



XXIV KONFERENCJA NAUKOWA WYDZIAŁU  
FARMACEUTYCZNEGO Z OML GDAŃSKIEGO  
UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO



PROGRAM I STRESZCZENIA

GDAŃSK, 09-10.12.2016

24konferencja.gumed.edu.pl

**XXIV** Konferencja Naukowa  
Wydziału Farmaceutycznego z OML  
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

**PROGRAM I STRESZCZENIA**

**Gdańsk, 9-10 grudnia 2016**

Komitet Organizacyjny XXIV Konferencji Naukowej Wydziału Farmaceutycznego z OML informuje, że streszczenia wykładów, komunikatów i posterów zamieszczono w materiałach konferencyjnych w formie nadesłanej przez Autorów. Komitet Organizacyjny nie ponosi odpowiedzialności za ich treść merytoryczną.

## **KOMITET NAUKOWY**

**XXIV Konferencji Naukowej Wydziału Farmaceutycznego z OML**

**Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego**

prof. dr hab. Tomasz Bączek  
prof. dr hab. Roman Kaliszan  
dr hab. Michał Markuszewski, prof. nadzw. GUMed  
prof. dr hab. Jadwiga Renata Ochocka  
prof. dr hab. Wiesław Sawicki  
prof. dr hab. Franciszek Sączewski  
prof. dr hab. Piotr Szefer  
prof. dr hab. Małgorzata Sznitowska  
prof. dr hab. Marek Wesołowski

## **KOMITET ORGANIZACYJNY**

dr hab. Michał Markuszewski, prof. nadzw. GUMed  
dr hab. Katarzyna Gobis  
dr hab. Maciej Jankowski, prof. nadzw.  
dr hab. Anita Kornicka  
dr hab. Krystyna Pieńkowska  
dr hab. Arkadiusz Piotrowski, prof. nadzw.  
dr hab. Danuta Siluk  
dr hab. Bartosz Wielgomas  
mgr farm. Paulina Dąbrowska

**Patronat honorowy**

**Rektor Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego**

**dr hab. Marcin Gruchała, prof. nadzw.**



Patronat Honorowy

**Prezydent Miasta Gdańska**

**PAWEŁ ADAMOWICZ**

## Sponsorzy



shim-pol



# OCEANIC

**Program XXIV Konferencji Naukowej Wydziału Farmaceutycznego z  
OML Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego**

**9 grudnia 2016**

**Sesja Jubileuszowa z okazji 70. urodzin Prof. dr. hab. Romana Kaliszana**

**Budynek Audytoryjny, Sala *Auditorium Maximum***

**Rozpoczęcie Konferencji (godz. 14:30)**

Powitanie gości - dr hab. Michał Markuszewski, prof. nadzw., dziekan Wydziału Farmaceutycznego z OML

Wystąpienie Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego dr hab. Marcina Gruchaly, prof. nadzw.

Prezentacja sylwetki i życiorysu prof. dr. hab. Romana Kaliszana - dr hab. Michał Markuszewski, prof. nadzw.

**Długa droga naukowa pod znakiem chromatografii**

**Prof. dr hab. Roman Kaliszan**

*Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk, Polska*

Wystąpienia gości

Koncert Chóru Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego im. Tadeusza Tylewskiego

*Przerwa na kawę*

**WYKŁADY PLENARNE (godz. 17:00)**

**Chemometrics on metabolite profiles or fingerprints**

**Prof. Yvan Vander Heyden**

*Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium*

**Use of miniaturized chromatographic and electrophoretic techniques in drug analysis:  
State of the art and future trends**

**Prof. Salvatore Fanali**

*Italian National Research Council, Rome, Italy*

**Selektywność - odwieczny problem i nowe podejście w analizie chromatograficznej  
związków biologicznie aktywnych**

**Prof. dr hab. Bogusław Buszewski**

*Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń, Polska*

**Oddech ludzki – źródło informacji o stanie zdrowia człowieka**

**Prof. dr hab. Jacek Namieśnik**

*Politechnika Gdańska, Gdańsk, Polska*

*Sesja Jubileuszowa zostanie poprzedzona uroczystą Mszą Św. w dniu 9 grudnia 2016 o godz. 13:00  
w parafii Świętego Krzyża w Gdańsku-Wrzeszczu przy ul. Mickiewicza 11.*

## 10 grudnia 2016

- 8:15 - 9:00 REJESTRACJA UCZESTNIKÓW/KAWA  
Szatnia przy wejściu głównym, budynek Audytoryjny Wydziału Farmaceutycznego
- 9:00 - 9:05 OTWARCIE SESJI  
Przewodniczący sesji – prof. dr hab. Renata Ochocka,  
prof. dr hab. Roman Kaliszan  
*Auditorium Maximum*, budynek Audytoryjny Wydziału Farmaceutycznego
- 9:05 - 9:40 WYKŁAD PLENARNY  
Na początku było 35 atomów ksenonu  
Prof. dr hab. Franciszek Sączewski  
*Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny*
- 9:40-11:40 PREZENTACJE USTNE  
*Auditorium Maximum* budynek Audytoryjny Wydziału Farmaceutycznego
- U1  
9:40-9:50 **Problems of investigation and rational use of medicinal plants of Kazakhstan**  
Patsayev A.K., Makhatov B.K., Kucherbayev K.Dj.  
*Department of Pharmacognosy and Chemistry, South Kazakhstan Pharmaceutical Academy*
- U24  
9:50-10:00 **The development and standardization new medicinal drugs based on *Maclura pomifera***  
Korotkov Vladimir, Ordabayeva Saule
- U3  
10:00-10:10 **Wyznaczanie uniwersalnych, ilościowych zależności struktura-retencja chromatograficzna (QSRR) z wykorzystaniem RP HPLC**  
Łukasz Kubik, Paweł Wiczling
- U4  
10:10-10:20 **Nowe pochodne 5-(1,3,4-oksadiazol-2-yl)benzenosulfonamidu: synteza i aktywność przeciwnowotworowa *in vitro***  
Jarosław Sławiński, Krzysztof Szafranski, Beata Żołnowska, Aneta Pogorzelska, Anna Kawiak, Mariusz Belka, Tomasz Bączek
- U5  
10:20-10:30 **Ocena sposobu żywienia osób aktywnych fizycznie i sportowców uprawiających popularne sporty siłowo- wytrzymałościowe**  
Marta Stachowicz, Anna Lebedzińska
- U6  
10:30-10:40 **Opracowanie metody oznaczania profili lipidomicznych w próbkach biologicznych za pomocą GC-MS**  
Magdalena Buszewska-Forajta, Małgorzata Patejko, Joanna Raczak-Gutknecht, Marcin Markuszewski, Marcin Matuszewski, Roman Kaliszan, Michał J. Markuszewski
- U7  
10:40-10:50 **Nowe pochodne cykloalkiloaminotiosemikarbazydowe o aktywności przeciwgruźliczej**  
Malwina Krause, Katarzyna Gobis, Henryk Foks, Ewa Augustynowicz-Kopeć, Agnieszka Napiórkowska, Krzysztof Bojanowski, Małgorzata Szczesio
- U8  
10:50-11:00 **Usprawnienia procedury stosowanej do wyznaczania stabilności metabolicznej w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej pod kątem wysokiej przepustowości**  
Szymon Ulenberg, Tomasz Bączek



- U9  
11:00-11:10 **Syntetyczne lipopochodne tripeptydu Gly-His-Lys o potencjalnym zastosowaniu w pielęgnacji i leczeniu uszkodzeń skóry**  
Monika Kukowska, Michał Pikuła, Krystyna Dzierzbicka, Adriana Schumacher, Piotr Trzonkowski
- U10  
11:10-11:20 **Bioelektroniczny nos jako nowoczesne narzędzie w analizie substancji zapachowych**  
Tomasz Wasilewski, Jacek Gębicki, Wojciech Kamysz
- U11  
11:20-11:30 **Nowe pochodne 2-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)-3-(fenyprop-2-nylidenoamino)guanidyny – synteza i stabilność metaboliczna związków o aktywności antyproliferacyjnej względem komórek nowotworowych**  
Aneta Pogorzelska, Jarosław Sławiński, Beata Żolnowska, Krzysztof Szafrąński, Anna Kawiak, Szymon Ulenberg, Tomasz Bączek, Jarosław Chojnacki
- U12  
11:30-11:40 **Zastosowanie spektrometrii ruchliwości jonów oraz analizatorów metabolizmu komórkowego „SEAHORSE” w badaniach bioanalitycznych**  
Łukasz Nowicki  
*Perlan Technologies Polska sp. z o.o., autoryzowany dystrybutor firmy Agilent Technologies*
- 11:40-12:45 *Przerwa na lunch*
- 12:45-14:15 **SESJE PLAKATOWE**  
Sala Wykładowa nr 1; Sala Wykładowa nr 2
- 14:15-14:45 *Przerwa na kawę*
- 14:45-16:35 **PREZENTACJE USTNE**  
**Przewodniczący sesji – prof. dr hab. Mirosława Krauze-Baranowska, prof. dr hab. Marek Wesołowski**  
*Auditorium Maximum* budynek Audytoryjny Wydziału Farmaceutycznego
- U13  
14:45-14:55 **Analiza TLC zawartości alkaloidów i karotenoidów w *Lycium barbarum* L.**  
Adam Kokotkiewicz, Piotr Migas, Justyna Stefanowicz, Natalia Prędkiewicz, Maria Łuczkiwicz, Mirosława Krauze-Baranowska
- U14  
14:55-15:05 **Kinetyka flip-flop sufentanylu po podaniu zewnątrzoponowym u niemowląt**  
Agnieszka Borsuk, Bogumiła Wołoszczuk-Gębicka, Alicja Bartkowska-Śniatkowska, Agnieszka Bienert, Paweł Wiczling
- U22  
15:05-15:15 **Badanie wpływu nowych analogów bis-amidyn na aktywność topoizomera DNA**  
Agnieszka Wróbel, Anna Pućkowska, Ewelina Budacz, Danuta Drozdowska
- U16  
15:15-15:25 **Stężenia parabenów w moczu jako wskaźnik narażenia – badania pilotażowe w populacji północnej Polski**  
Anna Klimowska, Adrianna Bednarz, Bartosz Wielgomas

- U17  
15:25-15:35 **Antybiotyki w lekach recepturowych sporządzanych w aptekach ogólnodostępnych województwa warmińsko-mazurskiego**  
Elżbieta Kuriata, Wiesław Sawicki
- U18  
15:35-15:45 ***N*-Podstawione *N'*-(2-arylometylotio-4-chloro-5-metylobenzeno sulfonylo)guanidyny – nowe związki o aktywności przeciwnowotworowej, przeciwbakteryjnej oraz inhibitorowej wobec izoform I, II, IX, XII ludzkiej anhidrazy węglanowej**  
Beata Żołnowska, Jarosław Sławiński, Anna Kędzia, Ewa Kwapisz, Anna Kawiak, Claudiu T. Supran
- U19  
15:45-15:55 **Modelowanie probabilistyczne – alternatywne narzędzie do modelowania danych metabolomicznych**  
Emilia Dagher-Wojtkowiak, Paweł Wiczling, Roman Kaliszan, Michał Markuszewski
- U20  
15:55-16:05 **Prozdrowotne właściwości wybranych produktów pszczelich**  
Marcin Andrzej Kruszewski, Monika Naumowicz
- U21  
16:05-16:15 **Izotachoforeza – efektywne narzędzie izolacji i wzbogacania wybranych składników badanych próbek**  
Szymon Dziomba, Adam Prahł, Paulina Dąbrowska, Anna Klimowska, Aleksandra Pawelec, Marta Piskunowicz, Bartosz Wielgomas
- U23  
16:15-16:25 **Synteza, struktura i właściwości biologiczne kompleksów miedzi(II) z cyklicznymi pochodnymi *N*-(pirydyn-2-ylo)(tio)mocznika**  
Franciszek Sączewski, Łukasz Balewski, Maria Gdaniec, Patrick J. Bednarski
- 16:25–16:55 **WYKŁAD ZAMYKAJĄCY**  
**miR-429 a regulacja szlaku HIF**  
dr hab. Rafał Bartoszewski, prof. nadzw. GUMed  
*Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny*
- 16:55 **ZAKOŃCZENIE KONFERENCJI**

## SESJA PLAKATOWA 1

Sala wykładowa nr 1, Przewodniczący sesji – dr hab. Krystyna Pieńkowska,  
dr hab. Paweł Wiczling

- P1-1**    **Wpływ trzymiesięcznego spożywania naparu z czystka siwego na wybrane wskaźniki równowagi oksydacyjno-redukcyjnej i lipidowe parametry ryzyka chorób sercowo-naczyniowych**  
S. Labudda, K. Dąbkowski, E. Parzych, A. Haffke, M. Dąbrowska, A. Rokicka, I. Andrzejewska, P. Jatkowska, P. Celmer, P. Dawid, P. Bładowska, A. Dąbkowski, E. Nowak, P. Nagel, E. Suszek, K. Gabryś, K. Kapusta, H. Dąbrowska, K. Sionek, A. Manuszewska, O. Lewandowska, K. Plawska, K. Pilarska, A. Cichocki, M. Kukier, M. Koronkiewicz, A. Mazurowska, J. Radziejewicz, K. Sinkiewicz, A. Danielkiewicz, J. Zielińska, E. Wieczorek, A. Ćwiklińska, B. Kortas-Stempak, A. Gliwińska, A. Kuchta, M. Jankowski
- P1-2**    **Ocena farmakologiczna udziału podtypów receptorów alfa2-adrenergicznych w efektach mydriatycznych u szczura, wywołanych pochodnymi imidazoliny**  
Joanna Raczak-Gutknecht, Teresa Frąckowiak, Antoni Nasal, Anita Kornicka, Franciszek Sączewski, Roman Kaliszan
- P1-3**    **Kwas 4-fenylomasłowy: prosta struktura – wiele zastosowań**  
Marcin Kruszewski, Magdalena Kusaczuk, Marzanna Cechowska-Pasko
- P1-4**    **Aktywność biologiczna krótkich lipopeptydów kationowych**  
Katarzyna Greber, Krystyna Pieńkowska, Wiesław Sawicki
- P1-5**    **Otrzymywanie i badania fizykochemiczne mezoporowatych materiałów krzemionkowych jako potencjalnych nośników metronidazolu**  
Katarzyna Czarnobaj, Magdalena Prokopowicz, Wiesław Sawicki
- P1-6**    **Wpływ wybranych kwasów tłuszczowych na metabolizm lipidów w hepatocytach**  
Aleksandra Czumaj
- P1-7**    **Ocena stanu wiedzy wybranej grupy osób na temat wpływu diety na rozwój osteoporozy**  
Adam Sadokierski, Dominika Tatarynowicz, Magdalena Bola, Małgorzata Misztal-Szkudlińska, Piotr Szefer
- P1-8**    **Wyznaczenie profilu uwalniania trygoneliny z minipomp osmotycznych z wykorzystaniem techniki HILIC-HPLC**  
Anna Stefaniak, Adrianna Skwira, Marietta Jankowska, Weronika Wyrwas, Damian Szczesny, Paweł Wiczling
- P1-9**    **Wpływ aktywności receptora wapniowego na poziom glukozy we krwi i sekrecję insuliny u szczurów**  
Aleksandra Marchwińska, Aleksandra Dyś, Anna Szczoczarsz, Konrad Boblewski, Artur Lehmann, Barbara Lewko, Apolonia Rybczyńska
- P1-10**    **Wpływ wyciągu i eupatoriopikryny wyizolowanej z nadziemnych części sadzka konopiastego (*Eupatorium cannabinum L.*) na pro-zapalne funkcje ludzkich neutrofilii**  
Barbara Michalak, Sebastian Granica, Jakub P. Piwowski, Anna Stojakowska, Hermann Stuppner, Anna K. Kiss

