynku. Próbkę przygotowano w kilku rozpuszczalnikach. Jednym z nich był 80% etanol, gdzie występowały aglikony i glikozydy. Przy użyciu 0,1M kwasu solnego oraz buforu fosforanowego pH 6,8 na chromatogramach widoczne były tylko formy glikozydowe. Oznaczono zawartość izoflawonoidów metodą HPLC w przeliczeniu na aglikony - genisteinę i daidzeinę.

Literatura:

1. Messina M., Soy and Health Update: Evaluation of the Clinical and Epidemiologic Literature. *Nutrients*, 8(12); (2016); 754-796.
2. Fen-Jin H., Jin-Qiang C., Consumption of soybean, soy foods, soy isoflavones and breast cancer incidence: Differences between Chinese women and women in Western countries and possible mechanisms, *Food Science and Human Wellnes*, s 2; (2013); 146–161.

11.

OTRZYMYWANIE INHIBITORÓW RENINY POCHODNYCH KWASU 4-AMINO-3-HYDROKSYHEKSANOWEGO. BADANIE AKTYWNOŚCI HAMUJĄCEJ I STABILNOŚCI ENZYMATYCZNEJ

Artur Wierzbowski, Paweł Jaworski

Studenckie koło naukowe „LEK”, Zakład Chemii Leków, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM

e-mail: awierzbowski123@gmail.com

Celem pracy była synteza potencjalnych inhibitorów reniny będących zmodyfikowanym analogiem fragmentu 8-11 angiotensynogenu, zbudowanych z syntetycznych pochodnych aminokwasów oraz zbadanie metodami *in vitro* ich aktywności hamującej reninę.

Leki hamujące układ renina – angiotensyna – aldosteron stanowią podstawową grupę środków leczniczych stosowanych w chorobach układu sercowo – naczyniowego, takich jak nadciśnienie tętnicze i niewydolność serca. Nową możliwością hamowania tego układu jest zastosowanie inhibitorów reniny, które blokują pierwszy etap przekształcenia angiotensynogenu (substratu reniny) w wazoaktywny peptyd angiotensynę II. Obecnie poszukiwanie nowych syntetycznych inhibitorów reniny polega na projektowaniu związków w oparciu o budowę substratu i jego modyfikacjach prowadzących do niepeptydowych inhibitorów reniny. Główną przeszkodą w osiągnięciu korzystnej użyteczności terapeutycznej jest ich niska biodostępność.

Związki o zaprojektowanej strukturze zostały otrzymane na drodze wieloetapowej syntezy. Wszystkie otrzymane półprodukty oraz związki końcowe były wielokrotnie oczyszczane z wykorzystaniem chromatografii kolumnowej, jednorodność potwierdzana była metodą chromatografii cienkowarstwowej i wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Struktura potwierdzona została metodami spektralnymi. Aktywność została zbadana w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem reniny i jej substratu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

Literatura:

1. Marszałek D., Goldnik A., Mazurek AP., Winiecka I., Jaworski P., New renin inhibitors – stability and activity determination Part I., *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, 71(4); (2014); 533-545.
2. Winiecka I., Jaworski P., Mazurek AP., Marszałek D., Goldnik A., Sokulski D., Novel renin inhibitors containing derivatives of N-alkylleucyl- β -hydroxy- γ -amino acids, *Journal of Peptides Science*, 22(2); (2016); 67-128.
3. Winiecka I., Marszałek D., Goldnik A., Jaworski P., Mazurek AP., Novel renin inhibitors containing a non-peptide aminoalkanoyl moiety at P1- P1' position, *Pharmazie*, 69; (2014); 263-270.
4. Paruszewski R. et al., New Renin Inhibitors with Pseudodipeptidic Units in P1-P1' and P2'-P3' Positions, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50(6); (2002); 850-853.

12.

OCENA ZNAJOMOŚCI PREPARATÓW ROŚLINNYCH O DZIAŁANIU NASENNYM I/LUB USPOKAJAJĄCYM

Joanna J. Sajkowska-Kozielewicz¹, Beata Kozielewicz², Zofia Skrzypczak³

¹*Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM*

²*Kolegium Ekonomiczno-Społeczne, Szkoła Główna Handlowa*

³*Katedra Gospodarki Narodowej, Zakład Gospodarki Rynkowej, Uniwersytet Warszawski
e-mail: jsajkowska@wum.edu.pl*