- P1-11 Chemoprewencyjne i lecznicze działanie ziół**  
Marcin Andrzej Kruszewski, Monika Naumowicz
- P1-12 Chemoprewencyjne właściwości miodu**  
Marcin Andrzej Kruszewski, Monika Naumowicz
- P1-13 Zależność pomiędzy stężeniem lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) a efektywnością lipolizy lipoprotein bardzo niskiej gęstości (VLDL) katalizowanej przez lipazę lipoproteinową u chorych z przewlekłą chorobą nerek**  
Wieczorek Ewa, Ćwiklińska Agnieszka, Cackowska Monika, Kuchta Agnieszka, Król Ewa, Kortas-Stempak Barbara, Gliwińska Anna, Dąbkowski Kamil, Jankowski Maciej
- P1-14 Optymalizacja wymiany przeciwjonu peptydów w roztworach niewodnych**  
Karol Sikora, Damian Neubauer, Wojciech Kamysz
- P1-15 Synteza nowych pochodnych 3-amino-N-(2-chloroetylo)-1H-indazolo-1-karboksyamidu o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej**  
Karol Gzella, Anita Kornicka, Franciszek Sączewski, Patrick J. Bednarski, Martyna Korcz, Adam Krzykowski, Michalina Żylka, Rafał Bartoszewski
- P1-17 Aktywność przeciwdrobnoustrojowa *Foenugraeci Semen***  
Barbara Król-Kogus, Rafał Halasa, Mirosława Krauze-Baranowska, Marianna Bienias
- P1-16 Ocena aktywności cytotoksycznej nasion *Trigonella foenum-graecum***  
Barbara Król-Kogus, Justyna Stefanowicz-Hajduk, Mirosława Krauze-Baranowska, J. Renata Ochocka, Sylvia Godlewska
- P1-18 Analiza TLC flawanonów w *Populi gemmae***  
Loretta Poblocka-Olech, Piotr Migas, Mirosława Krauze-Baranowska
- P1-19 Ocena właściwości przeciwzapalnych wyciągów z *Populi gemmae***  
Loretta Poblocka-Olech, Iwona Inkielewicz-Stepniak, Mirosława Krauze-Baranowska
- P1-20 Farmakoterapia monitorowana w polskich laboratoriach uczestniczących w programie zewnętrznej oceny jakości Labquality i badaniu ankietowym**  
Robert Kowalski, Mateusz Gnitecki, Marcin Lizakowski, Barbara Kortas-Stempak, Agnieszka Ćwiklińska, Gabriela Bednarczuk, Aleksandra Fijałkowska, Krzysztof Lewandowski, Mirosława Szczepańska-Konkel
- P1-21 Wpływ urolityn na komórki hormonozależnego raka prostaty linii LNCaP**  
Iwona J. Stanisławska, Jakub P. Piwowarski, Sebastian Granica, Anna K. Kiss
- P1-22 Analiza dystrybucji subpopulacji lipoprotein bogatych w triglicerydy metodą izotachoforezy kapilarnej u chorych z przewlekłą chorobą nerek leczonych zachowawczo**  
Agnieszka Ćwiklińska, Robert Kowalski, Monika Cackowska, Ewa Wieczorek, Ewa Król, Agnieszka Kuchta, Barbara Kortas-Stempak, Kamil Dąbkowski, Anna Gliwińska, Mirosława Szczepańska-Konkel, Maciej Jankowski
- P1-23 Wykorzystanie mikroskopii holograficznej do obrazowania efektu aplikacji na skórę siloksanów o strukturze liniowej oraz cyklicznej**  
Katarzyna Szymkowska, Dominika Krenczkowska, Krystyna Mojsiewicz- Pieńkowska, Ewa Stachowska

- P1-24** **Badania preformulacyjne nad stałą postacią leku z wykorzystaniem uporządkowanych mezoporowatych materiałów krzemionkowych SBA-15**  
Adrian Szewczyk, Magdalena Prokopowicz, Wiesław Sawicki
- P1-25** **Badania mechanizmu przegrupowania [3,3]-sigmatropowego z zastosowaniem kwantowo-chemicznych metod modelowania cząsteczkowego**  
Paulina Wiśniewska, Emilia Sieniawska, Justyna Rzewnicka, Joanna Fedorowicz, Jarosław Sączewski
- P1-26** **Wpływ 12-tygodniowego treningu nordic walking na wybrane parametry równowagi oksydacyjno-redukcyjnej i profil lipidowy u kobiet powyżej 60 roku życia**  
A. Kuchta, S. Labudda, J. Kortas, Ka. Prusik, K. Prusik, A. Gmiąt, E. Ziemann, K. Dąbkowski, E. Wieczorek, A. Ćwiklińska, J. Antosiewicz, M. Jankowski
- P1-27** **Deksametazon i angiotensyna II modulują migrację komórek podocytnych**  
Tomasz Kowalik, Aleksandra Dulińska, Barbara Lewko
- P1-28** **Ocena stopnia oksydatywnej in vitro modyfikacji lipoprotein o niskiej gęstości z zastosowaniem techniki rozdzielania elektroforetycznego na żelu agarozowym (AGE) oraz izotachoforezy kapilarnej (CITP)**  
K. Dąbkowski, R. Kowalski, A. Ćwiklińska, A. Mickiewicz, A. Kuchta, B. Kortas-Stempak, A. Gliwińska, M. Fijałkowski, M. Gruchała, E. Wieczorek, M. Jankowski
- P1-29** **The creation of phytomedications on the basis of herbal plants of South Kazakhstan**  
Ordabayeva Saule, Arystanova Tanagul

## SESJA PLAKATOWA 2

Sala wykładowa nr 2, Przewodniczący sesji – dr hab. Lucyna Konieczna,  
dr hab. Wojciech Kamysz, prof. nadzw.

- P2-1** Wpływ wiązania jonów Cu(II) na aktywność biologiczną polimyksyny B  
Agnieszka Matera-Witkiewicz, Monika Oleksy, Elżbieta Łodyga-Chruścińska
- P2-2** Ocena właściwości metabolicznych potencjalnych kandydatów na leki  
Mariusz Belka, Szymon Ulenberg, Piotr Kawczak, Joanna Zielińska, Tomasz Bączek
- P2-3** Wpływ miRNA\*\*\* na regulację szlaku odpowiedzi na niezwinęte białka (UPR)  
Lejnowski Dawid, Kochan-Jamrozy Kinga, Bartoszevska Sylwia, Bartoszewski Rafal
- P2-4** Wpływ kwasów bosweliowych na aktywność przeciwdrobnoustrojową ludzkiej katelicydyny - LL-37  
Dorian Migoń, Wojciech Kamysz
- P2-5** Ocena jakości minitabletek z chlorowodorkiem werapamilu w zależności od ich geometrii  
Hanna Kotłowska, Małgorzata Sznitowska
- P2-6** Charakterystyka patogenów roślinnych *Pectobacterium spp.* wyizolowanych z prób środowiskowych roślin, gleby i wody  
Joanna Jońca, Martyna Franczuk, Aneta Mazurowska, Małgorzata Koronkiewicz, Natalia Kriegel, Anna Manuszewska, Małgorzata Orłowska, Emilia Parzych, Justyna Radziejewicz, Małgorzata Waleron
- P2-7** Ocena metody oznaczania potencjalnych wskaźników diagnostycznych nowotworu prostaty z wykorzystaniem technik LC-TOF/MS oraz GC-QqQ/MS  
Małgorzata Patejko, Renata Bujak, Wiktoria Struck-Lewicka, Marta Kordalewska, Marcin Markuszewski, Marcin Matuszewski, Roman Kaliszan, Michał J. Markuszewski
- P2-8** Opracowanie metody oznaczania wybranych związków pterynowych z zastosowaniem elektroforezy kapilarnej  
Magdalena Buszewska-Forajta, Wojciech Grochocki, Szymon Macioszek, Marcin Markuszewski, Marcin Matuszewski, Michał J. Markuszewski
- P2-9** Poszukiwanie mechanizmów rozwoju oraz potencjalnych wskaźników diagnostycznych nowotworu pęcherza moczowego poprzez niecelowaną analizę metabolomiczną próbek moczu  
Julia Jacyna, Renata Bujak, Stéphane Balayssac, Aleksandra Sawicka, Małgorzata Patejko, Marcin Markuszewski, Piotr Gutknecht, Véronique Gilard, Myriam Malet-Martino, Janusz Siebert, Marcin Matuszewski, Roman Kaliszan, Michał J. Markuszewski
- P2-10** Ocena jakości i trwałości mieszaniny paracetamolu i tramadolu w mieszaninach do żywienia pozajelitowego  
Adrianna Dadej, Maria Popielarz-Brzezińska, Szymon Polański, Aleksandra Gostyńska, Anna Jelińska
- P2-11** Kontrola mikrobiologiczna kosmetyków komercyjnie dostępnych oraz oznaczanie zanieczyszczeń mikrobiologicznych w kosmetykach używanych  
Agnieszka Konopacka, Wioleta Niska, Krzysztof Waleron

- P2-12 Fabryka leków w słoiku – konsorcjum mikrobiologiczne kefiru wodnego jako źródło związków o znaczeniu farmakologicznym**  
Martyna Franczuk, [Aneta Mazurowska](#), Anna Manuszewska, Emilia Parzych, Małgorzata Orłowska, Małgorzata Koronkiewicz, Krzysztof Waleron
- P2-14 Niskocząsteczkowe związki peptydowe mucyny7 oraz ich kompleksy z jonami metali jako potencjalne antybiotyki**  
[Anna Janicka-Kłos](#)
- P2-15 Czy meropenem można dodawać do mieszanin do żywienia pozajelitowego?**  
Klaudia Lisowska, [Szymon Tomczak](#), Aleksandra Gostyńska, Maciej Stawny
- P2-16 Ocena stabilności i produktów degradacji rapamycyny w osoczu krwi**  
[Natalia Rekowski](#), Alina Plenis, Ilona Olędzka, Piotr Kowalski, Katarzyna Macur, Tomasz Bączek
- P2-17 Trwałość piperacyliny w połączeniu z tazobaktamem w mieszaninie do żywienia pozajelitowego**  
[Maria Popielarz-Brzezińska](#), Anna Dumska, Aleksandra Gostyńska, Anna Jelińska
- P2-18 Kompatybilność niektórych leków przeciwbólowych z mieszaninami do żywienia pozajelitowego**  
Izabela Stawska, Rafał Olijarczyk, Aleksandra Gostyńska, [Szymon Tomczak](#), Maciej Stawny, Anna Jelińska
- P2-20 XBP1 jako czynnik transkrypcyjny biorący udział w kontroli specyficznych miRNA podczas UPR (Unfolded protein response)**  
[Aleksandra Sobolewska](#), Anna Janaszak-Jasiecka, Sylwia Bartoszevska, Rafał Bartoszewski
- P2-21 Znaczenie witaminy D w aspekcie zdrowia i jej oznaczanie metodą spektrometrii mas u pacjentów hemodializowanych**  
[Natalia Szupryczyńska](#), Marcin Lipiński, Zdzisław Kochan
- P2-22 Rola i bezpieczeństwo stosowania wybranych filtrów promieniochronnych – przegląd literatury i analiza rynku kosmetycznego w Polsce**  
Paulina Kociałkowska, [Mateusz Seńcio](#), Paulina Dąbrowska, Paweł Hinc, Katarzyna Kimel, Zuzanna Krefft, Bartosz Wielgomas
- P2-23 Identyfikacja produktów reakcji elektrochemicznego utleniania 2-[4-(dietyloamino)-2-hydroksybenzoilo]benzoesanu heksylu (DHHB) za pomocą techniki ESI-MS/MS**  
[Paulina Dąbrowska](#), Anna Buczkowska, Szymon Dziomba, Łukasz Guzik, Bartosz Wielgomas
- P2-24 Białaczka typu BCP-ALL u pacjentów pediatrycznych w podejściu biomarkerowym w odniesieniu do czynników ryzyka**  
[Aleksandra Gramann](#), Marcin Muża, Lucyna Konieczna, Maciej Niedźwiecki, Elżbieta Adamkiewicz-Drożyńska, Tomasz Bączek
- P2-25 Przygotowanie próbek biologicznych do analizy LC-MS z zastosowaniem różnych technik ekstrakcji i mikroekstrakcji jako istotny etap strategii analitycznych**  
[Katarzyna Amenda](#), Marta Galewska, Anna Krawczyńska, Natalia Treder, Adrianna Żrubek, Monika Żukowicz, Lucyna Konieczna, Tomasz Bączek

- P2-26** **Badania kompatybilności cyprofloksacyny z mieszaninami do żywienia pozajelitowego**  
Aleksandra Kordyla, Aleksandra Gostyńska, Rafał Olijarczyk, Maciej Stawny, Katarzyna Dettlaff
- P2-27** **Analiza składu mineralnego żywności pochodzenia naturalnego**  
Marika Dudzicz, Małgorzata Misztal-Szkudlińska, Piotr Szefer
- P2-28** **Dystrybucja fosfatydylocholiny do międzyfazy i fazy liposomalno-micelarnej emulsji submikronowych stabilizowanych fosfolipidami**  
Dorota Watróbska-Świetlikowska, Magdalena Przybyło, Jan Procek
- P2-13** **Rola białka opiekuńczego ORP150 w chorobach związanych ze stresem siateczki śródplazmatycznej**  
Marcin Kruszewski, Magdalena Kusaczuk, Marzanna Cechowska-Pasko
- P2-19** **Analiza profilu lipoprotein surowicy metodą izotachoforezy kapilarnej (CITP)**  
Robert Kowalski, Agnieszka Ćwiklińska, Ewa Wieczorek, Kamil Dąbkowski, Maciej Jankowski, Mirosława Szczepańska-Konkel, Krzysztof Lewandowski
- P2-29** **Badanie wpływu triazynowych analogów iperytu azotowego na proliferację komórek raka sutka MCF-7 i MDA-MB-231**  
Ewelina Budacz, Agnieszka Wróbel, Małgorzata Rusak, Beata Kolesińska, Zbigniew J. Kamiński, Danuta Drozdowska



## WYKŁADY PLENARNE

## Chemometrics on metabolite profiles or fingerprints

Yvan Vander Heyden

*Department of Analytical Chemistry and Pharmaceutical Technology, Center for Pharmaceutical Research (CePhaR), Vrije Universiteit Brussel (VUB), Laarbeeklaan 103, 1090 Brussels, Belgium*

Worldwide, herbs are used for preventive and therapeutic goals. Therefore, identification and quality control of these products of natural origin is required. Determination of some of the active compounds does not always allow assessing their total intrinsic quality. Since 1991 the World Health Organization accepts fingerprint chromatography as identification and quality evaluation technique for medicinal herbs. In fingerprint development, the goal is to create general conditions to maximize the peak capacity within an acceptable analysis time. A fingerprint is an analytical pattern of an extract showing some common pharmacologically active and/or chemical characteristic features, i.e. showing the metabolic profile of the sample. It can be measured by a separation or a spectroscopic technique. Similarly fingerprints or metabolite profiles can also be developed for extracts from animal or human origin.

A fingerprint can be developed for a number of reasons: identification, classification or calibration purposes. Identification is to confirm that a sample is originating from the herb expected and to exclude that it is another, i.e. to attain a better quality control of the herbs. Classification can be performed to classify samples according to, for instance, their origin or to distinguish healthy from sick patients. For instance, one may be interested in the geographic origin of samples or to distinguish between natural and synthetic compounds, e.g. vanillin from herbal, synthetic or microbiologic origin. Such evaluation is most often done by a principal component analysis, occasionally by a cluster analysis. However, it might also be by building a classification model. A multivariate calibration can be performed when the extract also can be characterized by an activity, e.g. an antioxidant, a cytotoxic or an anti-inflammatory activity. The activity then can be modelled as a function of the fingerprints. The most commonly used modelling techniques are stepwise multivariate regression, principal component regression and partial least squares. The goal of the modelling can be either to build models that are able to predict the activity for future samples based on the metabolite profile (e.g. the antioxidant activity from green tea fingerprints) or to identify the main compounds/peaks in a fingerprint chromatogram, responsible for a given activity. In the presentation the different applications will be considered.

Contact: [Yvan.Vander.Heyden@vub.ac.be](mailto:Yvan.Vander.Heyden@vub.ac.be)

# Use of miniaturized chromatographic and electrophoretic techniques in drug analysis: State of the art and future trends

**Salvatore Fanali<sup>1</sup>, Giovanni D'Orazio<sup>1</sup>, Chiara Fanali<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Chemical Methodologies, Italian National Research Council (C.N.R.) Monterotondo, Italy*

<sup>2</sup> *Campus Bio-Medico University, Centro Integrato di Ricerca, Via A. Del Portillo, Rome, Italy*

The analysis of drugs is a topic of great interest in many fields including the pharmaceutical industry, biomedicine, forensic medicine, toxicology etc. The reasons lie in the fact that drugs are daily used by a large number of people. Therefore these can heavily affect, positively or negatively on their health.

The qualitative and quantitative analysis of drugs is usually carried out employing conventional analytical techniques such as, for example, high-performance liquid chromatography (HPLC), gas chromatography, slab-gel electrophoresis etc. However miniaturized techniques, e.g., capillary electrophoresis (CE), capillary electrochromatography (CEC), nano-liquid chromatography (nano-LC) have also been applied to the analysis of drugs [1-3]. These modern nano-scale tools offer i) short analysis time, ii) high efficiency and resolution, iii) reduced costs (due to the use of minute volumes of mobile phases). In CEC and nano-LC separations are carried out into thin fused silica capillaries (10-100  $\mu\text{m}$  I.D.) containing selected stationary phases (particle packed or monolithic or wall coated). Elution is done with appropriate mobile phases at flow rates in the range (50-800 nL/min). Finally on-column and/or off-column detection is performed with UV or mass spectrometry (MS), respectively. Coupling nano-LC with MS is not a problem because commercially available ESI interfaces are available, while in the case of CEC, due to the application of a relatively high electric field the coupling of the two apparatuses is more difficult. However it has been demonstrated that the use of a liquid-junction interface, laboratory assembled, can be very useful.

Aim of this communication is to discuss about the state of the art of nano-LC and CEC describing the general principles, their features, the instrumentation usually employed taking into account the detector systems (UV) and hyphenation with MS. Examples of method optimization for drug analysis application including non steroidal anti-inflammatory drugs, smart drugs and some nutraceutical compounds will also be reported. In addition some separation of enantiomers will also be shown [4].

## References:

- [1] J. M. Saz, M. L. Marina, J. Chromatogr. A 1467 (2016) 79-94.
- [2] Z. Aturki, A. Rocco, S. Rocchi, S. Fanali, J. Pharm. Biomed. Anal. 101 (2014) 194-220.
- [3] G. D'Orazio, S. Fanali, J. Chromatogr. A 1317 (2013) 67-76.
- [4] Z. Aturki, M. G. Schmid, B. Chankvetadze, S. Fanali, Electrophoresis 35 (2014) 3242-3249.

Contact: [salvatore.fanali@cnr.it](mailto:salvatore.fanali@cnr.it)

# Selectivity – old problem and a new concept in chromatographic analysis of biologically active compounds

Bogusław Buszewski, Renata Gadzała -Kopciuch

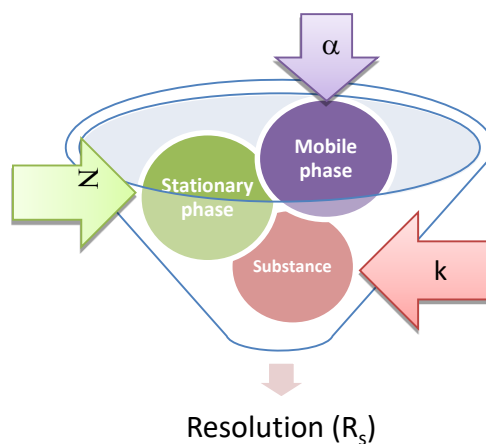
*Chair of Environmental Chemistry & Bioanalytics, Faculty of Chemistry, Gagarin st. 7, Centre for Modern Interdisciplinary Technologies, Wilenska 4, Nicolaus Copernicus University 87-100 Torun*

The separation of the two substances on the analytical column in a stationary phase - mobile phase depends on the thermodynamic properties of the system. These properties can be described quantitatively using the term of selectivity factor ( $\alpha$ ).

$$\alpha = k_2/k_1$$

The selectivity of liquid chromatography is affected by:

- type of mobile phase, organic or aqueous,
- the composition of the mobile phase, whether one solvent or more,
- the pH of the mobile phase.



The very important influence of the fulfillment on resolution and selectivity factors is a type of stationary phase in relation to organic-water composition of mobile phase in the determination of substances applied in different therapies. Therefore, particularly in the analysis of drugs and biomedical assays, there is a constant search for new types of stationary phases which would allow the qualitative and quantitative determination of biologically active compounds. Immobilized on the silica surface suitable sequences of the amino acids allow to obtain stationary phases of different hydrophobicity and polarity. As a result of the synthesis procedure it is possible to receive adsorbents useful in RP LC and HILIC systems. The optical properties of the synthesized stationary phases can further classify them as chiral materials capable to separate enantiomers. Additionally, peptide stationary phases change properties (especially in the side chain) during modification of pH of the mobile phase. Thus, combinations of amino acids enable to gain zwitterionic stationary phases, as alternative materials to analysis ionized analytes. Multiplicity of various physicochemical properties of peptide stationary phases provides their high potential for the analysis of biologically active compounds. The aim of this study was to develop methodology of synthesis peptide stationary phases, straightforward on the modified chemically silica surface, their characteristic and application in liquid chromatography.

This work was supported by National Science Center, Maestro\_6 2014/14/A/ST4/00641

Contact: bbusz@chem.umk.pl

## Oddech ludzki – źródło informacji o stanie zdrowia człowieka

Jacek Namieśnik

*Wydział Chemiczny, Katedra Chemii Analitycznej, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk*

Silą napędową do rozwoju analityki i bioanalityki jest dążność do uzyskania miarodajnych informacji o składzie i procesach zachodzących w obiektach materialnych charakteryzujących się złożonym a często i zmiennym składem matrycy.

Informacje będące efektem działalności analityka są bardzo poszukiwanym towarem bo stanowią często podstawę do podejmowania różnego typu decyzji.

Nie ma więc wątpliwości, że są one niezwykle ważne w diagnostyce medycznej- czyli w poszukiwaniu biomarkerów- objawów chorobowych na podstawie analizy próbek materiału pobranego od pacjentów.

W wystąpieniu przedstawiono podstawowe informacje na temat:

- możliwości wykorzystania wyników analizy próbek kondensatów z wydychanego powietrza (kondensatów oddechowych) w diagnostyce chorób układu oddechowego,
- procedur analitycznych wykorzystywanych w analityce próbek kondensatów w celu wykrycia, identyfikacji i ilościowego oznaczenia szerokiego spektrum analitów.

Piśmiennictwo:

- [1] Moritz F., Janicka M., Zygler A., Forcisi S., Kot-Wasik A., Kot J., Gebefüg I., Namieśnik J., Schmitt-Kopplin P.: The compositional space of exhaled breath condensate and its link to the human breath volatilsome, *J. Breath Res.*, **9**, 1-13 (2015)
- [2] Janicka M., Kot-Wasik A., Bartoszek-Pączkowska A., Namieśnik J.: LC-MS/MS determination of isoprostanes in plasma samples collected from mice exposed to doxorubicin or tert-butyl hydroperoxide, *Inter. J. Molecular Sci.* **14**, 6157-6169 (2013)
- [3] Janicka M., Kubica P., Kot-Wasik A., Kot J., Namieśnik J.: Sensitive determination of isoprostanes in exhaled breath condensate samples with use of liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr.* **893-894**, 144-149 (2012)

Kontakt: [jacek.namiesnik@pg.gda.pl](mailto:jacek.namiesnik@pg.gda.pl)

## Na początku było 35 atomów ksenonu

**Franciszek Sączewski**

*Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny*

Współczesne podręczniki szkolne i akademickie ‘pękają w szwach’ pod naporem setek informacji - wzorów, równań i wykresów - nierzadko poprzedzonych nazwiskiem odkrywcy. Strukturę i zastosowanie ‘związków Grignarda’ zna każdy student farmacji, gdy tymczasem pan Victor Grignard, odkrywca związków magnezoorganicznych, pozostaje zazwyczaj nieznanym. To oczywiste znamię czasów, w których żyjemy, cecha współczesnych społeczeństw technologicznych. Tymczasem postacie odkrywców bywają ciekawe, warte poznania i dla procesu kształcenia nie mniej istotne. Zatem, od czasu do czasu, dla pobudzenia ambicji, utartą hierarchię wartości warto odwrócić.

W wykładzie pojawią się następujące postacie: Louis Fieser, Mary Fieser, Demokryt, John Dalton, Richard Feynman, Eric Drexler, Norio Taniguchi, Gerd Binnig, Heinrich Rohrer, Charles Pedersen, Donald Cram, Jean-Marie Lehn, Sir Harold Kroto, Robert Curl Jr., Richard Smalley, Buckminster Fuller, Fraser Stoddart, Ben Feringa, Jean-Pierre Sauvage oraz Raymond Kurzweil.

Atomy ksenonu to zaledwie bezimienni bohaterowie wykładu.

Kontakt: [saczew@gumed.edu.pl](mailto:saczew@gumed.edu.pl)

## miR-429 a regulacja szlaku HIF

Sylwia Bartoszevska<sup>1</sup>, Anna Janaszak -Jasiecka<sup>2</sup>, Renata J. Ochocka<sup>2</sup>, James F. Collawn<sup>3</sup>,  
Rafał Bartoszewski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddz. Medycyny Laboratoryjnej, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddz. Medycyny Laboratoryjnej, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

<sup>3</sup>Department of Cell, Developmental and Integrative Biology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, USA

Zaburzenia układu sercowo-naczyniowego pozostają główną przyczyną zachorowalności i śmiertelności w krajach rozwiniętych. Wiele z tych zaburzeń jest konsekwencją hipoksji/ischemii różnych narządów. Przebieg komórkowej odpowiedzi na niedotlenienie jest regulowany przez czynniki indukowane hipoksją (HIF, *hypoxia induced factors*) - czynniki transkrypcyjne, które indukują ekspresję wielu genów umożliwiając adaptację do warunków ograniczonej podaży tlenu. Rolą czynnika HIF1 jest inicjacja globalnego spektrum zmian mających na celu przetrwanie hipoksji i przywrócenie homeostazy tlenowej. Wraz z postępowaniem adaptacji wpływ HIF1 jest stopniowo ograniczany zaś wybrane funkcje transkrypcyjne podejmują w śródbłonku inne czynniki HIF: HIF2 oraz słabo dotychczas poznany HIF3. W warunkach beztlenowych następuje więc specyficzne obniżenie poziomu HIF1, czemu towarzyszy indukcja HIF2/3. Przekazanie sygnału transkrypcyjnego od HIF1 do HIF2/3 jest kluczowym warunkiem adaptacji komórek endotelium do warunków długotrwałej hipoksji. Mechanizmy molekularne regulujące przebieg tego przekazania sygnału nie zostały dotychczas zdefiniowane. Co więcej, zakres funkcji transkrypcyjnych HIF3 i ich konsekwencje dla adaptacji do długotrwałej hipoksji nie zostały jeszcze scharakteryzowane w ludzkim endotelium. Wyniki naszych badań nad rolą mikroRNA-429, w pierwotnych ludzkich komórkach śródbłonka żył wskazują, że podczas hipoksji to specyficzne zmiany poziomu mikroRNA (miRNA) prowadzą do obniżenia ilości HIF1 i akumulacji HIF2/3, umożliwiając przekazanie sygnału transkrypcyjnego i adaptację śródbłonka naczyń do długotrwałego niedotlenienia. Nasze badania wykazały, że podczas niedotlenienia początkowej akumulacji głównego czynnika odpowiedzi adaptacyjnej na hipoksję HIF-1 towarzyszy indukcja miR-429, który redukuje ekspresję tego czynnika. Zidentyfikowaliśmy więc w ludzkim endotelium pętlę negatywnego sprzężenia zwrotnego między HIF-1 a miR-429 [1]. Wykazaliśmy również, że konsekwencją wzajemnej regulacji między HIF-1 $\alpha$  a miR-429, jest akumulacja czynnika HIF-3 na późniejszych etapach niedotlenienia [2].