Zjawisko samoleczenia staje się w Polsce coraz bardziej powszechne i dotyczy osób należących do różnych grup wiekowych. Ma ono niewątpliwie aspekt pozytywny, jakim jest zainteresowanie człowieka swoim stanem zdrowia, podjęcie działań profilaktycznych czy powiększanie własnych zasobów zdrowotnych. Co jednak, jeśli obserwowany trend sprowadza się wyłącznie do bezrefleksyjnego przyjmowania informacji reklamowych dotyczących produktów dostępnych w aptekach? We współczesnym społeczeństwie stale zwiększa się grupa ludzi borykających się z nadmiernym stresem, przygnębieniem oraz kłopotami ze snem. Szczególnie oni w sytuacjach krytycznych przed wizytą u specjalisty interesują się preparatami dostępnymi bez recepty. Wśród tych o właściwościach uspokajających i/lub nasennych dominują produkty pochodzenia roślinnego. Ze względu na dużą popularność leków OTC i suplementów diety o tym profilu wskazań, z czego grupa tych drugich szybko rośnie głównie z powodu stosunkowo łatwej drogi wprowadzenia na rynek, należy lepiej zbadać ten dział rynku farmaceutycznego oraz świadomość społeczeństwa.

Celem przeprowadzonych badań była ocena wiedzy społeczeństwa na temat roślinnych preparatów dostępnych w aptekach bez przepisu lekarza, ze szczególnym uwzględnieniem preparatów o działaniu nasennym i/lub uspokajającym. Badana grupa 235 dorosłych osób była zróżnicowana pod względem płci, wieku, miejsca zamieszkania i wykształcenia. Zbieranie danych odbywało się przy pomocy kwestionariusza.

Wyniki wskazują, że 1/5 respondentów nie ma wiedzy na temat preparatów, które przyjmuje. 63% badanych stwierdziło, iż istnieje różnica w skuteczności pomiędzy roślinnymi lekami i suplementami diety. Zebrane dane świadczą też o tym, iż percepcja różnic pomiędzy obiema kategoriami preparatów związana jest z płcią, wykształceniem i wiekiem ankietowanych. Co ważne, niefachowe źródła informacji, takie jak Internet (24%) czy rodzina (18%) okazały się być podstawą wiedzy ankietowanych na temat ziół i preparatów roślinnych. Respondenci 177 razy prawidłowo podali nazwy preparatów roślinnych o działaniu uspokajającym i/lub nasennym. Współczesna fitoterapia daje szerokie możliwości terapeutyczne w leczeniu, jednak dalszy rozwój tej dziedziny wymaga jeszcze lepszej edukacji nie tylko środowiska medycznego, ale i społeczeństwa.

Literatura:

1. Dz.U. 2011 nr 80 poz. 437.
2. Skrzypczak Z., Haczyński J., Rynek farmaceutyczny w Polsce – determinanty popytu na leki. *Handel wewnętrznym*, 4; (2011); 41-50.
3. Pindyck R., *Market Definition and Concentration*. Sloan School of Management, Massachusetts Institute of Technology, 2012.

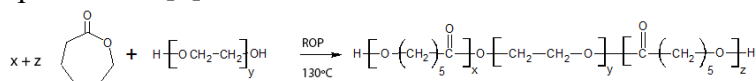
13.

BADANIA NAD SYNTEZĄ BIODEGRADOWALNYCH MATRYC POLIMEROWYCH MOGĄCYCH ZNALEŹĆ ZASTOSOWANIE W TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

Klaudia Pantak, Adam Kasiński, Monika Zielińska-Pisklak, Ewa Olędzka, Marcin Sobczak
Zakład Chemii Biomateriałów, Katedra Chemii Analitycznej i Biomateriałów, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM
 e-mail: kk.pantak@gmail.com

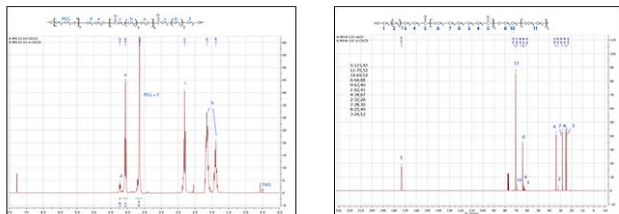
Choroby nowotworowe są jedną z głównych przyczyn śmierci na całym świecie. Pomimo dostępności wielu metod leczenia, efektywna terapia przeciwnowotworowa wciąż pozostaje wielkim wyzwaniem. Obiecującym rozwiązaniem jest zastosowanie biodegradowalnych, polimerowych nośników, które umożliwiają prowadzenie terapii celowanej, wiążącej się ze zwiększeniem stężenia substancji leczniczej w tkance docelowej przy jednoczesnym ograniczeniu stężenia ogólnoustrojowego. Ponadto, wykorzystanie układów hydrożelowych wrażliwych na bodźce temperaturowe umożliwia opracowywanie systemów implantowanych poprzez wstrzyknięcie w okolice guza. Taka forma podania leku nie tylko podnosi komfort pacjenta, ale także zapobiega zakażeniom [1, 2].