### Piśmiennictwo

- [1] Bartoszevska S, Kochan K, Piotrowski A, Kamysz W, Ochocka RJ, Collawn JF, Bartoszewski R. The hypoxia-inducible miR-429 regulates hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression in human endothelial cells through a negative feedback loop. *FASEB J*. 2015 Apr;29(4):1467-79. doi: 10.1096/fj.14-267054
- [2] Janaszak-Jasiecka A, Bartoszevska S, Kochan K, Piotrowski A, Kalinowski L, Kamysz W, Ochocka RJ, Bartoszewski R, Collawn JF. miR-429 regulates the transition between Hypoxia-Inducible Factor (HIF)1A and HIF3A expression in human endothelial cells. *Sci Rep*. 2016 Mar 8;6:22775. doi: 10.1038/srep22775

Kontakt: rafalbar@gumed.edu.pl

## **PREZENTACJE USTNE**



## U1

### Problems of investigation and rational use of medicinal plants of Kazakhstan

Patsayev A.K., Makhatov B.K., Kucherbayev K.Dj.

*Department of pharmacognosy and chemistry, South Kazakhstan Pharmaceutical Academy*

More than 150 species of plants are used in scientific and traditional medicine in Kazakhstan, however, an even greater number can be considered as substitutes of generally accepted pharmacopoeial plants. Deterrent to the implementation of domestic medicinal plants in medical practice is the lack of information on their distribution and resources, the chemical composition of medicinal plants, lack of knowledge of the pharmacological properties of drugs of plant origin. To solve this problem first we have to study the resource base of medicinal plants and search for perspective species required for use in phytotherapy.

When determining the prospects of using of medicinal plants in modern Kazakhstan it is necessary:

1. to study the real resources of medicinal plants
2. to conduct monitoring of phytocenoses, in which medicinal plants are grown, perspective species and plants to be protected.
3. to conduct periodic inventory of species used in scientific and traditional medicine, as well as perspective species containing the maximum number of biologically active substances.
4. to study regional species composition of plants which are required for the production of biologically active food additives
5. to establish a database of resource stocks of medicinal plants of Kazakhstan.
6. to organize regional cultivation of medicinal plants which are adapted to the local climate.

A comprehensive approach which includes three main directions: ecological, biochemical and pharmacological as well as technological will allow to provide the country's population with local medicines without the threat of extinction of some valuable species.

Currently at the Department of pharmacognosy and chemistry in the laboratory of medicinal plants extensive investigation of medicinal plants growing in Kazakhstan is being conducted. Pharmacognostic, phytochemical and pharmacological investigation of plants related to the family *Asteraceae*, *Fabácea*, *Lamiácea* and *Chenopodioideae* are being conducted. There are about 2000 species of plants of the genus *Astragalus* in the world. *Astragalus* is one of the most common species in South-Kazakhstan region, and has approximately 143 species. 12 species of plants of the genus *Astragalus* growing in Kazakhstan are used in folk medicine.

*Astragalus unifoliolatus* Bunge, *Astragalus alopecias* Pall, *Astragalus sieversianus* plants growing in Kazakhstan is one of the most perspective in terms of drug development of plants of the genus *Astragalus*. Phytochemical analysis of this plants showed the presence of triterpene compounds, flavonoids and polysaccharides. Investigation of the ethanol extracts of *Astragalus unifoliolatus* Bunge and *Astragalus alopecias* Pall on antiulcer effect showed a positive effect on tissue regeneration of gastric mucosa due to activation of the antioxidant system of the cells of the stomach. Together with the Italian scientists investigation of the cytotoxic properties of 27 plant extracts from plants of South Kazakhstan allowed to identify the most promising among them extracts. Ethanol extracts of *Phlomis salicifolia*, *Kochia laniflora*, *Tanacetum millefolium*, *Psoralea drupacea* Bunge showed good results in "in vitro" study of cytotoxicity on human cancer cells HeLa. Tests on cytotoxicity were performed in the laboratory of plant Cytology and biotechnology, Tuscia University (Italy) in cancer cells HeLa under the guidance of Professor Antonio Tiezzi.

Contact: [kkjamal@mail.ru](mailto:kkjamal@mail.ru)

## U2

### Podaż leków i suplementów diety w grupie pacjentów z chorobą trzewną

**Katarzyna Gładys<sup>1</sup>, Marek Guzek<sup>2</sup>, Krystian Adrych<sup>2</sup>, Zdzisław Kochan<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Zakład Biochemii Żywnienia, Katedra Żywnienia Klinicznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

<sup>2</sup> Klinika Gastroenterologii i Hepatologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

**Wstęp:** Choroba trzewna jest immunologiczną, trwającą całe życie nietolerancją glutenu pojawiającą się u osób predysponowanych genetycznie, prowadzącą w konsekwencji do stanu zapalnego błony śluzowej jelita cienkiego [1]. Nieprzestrzeganie diety bezglutenowej może prowadzić do rozwoju licznych niedoborów pokarmowych i groźnych powikłań, m.in. osteoporozy. Wiadomo również, że u pacjentów z celiakią częściej występują inne schorzenia, zwłaszcza o etiologii autoimmunologicznej, w porównaniu do grupy kontrolnej [2]. Celem badania była ilościowa ocena przyjmowanych przez chorych na celiakię leków i suplementów diety.

**Materiał i metody:** W badaniu wzięło udział 70 pacjentów z potwierdzoną serologicznie i histopatologicznie celiakią. Po uzyskaniu pisemnej zgody na udział w badaniu, dyplomowany dietetyk dokonywał standaryzowanej oceny przestrzegania przez nich diety bezglutenowej, która zawierała m. in. pytania o nazwy handlowe przyjmowanych leków i suplementów diety. Zebrane dane dodatkowo potwierdzano dokumentacją lekarską.

**Wyniki:** Ponad połowa badanych (64 %) przyjmowała przewlekle leki. Najczęściej pacjenci stosowali doustną podaż hormonu tarczycy (19%), następnie leków obniżających ciśnienie, (13%), przeciwalergicznych (11%), niesteroidowych leków przeciwzapalnych (11%), inhibitorów pompy protonowej (10%), antykoncepcję hormonalną (7%), leki przeciwcukrzycowe (6%), wpływające na motorykę jelitową (6%), spazmolityczne (4%). Po 2 osoby (3%) stosowało leki bakteriobójcze, przeciwpyschotyczne, hamujące wydzielanie prolaktyny, moczopędne oraz przeciwastmatyczne. W pytaniu dotyczącym suplementów diety, 31 pacjentów (44%) przyznało, że ich nie stosuje. Badani najczęściej przyjmowali preparaty wielowitaminowe (31%), następnie witaminę D<sub>3</sub> (11%), tran (10%), żelazo (9%), magnez (7%) i kwasy omega 3 (7%). Po 3 osoby (4%) kolejno suplementowały wapń, witaminę B<sub>12</sub> oraz witaminę C. W 4 przypadkach pacjent nieświadomie dublował preparaty o podobnym składzie, pomimo częstego umieszczenia na etykietach suplementów informacji, żeby wystrzegać się przyjmowania innych preparatów bogatych w te same witaminy, bądź składniki mineralne w celu uniknięcia ich przedawkowania.

**Wnioski:** Najczęściej przyjmowanym lekiem wśród pacjentów był syntetyczny hormon tarczycy, co może wskazywać na częstsze współistnienie choroby trzewnej ze schorzeniami autoimmunologicznymi tarczycy w porównaniu do ogólnej populacji. Natomiast najpopularniejszymi wśród badanych suplementami diety były preparaty wielowitaminowe, co pokazuje, iż chorzy na celiakię są świadomi ryzyka wystąpienia niedoborów pokarmowych, jednakże nie zawsze czytają dokładnie skład suplementów lub stosują bez uzgodnienia z lekarzem bądź dietetykiem.

Piśmiennictwo:

- [1] F. Ludvigsson, D.A. Leffler et al.: The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. Gut. Jan 2013, 62 (1), s. 43–52.
- [2] M. Kaniewska, G. Rydzewska: Choroba trzewna u dorosłych-patogeneza, manifestacje kliniczne, współistnienie z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit i innymi chorobami o podłożu immunologicznym. Prz. Gastroenterol. 2009, 4 (4), s.173-177.

Kontakt: kgladys@gumed.edu.pl

## U3

# Wyznaczanie uniwersalnych, ilościowych zależności struktura-retencja chromatograficzna (QSRR) z wykorzystaniem RP HPLC

**Łukasz Kubik, Paweł Wiczling**

*Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk*

Ilościowe zależności struktura-retencja chromatograficzna (ang. *Quantitative Structure-Retention Relationships*) obejmują modele matematyczne opisujące właściwości chromatograficzne w funkcji deskryptorów struktury. Zostały one opisane po raz pierwszy w roku 1977 przez profesorów: Kaliszana i Foksa. Od tego czasu podejmowane są próby stworzenia uniwersalnych równań, które pozwoliłyby na wierne i precyzyjne przewidywanie istotnych parametrów chromatograficznych. Zwykle równania takie tworzone są w oparciu o małą i wąską grupę analitów, co powoduje ograniczenia w domenie dla której modele te mogą być stosowane jak i problemy z ich rzetelną oceną statystyczną.

W niniejszej pracy zaprezentowano modele QSRR obliczone dla dużej, różnorodnej grupy 161 analitów (kwasów, zasad, związków neutralnych), trzema metodami statystycznymi: regresją krokową, łączoną metodą regresja krokowa \ regresja LASSO oraz metodą cząstkowych najmniejszych kwadratów (PLS). Do wyznaczenia równań QSRR wykorzystano deskryptory z programu Dragon 6, otrzymane przy użyciu modelowania molekularnego (optymalizacja programem Gaussian 09 metodą DFT B3LYP z bazą funkcyjną 6-31G) oraz proste deskryptory z programu ACD/Labs (metoda porównawcza). Parametrami chromatograficznymi, które przewidywano były:  $pK_a$  (stała dysocjacji),  $\log k_w$  (chromatograficzna miara hydrofobowości) oraz S (współczynnik nachylenia z równania Snydera-Soczewińskiego). Ich wartości zostały obliczone przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz (RP HPLC) z wykorzystaniem detektora mas z analizatorem czasu przelotu (TOF MS). W celu potwierdzenia wiarygodności otrzymanych równań przeprowadzono 10-krotny sprawdzian krzyżowy (ang. *cross-validation*) oraz validację zewnętrzną (przy użyciu zbioru uczącego i testowego).

Otrzymane modele cechowały się zadowalającymi właściwościami predykcyjnymi, opisanymi szeregiem parametrów statystycznych ( $R^2$ ,  $Q^2$ , MSE, F), oraz niewielką liczbą zmiennych w równaniu. Uzyskane wyniki wskazują, że otrzymanie satysfakcjonujących, uniwersalnych modeli QSRR, które mogłyby być zastosowane dla różnorodnej grupy związków, jest możliwe. Jednakże dokładniejsze przewidywanie (na poziomie  $R^2/Q^2$  powyżej 90%) nie wydaje się być możliwe przy użyciu stosowanej obecnie metodologii QSAR/QSRR. Dobrą alternatywą wydają się być metody bayesowskie, które pozwalają na połączenie danych z eksperymentów wstępnych z modelami QSRR. Równania uzyskane przy użyciu modelowania molekularnego (chemii kwantowej) dają podobne rezultaty jak te, uzyskane przy użyciu prostych deskryptorów z programu ACD/Labs. Poddaje to w wątpliwość istotę stosowania tej bardzo skomplikowanej metodologii, wymagającej wiele czasu, umiejętności oraz posiadania odpowiedniego oprogramowania i mocy obliczeniowej na rzecz stosowania prostych i szybkich metod wyznaczenia deskryptorów [1, 2].

Piśmiennictwo:

- [1] Kubik L., Struck-Lewicka W., Kalisz R., Wiczling P., Simultaneous determination of hydrophobicity and dissociation constant for a large set of compounds by gradient reverse phase high performance liquid chromatography-mass spectrometry technique, *J. Chromatogr. A*, 1416 (2015) 31-37.
- [2] Kubik L., Wiczling P., Quantitative Structure-(Chromatographic) Retention Relationship Models For Dissociating Compounds, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 127 (2016) 176-183.

Kontakt: lkubik@gumed.edu.pl

## Nowe pochodne 5-(1,3,4-oksadiazol-2-yl)benzenosulfonamidu: synteza i aktywność przeciwnowotworowa *in vitro*

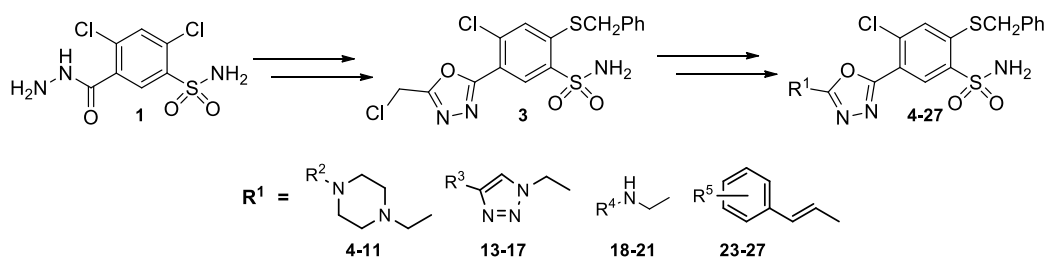
Jarosław Sławiński<sup>1</sup>, Krzysztof Szafranski<sup>1</sup>, Beata Żołnowska<sup>1</sup>, Aneta Pogorzelska<sup>1</sup>, Anna Kawiak<sup>2</sup>, Mariusz Belka<sup>3</sup>, Tomasz Bączek<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk,

<sup>2</sup> Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed, ul. Abrabama 58, 80-307 Gdańsk,

<sup>3</sup> Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk,

Arylosulfonamidy stanowią grupę związków charakteryzującą się szerokim spektrum aktywności biologicznej i zastosowań klinicznych. Dlatego też, głównym przedmiotem naszych badań stały się związki oparte o farmakoforowy szkielet 2-merkaptobenzenosulfonamidu (MBSA), wykazujący udowodnioną aktywność przeciwdrobnoustrojową [1], przeciwnowotworową [2] czy inhibicyjną wobec anhidrazy węglanowej [3]. Nasze poprzednie badania dowiodły, że pochodne MBSA zawierające pięcioczłonowe pierścienie heteroaromatyczne w pozycji 5 szkieletu benzenosulfonamidowego, wykazują obiecującą aktywność przeciwnowotworową *in vitro* [4,5]. Kierując się tymi spostrzeżeniami, w omawianym badaniu podjęliśmy się syntezy pochodnych 2-benzylotio-4-chloro-5-(1,3,4-oksadiazol-2-yl)benzenosulfonamidu (**4-27**) zawierające zróżnicowane podstawniki aminowe (**4-11** i **18-21**), 1,2,3-triazolowe (**13-17**) oraz styrylowe (**23-27**) w pozycji 5 pierścienia 1,3,4-oksadiazolu.



Oczekiwane pochodne zostały otrzymane na drodze wieloetapowych reakcjach wychodząc z 2,4-dichloro-5-hydrazido-benzenosulfonamidu (**1**), poprzez 2-benzylotio-4-chloro-5-(5-chlorometylo-1,3,4-oksadiazol-2-yl)benzenosulfonamid (**2**), wykorzystując m.in. reakcje Wittiga czy katalizowaną jonami Cu(I) reakcję cykloaddycji azydów do alkinów (CuAAC).

Badanie aktywności przeciwnowotworowej *in vitro* zostało przeprowadzone z wykorzystaniem testu MTT wobec 3 linii komórkowych: nowotworu piersi (MCF-7), jelita grubego (HCT-116) i raka szyjki macicy (HeLa). Wyróżniający profil aktywności cytostatycznej o wartościach IC<sub>50</sub> poniżej 20 μM został zaobserwowany dla znaczącej części związków. Dalsze badania objęły wyznaczenie cytotoksyczności wobec nienowotworowej linii keratynocytów (HaCaT), analizę ilościowych zależności struktura-aktywność oraz określenie stabilności metabolicznej.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji DEC-2013/09/B/NZ7/00048

### Piśmiennictwo:

- [1] J. Sławiński, A. Pogorzelska, B. Żołnowska, A. Kędzia, M. Ziółkowska-Klinkosz, E. Kwapisz, *Molecules* 19 (2014) 13704.–13723.
- [2] B. Żołnowska, J. Sławiński, M. Belka, T. Bączek, A. Kawiak, J. Chojnacki, A. Pogorzelska, K. Szafranski, *Molecules* 20 (2015) 19101-19129.
- [3] B. Żołnowska, J. Sławiński, A. Pogorzelska, J. Chojnacki, D. Vullo, C.T. Supuran, *Eur. J. Med. Chem.* 71 (2014) 135–147.
- [4] K. Brożewicz, J. Sławiński, *Eur. J. Med. Chem.* 55 (2012) 384.–394.
- [5] K. Brożewicz, J. Sławiński, *Monatsh. Chem.* 143 (2012) 975-984.

Kontakt : k.szafranski@gumed.edu.pl

## U5

# Ocena sposobu żywienia osób aktywnych fizycznie i sportowców uprawiających popularne sporty siłowo-wytrzymałościowe

**Marta Stachowicz, Anna Lebedzińska**

*Katedra i Zakład Bromatologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego*

Postęp cywilizacyjny, który nastąpił w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat, spowodował zmiany stylu życia współczesnego człowieka, w tym w sposób żywienia. Aby sprostać oczekiwaniom tworzenia łatwej i szybkiej w przygotowaniu żywności, producenci wykorzystują liczne procesy technologiczne, które najczęściej obniżają wartość odżywczą pokarmu. Stanowi to jedną z przyczyn występowania niedoborów witamin i składników mineralnych u znacznej części społeczeństwa [1].

Osoby aktywne fizycznie i sportowcy mają zwiększone zapotrzebowanie na składniki energetyczne, budulcowe i kofaktory reakcji chemicznych, zachodzących w poddanym znacznym obciążeniom organizmie. W celu zachowania zdrowia, zapewnienie optymalnej potreningowej regeneracji oraz zwiększenia wydolności i poprawy osiągnięć sportowych, osoby aktywne powinny zwrócić szczególną uwagę na prawidłowe ułożenie i przestrzeganie diety. W razie konieczności powinna ona uwzględniać suplementację odpowiednimi składnikami [2, 3].

Celem pracy była analiza sposobu żywienia osób aktywnych fizycznie i sportowców uprawiających popularne obecnie sporty siłowo-wytrzymałościowe.

Charakterystyki sposobu żywienia dokonano przy pomocy autorskiego kwestionariusza ankiety, zawierającego pytania dotyczące zwyczajów żywieniowych i stosowanych suplementów oraz 3-dniowego wywiadu żywieniowego. Wartość energetyczną i odżywczą obliczono przy pomocy programu komputerowego „Dieta 5”, opracowanego przez Instytut Żywności i Żywienia w Warszawie [2, 4]. Na podstawie uzyskanych wyników oceniono realizację zapotrzebowania badanych sportowców na składniki odżywcze.

Wszyscy badani są zdania, że prawidłowa dieta może przyczynić się do poprawy osiągnięć sportowych. Jednak tylko 56% spożywa posiłki regularnie, 67% zwraca uwagę na ich skład, a 50% konsultuje jej skład. Aż 89% stosuje suplementy diety, co może świadczyć o zaniedbaniu prawidłowego komponowania posiłków na rzecz łatwiejszego uzupełnienia diety gotowymi preparatami. Większość badanych nie pokrywała swojego zapotrzebowania energetycznego, jak również odżywczego.

Zwraca to uwagę na potrzebę pogłębienia wiedzy osób aktywnych fizycznie na temat odpowiedniego żywienia, uświadomienie jak ważne jest prawidłowe zbilansowanie posiłków oraz pokazanie jak łatwo i szybko można takie żywienie ułożyć i przygotować.

Piśmiennictwo:

- [1] Gawędzki J. (red.): Żywność człowieka – podstawy nauki o żywieniu. Tom 1. Wydawnictwo Naukowe PWN Warszawa, 2016
- [2] Celejowa I: Żywność w Sporcie. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2014
- [3] Zając A., Poprzęcki S., Czuba M., Zydek G., Golaś A.: Dieta i suplementacja w sporcie i rekreacji. AWF Katowice, 2012
- [4] Jarosz M. (red.): Normy żywienia dla populacji polskiej- Nowelizacja Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa, 2012

Kontakt: 1234@gumed.edu.pl

## U6

### Opracowanie metody oznaczania profili lipidomicznych w próbkach biologicznych za pomocą GC-MS

**Magdalena Buszewska-Forajta<sup>1</sup>, Małgorzata Patejko<sup>1</sup>, Joanna Raczak-Gutknecht<sup>1</sup>, Marcin Markuszewski<sup>2</sup>, Marcin Matuszewski<sup>2</sup>, Roman Kaliszan<sup>1</sup>, Michał J. Markuszewski<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk; m.buszewska@gumed.edu.pl, markusz@gumed.edu.pl

<sup>2</sup> Katedra i Klinika Urologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. M. Smoluchowskiego 17, 80-214 Gdańsk

Spśród wszystkich typów, rak prostaty (CaP) jest jednym z najczęściej występujących u mężczyzn, charakteryzującym się najwyższym odsetkiem zachorowalności oraz zgonów, ze względu na jego bezobjawowy rozwój [1]. Dotychczasowe metody rozpoznania CaP, charakteryzują się niską czułością, specyficznością a część z nich jest inwazyjna i/lub powoduje dyskomfort pacjenta. Oznaczanie PSA (ang. *Prostate Specific Antigen*), ze względu na małą inwazyjność metody, jest powszechnie stosowanym testem w diagnostyce CaP. Jednak, PSA stanowi marker specyficzny względem tkanki prostaty, a nie CaP i jego istotność kliniczna jest nadal tematem dyskusji [2]. **Pomimo licznych badań prowadzonych w niniejszym obszarze mechanizm molekularny CaP nie został do końca poznany i wyjaśniony**, a naukowcy wiążą wielkie nadzieje, że to właśnie związki tłuszczowe mogą stanowić istotne wskaźniki chorób nowotworowych [1,2]. Konsekwencją zmian zachodzących w komórkach CaP jest wzmożona synteza związków tłuszczowych, szczególnie kwasu palmitynowego (C16:0), oleinowego (C 18:0), mirystynowego (C14:0) oraz steroli, głównie cholesterolu. Związki te regulują podział i różnicowanie powstałych komórek nowotworowych [3]. Zatem poszukiwanie nowych lipidomicznych wskaźników CaP wydaje się być uzasadnione.

W przedstawionym badaniu przeprowadzono niecelowaną analizę lipidomiczną próbek moczu, osocza i tkanki pochodzących od pacjentów chorych na CaP oraz zdrowych ochotników. Etap przygotowania próbki obejmował ekstrakcję w układzie ciec-ciecz, jak również dwustopniowy proces przekształcania analitów w ich lotne pochodne.

Analizy przeprowadzono z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas. W celu identyfikacji związków lipidowych zastosowano program AMDIS, dedykowany analizom przeprowadzonym z użyciem GC/MS.

W wyniku przeprowadzonych analiz zidentyfikowano 100 związków tłuszczowych w próbkach osocza, 40 związków w próbkach moczu oraz 150 związków w tkance.

Autorzy dziękują firmie Shimpol A.M. Borzymowski za możliwość przeprowadzenia analiz przy użyciu systemu GC-MS 8030TQ.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Weir H.K. et al., J Nat Cancer Ins 95 (2003) 1276-1299.
- [2] Sohn E, Diagnostic dilemma, Nature 2015; S120 – S122.
- [3] Zhou X. et al., PLOS ONE, 7 (2012) e48889.

Kontakt: m.buszewska@gumed.edu.pl

## Nowe pochodne cykloalkiloaminotiosemikarbazydowe o aktywności przeciwgruźliczej

**Malwina Krause<sup>1</sup>, Katarzyna Gobis<sup>1</sup>, Henryk Foks<sup>1</sup>, Ewa Augustynowicz-Kopeć<sup>2</sup>, Agnieszka Napiórkowska<sup>2</sup>, Krzysztof Bojanowski<sup>3</sup>, Małgorzata Szczesio<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

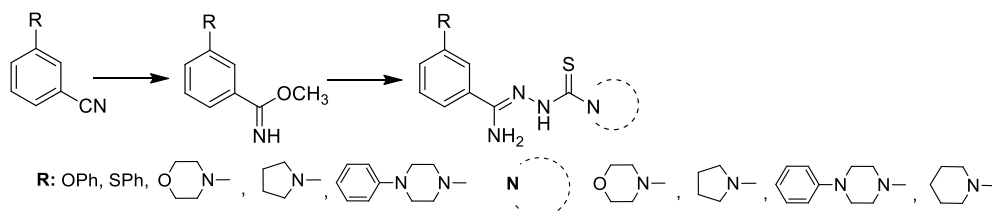
<sup>2</sup>Zakład Mikrobiologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

<sup>3</sup>Sunny BioDiscovery, Santa Paula, Kalifornia, Stany Zjednoczone

<sup>4</sup>Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka

Sytuacja epidemiologiczna gruźlicy uległa znacznej poprawie od 1990 roku. Pomimo tego nadal pozostaje jedną z wiodących przyczyn zgonów na świecie. Największą liczbę nowych zachorowań odnotowano w Afryce, Azji Południowej i Oceanii, jednakże poprzez zwiększoną mobilność ludzi oraz masowy napływ uchodźców do Europy sytuacja ta może szybko ulec zmianie. Zwracając uwagę na istniejące okoliczności społeczne, Światowa Organizacja Zdrowia utworzyła program „The End TB Strategy”, którego celem jest zakończenie epidemii gruźlicy do 2035 roku[1].

Celem przeprowadzonych badań było zaprojektowanie, synteza oraz ocena aktywności biologicznej pochodnych 4-chloropikolinonitrylu. Obszerny screening fenotypowy doprowadził do syntezy pochodnych 4-metylopikolinonitrylu oraz 4-fenylopikolinonitrylu charakteryzujących się dobrą aktywnością przeciwgruźliczą[2]. To skłoniło nas do otrzymania pochodnych cykloalkiloaminotiosemikarbazydowych różniących się podstawnikiem w pozycji 4 pierścienia pirydynowego oraz aminą cykliczną przy łańcuchu tiosemikarbazydowym.



W pierwszym etapie syntez 4-chloropikolinonitrylu podstawiono w pozycji 4 tiofenolem, fenolem, pirolidyną, morfoliną oraz fenylopiiperazyną. Następnie 4-podstawiony pikolinonitryl przeprowadzono w obecności metanolu i katalitycznej ilości DBU w odpowiednie metyloiminoestry. W ostatnim etapie metyloiminoestry reagowały z cykloalkiloamino-1-karbotiohydrazynami. W wyniku przeprowadzonych syntez otrzymano 20 nowych pochodnych.

Struktury wszystkich związków zostały potwierdzone przy pomocy spektroskopii w podczerwieni, magnetycznego rezonansu jądrowego oraz analizy elementarnej. Otrzymane związki zostały przebadane pod kątem aktywności tuberkulostatycznej wobec 2 szczepów *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv oraz Spec. 210. Dla najaktywniejszych związków przeprowadzono badanie aktywności cytotoksycznej na linii komórkowej czerniaka mysiego B16-F10 oraz fibroblastach ludzkiego naskórka HDF. Otrzymane pochodne są dobrą strukturą wiodącą do kontynuacji poszukiwań nowych środków tuberkulostatycznych.

Piśmiennictwo:

- [1] [http://www.who.int/tb/strategy/End\\_TB\\_Strategy.pdf?ua=1](http://www.who.int/tb/strategy/End_TB_Strategy.pdf?ua=1)
- [2] K. Gobis, H. Foks, M. Krause, E. Augustynowicz-Kopeć, A. Napiórkowska, K. Bojanowski, M. Szczesio: *Frontiers in Medicinal Chemistry*, Antwerp, Belgium, 14-16 wrzesień 2015, abstr. 68

Kontakt: malwinakrause@gumed.edu.pl

## U8

### Usprawnienia procedury stosowanej do wyznaczania stabilności metabolicznej w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej pod kątem wysokiej przepustowości.