W ramach projektu otrzymano biodegradowalne, wielkocząsteczkowe nośniki leków przeciwnowotworowych. Matryce polimerowe otrzymano w procesie polimeryzacji z otwarciem pierścienia (*ang. ring-opening polymerization, ROP*) ε-kaprolaktonu (CL) i glikolu polioksyetylenowego (PEG) o różnych masach molowych, wykorzystując układ katalityczny oparty na acetyloacetonianie cyrkonu (IV) lub *Candida antarctica* lipase B jako biokatalizator (Rysunek 1). Dodatkowo, w celu optymalizacji warunków procesu, zbadano wpływ masy molowej użytego PEG oraz stosunku CL/PEG na strukturę otrzymanych kopolimerów [3].



Rysunek 1 Synteza matrycy polimerowej PCL-PEG-PCL na drodze kopolimeryzacji CL i PEG.

Zsyntetyzowane polimery zostały poddane analizie spektroskopowej. Za pomocą metody NMR potwierdzono strukturę kopolimerów oraz obliczono ich liczbowo średnią masę molową. Analiza produktów polireakcji technikami ^1H i ^{13}C NMR potwierdziła, że w wyniku procesów ROP oraz e-ROP otrzymano kopolimery triblokowe PCL-PEG-PCL.



Rysunek 2 Przykładowe widma ^1H i ^{13}C NMR kopolimeru PCL-PEG-PCL.

Literatura:

1. Jelonek K., Kasperczyk J., Polyesters and polyester carbonates for controlled drug delivery. Part I. Tailoring of the drug release, *Polimery*, vol. 58(9); (2013); 654–662.
2. Taghizadeh B., *et al.*, Classification of stimuli-responsive polymers as anticancer drug delivery systems, *Drug Deliv.*, 22(2); (2015); 145–155.
3. Liu CB., *et al.*, Thermoreversible gel-sol behavior of biodegradable PCL-PEG-PCL triblock copolymer in aqueous solutions, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, 84B (1); (2008); 165–175.

14.

POTENCJALNE ZASTOSOWANIE GŁÓWNEGO BIAŁKA LATEKSU (MLP) Z *Chelidonium majus* L. I JEGO PRODUKCJA W SYSTEMIE *E. coli*

Sophia Bałdysz, Oskar Musidlak, Robert Nawrot

Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Wirusologii Molekularnej, Wydział Biologii,

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

e-mail: zbałdysz_1@wp.pl

Glistnik jaskółcze ziele (*Chelidonium majus* L.) to roślina z rodziny makowatych (*Papaveraceae*). Jest szeroko rozpowszechniona na kontynencie europejskim i azjatyckim, na północnoamerykańskim występuje jako gatunek inwazyjny. Kwitnie od maja do października, można ją znaleźć w lasach liściastych, na przydrożach oraz przy zabudowaniach. Wykorzystywana była w medycynie ludowej, przy leczeniu żółtaczki jako napar lub przeciw glistom. Posiada system rur mlecznych (latyferów), wypełnionych lepkiem, żółtopomarańczowym sokiem (zwanym lateksem), który jest używany do usuwania brodawek wywołanych ludzkim wirusem brodawczaka (HPV). Lecznice właściwości glistnika można przypisać związkom aktywnym biologicznie; alkaloidom, flawonoidom, kwasom organicznym oraz białkom. Jednym z nich jest główne białko lateksu (MLP), o niedokładnie poznanej funkcji, choć przypuszcza się, że należy do grupy białek MLP/RBP-podobnych, które są związane z dojrzewaniem owoców. Zawartość tego białka jest najwyższa w ujęciu procentowym w porównaniu do innych białek. Wykazano, że białka z tej grupy wiążą kwasy nukleinowe, przynależność MLP do grupy alergenów roślinnych (Bet v1) wraz z białkami PR-10 może sugerować jego aktywność przeciwwirusową.