**Szymon Ulenberg, Tomasz Bączek**

*Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej*

Stabilność metaboliczna jest jedną z ważniejszych właściwości kandydatów na leki stanowiących o ich dopuszczeniu do obrotu. Odpowiada ona nie tylko za wygodę dawkowania leku przez pacjenta, ale też za jego skuteczność oraz toksyczność. Kompletna procedura wyznaczenia stabilności metabolicznej opracowana przez Katedrę i Zakład Chemii Farmaceutycznej zakłada nie tylko uzyskanie wyniku w postaci biologicznego okresu półtrwania wyznaczonego w warunkach *in vitro*, ale też modelowanie zależności pomiędzy strukturą chemiczną badanych związków, a ich stabilnością metaboliczną. Uzyskane wyniki pozwalają nie tylko na względne porównanie stabilności metabolicznej związków w obrębie badanej grupy, ale też (w przypadku odpowiednio dużego zbioru związków) na wskazanie kierunku syntezy przyszłych pochodnych w celu uzyskania pochodnych mniej podatnych na reakcje biotransformacji [1].

Poprzez szereg lat procedura wyznaczania wartości biologicznego okresu półtrwania w warunkach *in vitro* przechodziła wiele usprawnień. Początkowo będąca typowym „wąskim gardłem” w kwestii czasu wykonania, w chwili obecnej pozwala na analizę stabilności metabolicznej 12 związków jednocześnie, w czasie około czterech godzin (włącznie z procedurą przygotowania eksperymentu oraz przygotowania próbek do analizy). Usprawniona procedura pozwala również na uzyskanie bardziej powtarzalnych wyników, co przekłada się na mniejszą ilość powtórzeń koniecznych do uzyskania rzetelnego wyniku. Znacząco zmniejsza to koszt całej procedury, ponieważ każde powtórzenie badań *in vitro* oznacza konieczność użycia enzymów, stanowiących zdecydowanie najdroższy z odczynników użytych w badaniu. Usprawnieniu uległa również metoda analizy ilościowej przygotowanych próbek – zastosowanie microflow UHPLC sprzężonego ze spektrometrem mas typu potrójny kwadrupol z pułapką jonową pozwala na zmniejszenie zarówno czasów analizy, jak i zużycia odczynników istotnie wpływając na zmniejszenie kosztów.

Prezentowane usprawnienia są łatwe do wprowadzenia w każdym laboratorium oraz korzystają z powszechnie dostępnych narzędzi, umożliwiając rozpoczęcie tego typu badań większości placówek zajmujących się bioanalityką.

Piśmiennictwo:

- [1] Ulenberg, S., Belka, M., Król, M., Herold, F., Hewelt-Belka, W., Kot-Wasik, A., Bączek, T. (2015) Prediction of Overall In Vitro Microsomal Stability of Drug Candidates Based on Molecular Modeling and Support Vector Machines. Case Study of Novel Arylpiperazines Derivatives. PLoS One 10, e0122772.

Kontakt: [szymon.ulenberg@gumed.edu.pl](mailto:szymon.ulenberg@gumed.edu.pl)



## Syntetyczne lipopochodne tripeptydu Gly-His-Lys o potencjalnym zastosowaniu w pielęgnacji i leczeniu uszkodzeń skóry

**Monika Kukowska<sup>1\*</sup>, Michał Pikuła<sup>2</sup>, Krystyna Dzierzbicka<sup>1</sup>, Adriana Schumacher<sup>2</sup>, Piotr Trzonkowski<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Katedra Chemii Organicznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, Gabriela Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk

<sup>2</sup>Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Wydział Lekarski, Dębinki 7, 80-211 Gdańsk

\*aktualne miejsce zatrudnienia, Katedra Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. Józefa Hallera 107, 80-416 Gdańsk,

Naturalny czynnik wzrostu określony sekwencją Gly-His-Lys, występujący m.in. w białkach ECM oraz łańcuchu  $\alpha$ -II kolagenu, został po raz pierwszy zidentyfikowany w krwi ludzkiej w 1973r. przez L. Pickarta [1]. Odtąd przypisywano mu wielokierunkową aktywność, istotną zwłaszcza w procesie regeneracji tkanek miękkich, a obejmującą działanie przeciwbakteryjne, tłumiące produkcję transformującego czynnika wzrostu beta (TGF- $\beta$ ), aktywujące dysmutazę ponadtlenkową (SOD) oraz syntezę macierzy pozakomórkowej (ECM), jak również stymulujące angiogenezę [2]. Gly-His-Lys wzbudza ogromne zainteresowanie naukowców z uwagi na wciąż odkrywane właściwości, takie jak: zdolność do regulacji nadekspresji genów w nowotworach okrężnicy i ochrona komórek przed chorobami neurodegeneracyjnymi [3]. Tym niemniej, nadal istotnym zagadnieniem pozostaje ocena działania Gly-His-Lys w procesie regeneracji. Znaczenie to potęguje fakt, iż gojenie ran jest skomplikowanym procesem, związanym ze starzeniem komórkowym, osłabieniem procesu odnowy komórkowej i utratą funkcji ochronnych, a brak efektywnego leczenia przyczynia się do powstawania zmian skórnych oraz chronicznych ran pogarszających jakość i komfort życia człowieka.

Włączając się w te prace zaprojektowano serię liniowych i rozgałęzionych pochodnych Gly-His-Lys oraz ich koniugatów z kwasami tłuszczowymi, których syntezę przeprowadzono na nośniku stałym z zastosowaniem procedury Fmoc. Strukturę nowych pochodnych opisuje wzór  $R_1$ -Gly-**X**-**Y**( $R_2$ )- $R_3$ , gdzie **X** = Hyp, Gly-Hyp, Met, Hyp-Met, **Y** = Lys, D-Lys,  $R_1$ :CH<sub>3</sub>CO, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>CO, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO, H,  $R_2$  = H, CH<sub>3</sub>CO, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>CO,  $R_3$  = OH, NH<sub>2</sub>. Pochodne rozgałęzione przygotowano dzięki selektywnej osłonie  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub> reszty Lys ugrupowaniem Mtt. Z kolei koniugaty otrzymano z zastosowaniem TBTU, HOBT i DIPEA. Wszystkie oczyszczone pochodne scharakteryzowano za pomocą technik spektroskopowych i analitycznych oraz poddano ocenie właściwości fizykochemicznych i biologicznych [4]. Pilotażowe badania biologiczne umożliwiły wyselekcjonowanie pochodnych, które cechowały się umiarkowaną lub silną aktywnością przeciwdrobnoustrojową. Przeprowadzono również ocenę *in vitro* wpływu uzyskanych związków na procesy proliferacji i migracji z użyciem wyhodowanych ludzkich keratynocytów i fibroblastów. Testowane *N*<sup>ω</sup>-lauroilopochodne inicjowały aktywność komórek, zapewniając im optymalne środowisko do prawidłowego funkcjonowania, a ocena cytotoksyczności potwierdziła ich działanie cytoprotekcyjne. Na tej drodze wytypowano lipopochodną, która wykazywała najkorzystniejsze działanie biologiczne [2,4-6], a mechanizm działania związku na poziomie molekularnym jest przedmiotem prowadzonych badań.

Badania zostały sfinansowane przez PG w ramach grantu DS (Nr 019430, 020228, 030386, 030861).

Piśmiennictwo:

- [1] L. Pickart, M.M. Thaler, *FEBS Lett.* 1979, **104**:109-122.
- [2] M. Kukowska, Rozprawa doktorska pt. "Synteza oraz ocena właściwości oligopeptydów jako związków o potencjalnym zastosowaniu w pielęgnacji skóry i leczeniu jej uszkodzeń", 2015.
- [3] M. Kukowska, K. Dzierzbicka, *Curr. Med. Chem.*, 2014, **21**:1-18.
- [4] M. Kukowska, M. Kukowska-Kaszuba, K. Dzierzbicka, *Tetrahedron Lett.*, 2015, **56**, 525-528.
- [5] M. Kukowska, K. Dzierzbicka, *PhD Interdisciplinary Journal*, 2012, **1**:13-17.
- [6] M. Kukowska, M. Kukowska-Kaszuba, K. Dzierzbicka, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2015, **25**: 542-546.

Kontakt: m.kukowska@gumed.edu.pl

## U10

### Bioelektroniczny nos jako nowoczesne narzędzie w analizie substancji zapachowych.

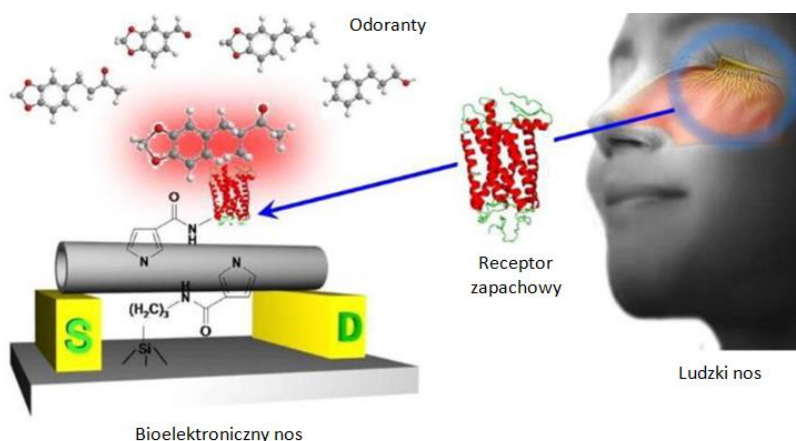
**Tomasz Wasilewski<sup>1</sup>, Jacek Gębicki<sup>2</sup>, Wojciech Kamysz<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Hallera 107, 80-416 Gdańsk,

<sup>2</sup>Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Gdańska, Gabriela Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk.

Cechą charakterystyczną narządów węchowych człowieka i zwierząt jest możliwość identyfikacji setek tysięcy zapachów. Występują przy tym określone wrażenia węchowe, które są podstawowym źródłem informacji o mieszaninie zapachowej. Głównymi elementami budowy biologicznych systemów powonienia są receptory węchowe. Niewielkie różnice w budowie strukturalnej cząsteczek zapachowych (odorantów) mogą prowadzić do wyraźnej zmiany zapachu, co uwarunkowane jest tym, że każdy z receptorów zapachowych jest kodowany przez inny gen i na ogół odbiera inny rodzaj woni. Odkrycie i scharakteryzowanie rodziny genów kodujących receptory węchowe doprowadziło między innymi do opracowania i rozwoju elektronicznych systemów powonienia, czyli bioelektronicznych nosów [1]. W tego typu urządzeniach jako element biologiczny wykorzystywane są receptory zapachowe. Do systemu elektronicznego zaliczana jest część przetwornikowa, umożliwiająca przetworzenie i zmierzenie generowanych sygnałów. Wymagany jest również odpowiedni system analizy danych, umożliwiający wizualizację wyników. Możliwości aplikacyjne bioelektronicznych nosów ukierunkowane są na sektory gospodarki i dziedziny nauki, gdzie wymagana jest wysoce selektywna i czuła analiza substancji zapachowych [2].

Bioelektroniczne nosy oparte na bioczułnikach, w których jako element czuły stosuje się receptory zapachowe są przedmiotem badań wielu zespołów badawczych z różnych dyscyplin naukowych, które obejmują biologię, inżynierię białek, nanotechnologię, inżynierię materiałową, elektronikę, metody analizy i przetwarzania danych. Wraz z rozwojem technik wytwarzania odpowiednich materiałów i ich implementacji, może być realne stosowanie i komercjalizacja bioczułników na bazie receptorów zapachowych w praktycznych zastosowaniach [3].



Piśmiennictwo:

- [1] L. Buck and R. Axel, "A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition," *Cell*, vol. 65, no. 1, pp. 175–187, 1991.
- [2] T. Wasilewski, J. Gębicki, and W. Kamysz, "Bioelectronic nose: Current status and perspectives," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 87, pp. 480–494, 2017.
- [3] T. H. Park, "Bioelectronic nose. Integration of Biotechnology and Nanotechnology," *J. Chem. Inf. Model.*, p. 160, 2011.

Kontakt: tomwasil@gumed.edu.pl

## Nowe pochodne 2-(2-alkilotiobenzosulfonylo)-3-(fenylprop-2-ynylidenoamino)guanidyny – synteza i stabilność metaboliczna związków o aktywności antyproliferacyjnej względem komórek nowotworowych.

Aneta Pogorzelska<sup>1</sup>, Jarosław Sławiński<sup>1</sup>, Beata Żołnowska<sup>1</sup>, Krzysztof Szafranski<sup>1</sup>, Anna Kawiak<sup>2,3</sup>, Szymon Ulenberg<sup>4</sup>, Tomasz Bączek<sup>4</sup>, Jarosław Chojnacki<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, Gdańsk

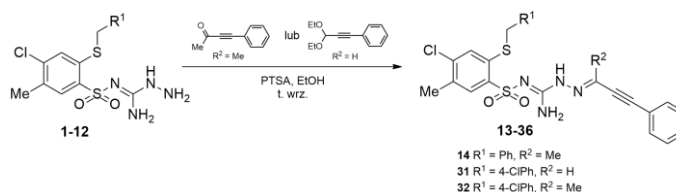
<sup>2</sup>Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed, Abrahama 58, Gdańsk

<sup>3</sup>Zakład Fizjologii Człowieka, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Turwima 15, Gdańsk

<sup>4</sup>Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, Gdańsk

<sup>5</sup>Katedra Chemii Nieorganicznej, Politechnika Gdańska, Gabriela Narutowicza 11/12, Gdańsk

W ramach poszukiwania nowych pochodnych 2-merkaptobenzosulfonamidu hamujących wzrost ludzkich komórek nowotworowych [1-3], zsyntetyzowano nową serię pochodnych 2-(2-alkilotiobenzosulfonylo)-3-(3-fenylprop-2-ynylidenoamino)guanidyny **13-36**. Związki te otrzymano w wyniku reakcji odpowiednich 1-amino-2-(benzenosulfonylo)guanidyn **1-12** z 4-fenylbut-3-yn-2-onem lub acetalem dietylowym fenylpropioaldehydu.



Aktywność cytotoksyczną *in vitro* zsyntetyzowanych pochodnych **13-36** oceniono w teście MTT względem trzech ludzkich linii nowotworowych: raka okrężnicy HCT-116, piersi MCF-7 i szyjki macicy HeLa. Rezultaty wskazują, iż najwyższą aktywność wykazują pochodne należące do serii zawierającej w pozycji drugiej pierścienia grupy benzenosulfonyloguanidynowej podstawnik chlorobenzylotio (**27-32**) lub benzylotio (**13-14**). Wśród nich, związki **31** i **32** posiadające atom chloru w pozycji *para* reszty benzylowej wykazują najlepszy efekt antyproliferacyjny. Uzyskane wartości IC<sub>50</sub> mieściły się w zakresie 6, 8 i 18 μM dla **31** oraz 8, 10 i 14 μM dla **32** odpowiednio względem linii HeLa, HCT-116 i MCF-7. Ponadto, poza testami MTT, związek **14** został przyjęty do poszerzonych badań *in vitro* w National Cancer Institute (USA) w celu oceny aktywności cytotoksycznej względem 60 linii komórkowych nowotworów ludzkich. Badania te wskazują wysoka zdolność hamowania wzrostu 18 linii należących do 8 typów nowotworów (GI<sub>50</sub> w zakresie 1,84-4,99 μM).

Określona na podstawie badań *in vitro* zależność między strukturą a aktywnością nowych pochodnych wskazuje, że wysoka elektroujemność podstawników wprowadzonych do pierścienia ugrupowania benzylootio (R<sup>1</sup>) ma istotne znaczenie dla cytotoksyczności związku. Ponadto wydaje się, że wprowadzenie w tym miejscu rozbudowanych podstawników (zwłaszcza w pozycji *para*) prowadzi do zmniejszenia aktywności związku. W przypadku reszty R<sup>2</sup> znajdującej się przy iminowym atomie węgla, lepszą aktywność wykazują związki zawierające atom wodoru aczkolwiek wprowadzenie w tej pozycji grupy metylowej skutkuje lepszą selektywnością.

Projekt sfinansowano ze środków Narodowego Centrum Nauki na podstawie decyzji DEC-2013/09/B/NZ7/00048

Piśmiennictwo:

- [1] Żołnowska B., Sławiński J., Pogorzelska A. et. al. *Eur. J. Med. Chem.* 71 (2014) 135.
- [2] Brożewicz K., Sławiński J. *Eur. J. Med. Chem.* 55 (2012) 384.
- [3] Brzozowski Z., Sączewski F., Sławiński J. *Eur. J. Med. Chem.* 42 (2007) 1218.

Kontakt: anetapogorzelska@gumed.edu.pl

## U12

### Zastosowanie spektrometrii ruchliwości jonów oraz analizatorów metabolizmu komórkowego „SEAHORSE” w badaniach bioanalitycznych

Łukasz Nowicki

*Perlan Technologies Polska sp. z o.o., autoryzowany dystrybutor firmy Agilent Technologies*

Spektrometr mas 6560 Ion Mobility QTOF firmy Agilent to sprawdzony system analizatora iFunnel Q-TOF 6550 sprzężonego z techniką ruchliwości zjonizowanych cząsteczek w gazie buforowym pod wpływem pola elektrycznego. Instrument 6560 IM Q-TOF LC/MS firmy Agilent pozwala uzyskać większą ilość informacji z analiz złożonych próbek poprzez dodanie dodatkowego wymiaru rozdzielania dzięki zastosowaniu spektrometrii ruchliwości jonów, w połączeniu z dokładnym pomiarem przekroju czynnego zderzeń cząsteczki bez konieczności użycia zależnych od klasy związków, wzorców kalibracyjnych. Aparat Ion Mobility Q-TOF sprzężony z chromatografem cieczowym 1290 UHPLC firmy Agilent zapewnia doskonałe połączenie mocy rozdzielczej i selektywności chromatografii cieczowej, spektrometrii ruchliwości jonów i spektrometrii mas. Spektrometr mas 6560 IM Q-TOF jest idealnym rozwiązaniem do badań lipidów, polisacharydów, stereoisomerów, znajduje zastosowanie w dziedzinach takich jak proteomika i metabolomika.

Analizatory metabolizmu komórkowego Seahorse XF (Seahorse XF Analyzers) dokonują pomiarów szybkości zużycia tlenu (oxygen consumption rate - OCR) oraz szybkości pozakomórkowego zakwaszania (extracellular acidification rate - ECAR) żywych komórek, w odstępach czasowych około 5-8 minutowych. Pomiar OCR jest wskaźnikiem wydajności oddychania mitochondrialnego, natomiast ECAR jest w dużej mierze wyznacznikiem procesu glikolizy. Od momentu wprowadzenia Analizatorów XF na rynek w roku 2006, technologia Seahorse XF została wykorzystana i opisana w ponad 1500 recenzowanych publikacjach naukowych. Moc i użyteczność technologii Seahorse XF pozwala badaczom wielu specjalizacji na lepsze, dokładniejsze i bardziej kompleksowe zrozumienie stosowanych przez nich modeli komórkowych, a co za tym idzie na dokonywanie przełomowych odkryć dotyczących krytycznej roli zmian metabolicznych w procesach chorobotwórczych, czy w trakcie procesu terapeutycznego.

Piśmiennictwo:

- [1] [http://www.agilent.com/en-us/products/cell-analysis-\(seahorse\)/seahorse-analyzers](http://www.agilent.com/en-us/products/cell-analysis-(seahorse)/seahorse-analyzers)
- [2] <http://www.agilent.com/en-us/products/mass-spectrometry/lc-ms-instruments/6560-ion-mobility-q-tof-lc-ms>

Kontakt: [lnowicki@perlan.com.pl](mailto:lnowicki@perlan.com.pl)

## Analiza TLC zawartości alkaloidów i karotenoidów w *Lycium barbarum* L.

**Adam Kokotkiewicz, Piotr Migas, Justyna Stefanowicz, Natalia Prędkiewicz, Maria Łuczkiwicz, Mirosława Krauze-Baranowska**

*Katedra i Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych, Gdański Uniwersytet Medyczny, Hallera 107, 80-416 Gdańsk*

Owoce kolcowoju pospolitego (*Lycium barbarum* L., Solanaceae), znane również jako jagody Goji, wykorzystywane są od ponad 2000 lat w Tradycyjnej Medycynie Chińskiej. Stanowią one lek przeciw schorzeniom reumatoidalnym, a także regulujący ciśnienie krwi oraz obniżający poziom cholesterolu i cukru. Owoce Goji charakteryzują się bogatym składem chemicznym. Stwierdzono w nich obecność specyficznego zespołu polisacharydów, prekursora witaminy C, szeregu związków fenolowych, karotenoidów, aminokwasów i nienasyconych kwasów tłuszczowych z grupy omega-6. Z uwagi na prozdrowotne właściwości, jagody *L. barbarum* zaliczane są żywności funkcjonalnej. Stosowane są w formie suszonej, a także przetworzonej w postaci soków, nalewek, odwarów oraz suplementów diety.

Przynależność systematyczna *L. barbarum* wiąże się z ryzykiem toksyczności, z uwagi na możliwość występowania alkaloidów tropanowych i steroidowych, charakterystycznych dla rodziny psiankowatych. Kontrola zawartości wymienionych połączeń w roślinach użytkowych jest ważna z uwagi na ich aktywność antycholinergiczną, przejawiającą się u ludzi zaburzeniami neurologicznymi i żołądkowo-jelitowymi. Dotychczas jednak niewiele prac naukowych poświęcono analizie jakościowej i ilościowej frakcji alkaloidowej z *L. barbarum*, bezpieczeństwo stosowania tej rośliny nie jest więc w pełni potwierdzone.

Celem niniejszej pracy było określenie zawartości alkaloidów steroidowych (*a*-solaniny, *a*-chakoniny i solanidyny) oraz tropanowych (L-hioscyjminy i skopolaminy) w owocach, liściach, pędach i korzeniach trzech odmian *L. barbarum* dostępnych w Polsce ('Amber Sweet Goji', 'New Big' i 'No.1'). Dodatkowo, postanowiono określić w wyżej wymienionych odmianach zawartość karotenoidów, stanowiących jedną z głównych grup związków czynnych, warunkujących działanie biologiczne surowca.

W toku badań zoptymalizowano metody oznaczania jakościowego i ilościowego wymienionych związków techniką chromatografii cienkowarstwowej z detekcją densytometryczną. W ramach prowadzonych prac opracowano sposoby ekstrakcji surowca oraz optymalizację warunków separacji, derywatywacji i oznaczania ilościowego badanych połączeń. Metody analizy ilościowej poddano walidacji, obejmującej wyznaczenie zakresów liniowości, dokładności, precyzji wewnątrz- i międzygrupowej oraz limitów detekcji i oznaczalności. W dalszej kolejności, wyciągi z badanych odmian kolcowoju pospolitego przeanalizowano ilościowo pod względem obecności alkaloidów i karotenoidów.

W wyniku przeprowadzonych analiz, nie stwierdzono obecności alkaloidów steroidowych i tropanowych w żadnej z analizowanych matryc roślinnych, dowodząc tym samym, że owoce badanych odmian kolcowoju pospolitego są bezpieczne do spożycia. Dodatkowo potwierdzono obecność w owocach Goji izomerów ksantofili (luteiny/zeaksantyny) i karotenów ( $\beta$ -karotenu). Najwyższą zawartością karotenoidów oznaczoną metodą TLC charakteryzowały się dwie odmiany o bardziej intensywnej pomarańczowo-czerwonej barwie owoców, mianowicie 'New Big' i 'No.1'. Prezentowane metody oznaczania ilościowego alkaloidów i karotenoidów mogą być wykorzystane do szybkich analiz skryningowych ekstraktów z owoców i innych części *L. barbarum*.

Piśmiennictwo:

- [1] Potterat, O., Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): Phytochemistry, pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity, *Planta Medica*, 2010, 76:7-19.
- [2] Amagase, H., Farnsworth, N.R., A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji), *Food Research International*, 2011, 44:1702-1717.

Kontakt: adamkokot@gumed.edu.pl

## Kinetyka flip-flop sufentanylu po podaniu zewnątrzoponowym u niemowląt

**Agnieszka Borsuk<sup>1</sup>, Bogumiła Wołoszczuk-Gębicka<sup>2</sup>, Alicja Bartkowska-Śniatkowska<sup>3</sup>, Agnieszka Bienert<sup>4</sup>, Paweł Wiczling<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Katedra Ratonnictwa Medycznego, Wydział Lekarski, Uniwersytet Rzeszowski

<sup>3</sup>Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii Pediatrycznej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

<sup>4</sup>Katedra Farmacji Klinicznej i Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Znieczulenie zewnątrzoponowe jest powszechnie stosowaną metodą leczenia bólu pooperacyjnego. Często praktykowane jest łączenie środków znieczulenia miejscowego z opioidami, co pozwala na obniżenie dawek obu leków oraz zmniejszenie ich działań niepożądanych. Sufentanil jest silnym opioidem szeroko stosowanym w anestezjologii i intensywnej terapii, jednak dane na temat jego farmakokinetyki u dzieci są ograniczone. Celem pracy było opracowanie modelu populacyjnego opisującego farmakokinetykę sufentanylu podawanego we wlewie zewnątrzoponowym lub dożylnym u niemowląt i dzieci.

Analizowane dane pochodzą z dwóch przeprowadzonych uprzednio badań klinicznych, w których wzięło udział 41 dzieci w wieku 0-18 lat otrzymujących sufentanil w postaci wlewu dożylnego [1] i 20 niemowląt w wieku 3-36 miesięcy otrzymujących sufentanil w postaci wlewu zewnątrzoponowego [2]. Populacyjną analizę farmakokinetyczną połączonych danych przeprowadzono stosując nieliniowe modelowanie efektów mieszanych w programie NONMEM wersja 7.3.0. W celu uwzględnienia zmian w wielkości ciała zastosowano skalowanie allometryczne z wykładnikami teoretycznymi. Zmiany w klirensie metabolicznym spowodowane dojrzewaniem aktywności enzymów scharakteryzowano jako ułamek klirensu osoby dorosłej przy pomocy równania Hilla.

Model dwukompartментowy z absorpcją pierwszego rzędu z przestrzeni zewnątrzoponowej w odpowiedni sposób opisał farmakokinetykę sufentanylu. Typowe wartości objętości kompartmentu centralnego, objętości kompartmentu głębokiego oraz klirensu międzykompartmentowego dla teoretycznego pacjenta o masie ciała 70 kg były następujące:  $VC = 7,67$  L,  $VT = 475$  L,  $Q = 40,3$  L/h. W badanej populacji wyodrębniono subpopulację o odmiennej, wyższej średniej wartości klirensu metabolicznego. Oszacowane typowe wartości klirensu metabolicznego dla obu subpopulacji wyniosły odpowiednio  $CL_1=50,9$  L/h,  $CL_2=156$  L/h. Wpływ masy ciała na parametry farmakokinetyczne został dobrze wyjaśniony przy pomocy skalowania allometrycznego z wykładnikami teoretycznymi. Typowa wartość stałej szybkości wchłaniania z przestrzeni zewnątrzoponowej wynosiła 0,0467/h. Wartości współczynnika Hilla i wieku ciążowego, dla którego aktywność enzymatyczna osiąga 50% aktywności osoby dorosłej wyniosły odpowiednio 4,56 i 40,8 tygodnia. Zmienność międzyosobnicza została oszacowana dla CL, VT, i Q.

Opracowany model populacyjny dobrze opisuje przebieg czasowy i zmienność stężenia sufentanylu u niemowląt i dzieci. Model sugeruje powolne wchłanianie sufentanylu podawanego we wlewie zewnątrzoponowym, jednak wartość stałej szybkości absorpcji oszacowana jest w oparciu o niewielką ilość obserwacji. Należałoby także uwzględnić interakcję pomiędzy środkiem znieczulenia miejscowego a opioidem w tej metodzie leczenia bólu pooperacyjnego.

Projekt finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki grant nr 2014/15/N/NZ7/03028

Piśmiennictwo:

- [1] Bartkowska-Śniatkowska A, Bienert A, Wiczling P, et al. Pharmacokinetics of sufentanil during long-term infusion in critically ill pediatric patients. *J Clin Pharmacol* 2016; 56: 109–15.
- [2] Wołoszczuk-Gębicka B, Grabowski T, Borucka B, Karas-Trzeciak M. Pharmacokinetics of sufentanil administered with 0.2% ropivacaine as a continuous epidural infusion for postoperative pain relief in infants. *Paediatr Anaesth* 2014; 24: 962–7.