Celem pracy było przygotowanie systemu ekspresyjnego białka MLP w *E. coli*, jego produkcja, oczyszczenie i przeprowadzanie analiz aktywności. Punktem wyjściowym była amplifikacja genu kodującego białko MLP z *C. majus* przy pomocy starterów przygotowanych na podstawie bazy sekwencji transkryptomu *C. majus* poprzez namnożenie w łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) na matrycy cDNA przepisanej z wyizolowanego z rośliny RNA. Kolejnym punktem była ponowna reakcja PCR, ze starterami umożliwiającymi dołączenie do produktu pierwszej reakcji miejsc restrykcyjnych, ułatwiających późniejsze klonowanie do wektora pGEM. Po uzyskaniu produktu z miejscami restrykcyjnymi nastąpiła ligacja z wektorem, transformacja bakterii oraz wysianie kolonii bakterii na płytki. Po uzyskaniu białych kolonii wyizolowano plazmidy, późniejsze trawienie restrykcyjne i ligacja uzyskanego produktu do wektora StarGate, w celu transformacji bakterii do produkcji białka. Dalsze badania nad białkiem MLP z *C. majus* będą miały na celu sprawdzenie jego właściwości nukleolitycznych oraz przypisywanej mu potencjalnej aktywności przeciwwirusowej.

Literatura:

1. Nawrot TS., *Curr Prot Pep Sci*, 18; (2017); 864-880.
2. Nawrot TS., et al., (2016) *Planta* 244; (2016); 1055-1064.
3. Zielińska S., et al., *Front Pharmacol* 9; (2018); 299-328.
4. *Chelidonium majus* coding sequences (CDS) database on IPK Gatersleben ViroBLAST server: <http://webblast.ipk-gatersleben.de/chelidonium/>

15.

BADANIE PORÓWNAWCZE SKŁADU I WŁAŚCIWOŚCI PRZYPRAW CHILI POCHODZĄCYCH OD RÓŻNYCH PRODUCENTÓW

Martyna Woźniak¹, Paweł Siudem², Katarzyna Paradowska²

¹*Studenckie Koło Naukowe „Free Radicals” przy Zakładzie Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM*

²*Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, WUM*
e-mail: wozniak.martyna.m@gmail.com

Pieprzowiec (*Capsicum spp.*) nazywany też papryką ostrą, jest rośliną należącą do rodziny psiankowatych (*Solanaceae*). Historia papryki chili rozpoczęła się w Ameryce Łacińskiej w czasach prekolumbijskich. Obecnie za główne źródło chili jest uważane 5 gatunków: *C. annuum*, *C. chinense*, *C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. pubescens*. Dominującym alkaloidem, który znajdziemy w owocach tych gatunków jest kapsaicyna. Kapsaicyna to organiczny związek (trans-8-metylo-N-wanilino-6-nonenamid) o wzorze chemicznym: $C_{18}H_{27}NO_3$ i masie cząsteczkowej 305,41 g/mol. Związek ten odpowiedzialny jest za pikantny smak papryki. Owoce zawierają od 0,04 do 1,5% głównego alkaloidu. Istnieją jednak gatunki zawierające nawet do 4% kapsaicyny [1].

Kapsaicyna ma silnie działanie drażniące na skórę i błony śluzowe. Sproszkowane owoce pieprzowca ze względu na pikantny smak są popularną przyprawą kulinarną.

Pierwszym etapem pracy była optymalizacja ekstrakcji poprzez wybór najlepszego rozpuszczalnika. Jako kryterium wyboru rozpuszczalnika przyjęto całkowitą zawartość polifenoli. W wyniku pomiarów, najbardziej bogate w polifenole okazały się ekstrakty wodno-etanolowe (etanol 70%), które wykorzystano do dalszych analiz. Dla 8 sporządzonych ekstraktów określono całkowitą zawartość polifenoli (TP) w przeliczeniu na kwas galusowy, całkowitą zawartość flawonoidów (TF) w przeliczeniu na kwercetynę oraz całkowitą zawartość karotenoidów metodą spektrofotometryczną. Dodatkowo zostały wykonane testy właściwości antyoksydacyjnych (FRAP i DPPH). Sprawdzono zależność pomiędzy całkowitą zawartością polifenoli i flawonoidów, a wynikami testów antyoksydacyjnych.

W dalszych etapach pracy planowane jest oznaczenie zawartości kapsaicyny, dihydrokapsaicyny oraz kurkuminy, jako barwnika w analizowanych przyprawach z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) oraz magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) [2]. Ponadto w planach jest także oznaczenie zawartości witaminy C (HPLC).

Literatura:

1. Meghvansi, M.K., et al., Naga chilli: a potential source of capsaicinoids with broad-spectrum ethnopharmacological applications. *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1); (2010); 1-14.
2. Sora, G.T. S., et al., A comparative study of the capsaicinoid and phenolic contents and in vitro antioxidant activities of the peppers of the genus *Capsicum*: an application of chemometrics. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12); (2015); 8086-8094.