Kontakt: agnieszkabe@gumed.edu.pl

## Opracowanie metody oznaczania tokotrienoli w ludzkiej tkance tłuszczowej pochodzącej z piersi za pomocą techniki HPLC-APCI-MS/MS

**Ewa Bartosińska<sup>1</sup>, Julia Jacyna<sup>1</sup>, Agnieszka Borsuk<sup>1</sup>, Michał Kaliszan<sup>2</sup>, Wiesław Kruszewski<sup>3,4</sup>, Zbigniew Jankowski<sup>2</sup>, Paweł Wiczling<sup>1</sup>, Danuta Siluk<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk*

<sup>2</sup>*Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębowa 23, 80-204 Gdańsk*

<sup>3</sup>*Oddział Chirurgii Onkologicznej, Gdynskie Centrum Onkologii, Szpital Morski im. PCK w Gdyni, ul. Powstania Styczniowego 1, 81-519 Gdynia*

<sup>4</sup>*Zakład Propedetyki Onkologii, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Powstania Styczniowego 9b, 81-519, Gdynia*

Tokoferole i tokotrienole, należące do grupy związków występujących pod wspólną nazwą „witamina E”, w ostatnich latach stanowią istotny obiekt zainteresowania badaczy z różnych dziedzin nauk o zdrowiu. Podejrzewa się, że oprócz dobrze poznanego i szeroko opisanego działania antyoksydacyjnego, mogą wykazywać też działanie ochronne, zapobiegające rozwojowi chorób nowotworowych, w tym nowotworu piersi. Właściwości te przypisywane są w szczególności tokotrienolom, tokochromanolom z nienasyconym łańcuchem bocznym.

Celem niniejszej pracy było opracowanie metody izolacji wszystkich tokochromanoli z ludzkiej tkanki tłuszczowej oraz walidacja metody oznaczania tokotrienoli w tym materiale biologicznym z wykorzystaniem techniki HPLC-APCI-MS/MS. Zoptymalizowana metoda przygotowania próbki obejmowała ekstrakcję przy pomocy mieszaniny izopropanolu, etanolu oraz 0,1% roztworu kwasu mrówkowego (65/15/40, v/v/v) z dodatkiem butylohydroksytoluenu jako przeciwutleniacza. Homogenat otrzymany przy pomocy homogenizatora kulowego odwirowywano a supernatant poddawano kolejnym etapom oczyszczania z wykorzystaniem ekstrakcji do fazy stałej (SPE). Procedura SPE z wykorzystaniem kolumnienek Bond Elut Plexa (30 mg, 1 mL) obejmowała kondycjonowanie złoza metanolem, następnie przepłukiwanie 0,1 % roztworem kwasu mrówkowego, aplikację próbki, przemycie złoza 20 % roztworem metanolu oraz elucję analitów przy pomocy izopropanolu. Uzyskany ekstrakt odparowywano do sucha w wirówce próżniowej (38 °C, 50 minut) i suchą pozostałość rozpuszczano w 100 µL etanolu.

Z uwagi na zadowalające wyniki badania efektu matrycy dla wszystkich czterech tokotrienoli (89,3-115,0%), badania dotyczące precyzji, dokładności i liniowości prowadzono z wykorzystaniem roztworów standardów tokotrienoli. Odzysk metody i efektywność procesu mieściły się odpowiednio w zakresach: 71,6-96,7% oraz 61,0-89,2%. Uzyskane rezultaty dotyczące precyzji i dokładności mieściły się odpowiednio w granicach 2,1-10,3% oraz 88,9-115,1% i spełniały wymagania FDA. Zarówno próbki tkanki tłuszczowej, jak i standardów tokotrienoli okazały się stabilne podczas przechowywania, przygotowywania i analizy.

Zwalidowana metoda analityczna została zastosowana do oznaczania tokotrienoli w testowych próbkach tkanki tłuszczowej pochodzącej z piersi kobiet obciążonych nowotworem piersi oraz próbkach pozyskanych z Zakładu Medycyny Sądowej.

Kontakt: ewabart@gumed.edu.pl

## U16

### Stężenia parabenów w moczu jako wskaźnik narażenia – badania pilotażowe w populacji północnej Polski.

**Anna Klimowska, Adrianna Bednarz, Bartosz Wielgomas**

*Katedra i Zakład Toksykologii, Gdański Uniwersytet Medyczny*

Parabeny są estrami kwasu *p*-hydroksybenzoesowego, które posiadają aktywność przeciwdrobnoustrojową, dlatego też są powszechnie stosowane jako środki konserwujące przy produkcji żywności, kosmetyków oraz leków. Doniesienia o ich możliwym negatywnym wpływie na układ hormonalny oraz rozrodczy u mężczyzn wpłynęły na wprowadzenie regulacji prawnych dotyczących ograniczenia ich stosowania, a także próbę określenia poziomu narażenia różnych populacji na całym świecie poprzez prowadzenie badań biomonitoringowych. W populacji polskiej poziom ten nie został do tej pory określony.

Przeprowadzono ocenę narażenia na pięć parabenów (metylowy, etylowy, propylowy, butylowy i *iz*-butylowy) poprzez analizę 356 porannych próbek moczu pochodzących od 180 osób dorosłych, w tym 104 kobiet i 76 mężczyzn, oraz 176 dzieci, w tym 78 dziewczynek i 98 chłopców. Badane związki oznaczono za pomocą chromatografii gazowej połączonej z tandemową spektrometrią mas, uzyskując granice wykrywalności na poziomie 0,14-1,31 ng/ml.

Najczęściej wykrywano paraben propylowy oraz metylowy, które obecne były w stężeniach powyżej granicy oznaczalności odpowiednio w 81,5% i 74,2% próbek. Paraben etylowy, butylowy i *iz*-butylowy były wykrywane znacznie rzadziej, odpowiednio w 47,2%, 48,6% i 55,6% próbek. Najwyższe średnie stężenie geometryczne (37,4 ng/ml) oraz stężenie maksymalne (4603,8 ng/ml) oznaczono dla parabenu metylowego. U kobiet, niezależnie od wieku, zanotowano wyższe niż u mężczyzn stężenia wszystkich badanych biomarkerów.

Duży odsetek próbek, w których stwierdzono występowanie oznaczalnych stężeń jest dowodem na powszechną ekspozycję na parabeny w badanej populacji. Nadal nie są znane efekty zdrowotne długotrwałego narażenia na niskie dawki parabenów, dlatego ważne jest monitorowanie poziomu narażenia na tę grupę związków.

Kontakt: [anna.klimowska@gumed.edu.pl](mailto:anna.klimowska@gumed.edu.pl)



## Antybiotyki w lekach recepturowych sporządzanych w aptekach ogólnodostępnych województwa warmińsko-mazurskiego

Elżbieta Kuriata<sup>1</sup>, Wiesław Sawicki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Wojewódzki Inspektorat Farmaceutyczny w Olsztynie

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Leki recepturowe to produkty lecznicze sporządzane w aptece na podstawie recepty lekarskiej, a w przypadku produktu leczniczego weterynaryjnego – na podstawie recepty wystawionej przez lekarza weterynarii (1). W Polsce sporządza się rocznie około 4 milionów refundowanych leków recepturowych o wartości 230 milionów złotych, w województwie warmińsko-mazurskim od 120 do 200 tysięcy o wartości 6 milionów złotych (2,3). Składnikami leków recepturowych są surowce farmaceutyczne oraz gotowe produkty lecznicze produkowane przez przemysł farmaceutyczny. Wykaz gotowych produktów leczniczych, które mogą być traktowane, jako surowce farmaceutyczne przy sporządzaniu leku recepturowego określa Minister Zdrowia w drodze rozporządzenia (3). Gotowe produkty lecznicze, które nie znajdują się w tym wykazie również są stosowane do sporządzania leków recepturowych, ale ich podanie pacjentowi często wiąże się z zastosowaniem poza wskazaniami rejestracyjnymi (4).

Przebadano skład 7812 leków recepturowych. Antybiotyki zastosowano w 1521 lekach recepturowych. Częściej od antybiotyków stosowano jedynie glikokortykosteroidy, kwasy organiczne, np. kwas salicylowy, i kwasy nieorganiczne, np. kwas borny. Antybiotyki będące surowcami farmaceutycznymi (detreomycyna, erytromycyna, gentamycyna, neomycyna, nystatyna) zastosowano w 1224 lekach recepturowych, a antybiotyki będące gotowymi produktami leczniczymi produkowanymi przez przemysł farmaceutyczny (antybiotyki makrolidowe, antybiotyki aminoglikozydowe, chinolony i tetracykliny) w 297 lekach recepturowych. Postacie leku z antybiotykami formowano na podłożach maściowych (wazelina biała, euceryna, maść cholesterolowa, lanolina, Lekobaza, Hascobaza, wazelina żółta), podłożach czopkowych (masło kakaowe), podłożach proszkowych (glukoza, laktoza, talk), oraz rozpuszczając lub zawieszając w rozpuszczalnikach (woda oczyszczona, linomag, etanol, gliceryna i parafina płynna). Najczęściej stosowanym antybiotykiem była detreomycyna, która była składnikiem 770 leków recepturowych.

Piśmiennictwo:

- [1] Ustawa z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne t.j. Dz. U. z 2008 r. Nr 45, poz. 271 ze zm.
- [2] Kuriata E., Brzozowska M., Śliwczyński A. Sporządzanie leków recepturowych w aptekach ogólnodostępnych w latach 2011 – 2013. Podstawowe dane statystyczne. *Farmacja Polska*. 2015 71 (1) str 2-5.
- [3] Analiza wydanych leków. KS-SIKCH W-M OW NFZ w Olsztynie. Wydruk z dnia 25 maja 2012 r.
- [4] Kuriata E., Sawicki W. Evaluation of the cases with the usage of commercially available tablets in the pediatric formula. *Acta Poloniae Pharmaceutica and Drug Research*. 2015, 72 (3):551-558.

Kontakt: e.kuriata@wif-olsztyn.pl

## ***N*-Podstawione *N'*-(2-arylometylotio-4-chloro-5-etylobenzenosulfonylo)guanidyny – nowe związki o aktywności przeciwnowotworowej, przeciwbakteryjnej oraz inhibitorowej wobec izoform I, II, IX, XII ludzkiej anhidrazy węglanowej**

**Beata Żołnowska<sup>1</sup>, Jarosław Sławiński<sup>1</sup>, Anna Kędzia<sup>2</sup>, Ewa Kwapisz<sup>2</sup>, Anna Kawiak<sup>3</sup>, Claudiu T. Supran<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk, Polska

<sup>2</sup>Gdański Uniwersytet Medyczny, Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej, ul. Do Studzienki 38, 80-277 Gdańsk, Polska

<sup>3</sup>Gdański Uniwersytet Medyczny, Zakład Fizjologii Człowieka, ul. Tawima 15, 80-210 Gdańsk, Polska

<sup>4</sup>University of Florence, Laboratorio di Chimica Bioinorganica, Via della Lastruccia 3, 50019 Sesto Fiorentino, Florence, Italy

Sulfonamidy stanowią ważną klasę związków wykazujących szereg zróżnicowanych kierunków działania farmakologicznego m. in. antybakteryjnego, hipoglikemicznego, diuretycznego, przeciwzapalnego, przeciwnowotworowego oraz jako inhibitory anhidrazy węglanowej [1]. Aktywność przeciwnowotworowa sulfonamidów wynika z wielu mechanizmów działania, a jednym z postulowanych jest inhibicja izoformy IX ludzkiej anhidrazy węglanowej (hCA) [2].

W toku przeprowadzonych badań dokonano syntezy i oceny aktywności biologicznej, w tym inhibitorowej wobec wybranych izoform ludzkiej anhidrazy węglanowej, przeciwnowotworowej oraz przeciwbakteryjnej, szeregu *N*-podstawionych pochodnych *N'*-(2-arylometylotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo)guanidyny. Wśród otrzymanych pochodnych najbardziej aktywne przeciwnowotworowo związki hamowały wzrost 32-35 linii komórkowych nowotworów ludzkich w zakresie 2,1-5,0  $\mu\text{M}$  parametru  $\text{GI}_{50}$ , jak również wykazywały wysoką aktywność inhibitorową wobec hCA IX and XII w przedziale 18-40 nM stałej inhibicji ( $K_i$ ). Ponadto związek o najwyższej selektywności wobec izoform hCA IX i XII charakteryzował się znaczącą aktywnością wobec linii komórkowej raka płuc A498 [3].

Otrzymana seria związków wykazała także zdolność hamowania wzrostu szczepów bakteryjnych, wyizolowanych od pacjentów z zakażeniami jamy ustnej, górnych dróg oddechowych i przewodu pokarmowego. Najbardziej aktywny związek, prezentując wartości MIC  $\leq 6,2 \mu\text{g/ml}$ , działał wobec kilkunastu szczepów bakterii Gram-dodatnich (tlenowych i beztlenowych), a także prezentował interesującą aktywność wobec szczepów opornych, takich jak metycylinooporny *Staphylococcus aureus* oraz *Enterococcus faecalis* [4].

Piśmiennictwo:

- [1] Shah SS, Rivera G, Ashfaq M. *Mini Rev Med Chem.* 2013,13:70-86.
- [2] Supuran CT. *World Clin Oncol* 2012, 3,98-103
- [3] Żołnowska B, Sławiński J, Pogorzelska A, Chojnacki J, Vullo D, Supuran CT. *Eur J Med Chem.* 2014, 71:135-147.
- [4] Żołnowska B, Sławiński J, Grzonek A, Kędzia A, Kwapisz E, Kawiak A. *Pol J Microbiol.* 2015, 64: 299-305.

Kontakt: zolnowska@gumed.edu.pl

## U19

### Modelowanie probabilistyczne – alternatywne narzędzie do modelowania danych metabolomicznych

**Emilia Dagher-Wojtkowiak, Paweł Wiczling, Roman Kaliszan, Michał J. Markuszewski**

*Zakład Biofarmacji i Farmakokinetyki, Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk, Polska*

Współczesne techniki analityczne pozwalają na oznaczenie stężeń bądź sygnałów dla dużej liczby związków (np. metabolitów) w próbkach biologicznych. Otrzymane w ten sposób dane metabolomiczne są zazwyczaj trudne w interpretacji, głównie ze względu na swój rozmiar (więcej zmiennych niż obserwacji).

Obecnie do analizy danych metabolomicznych używa się metod typu *black box*, czyli gotowych algorytmów obliczeniowych umożliwiających analizę wielu typów matryc danych. W naszej ocenie konkurencyjnym narzędziem mogą być techniki modelowania probabilistycznego, szczególnie te wykorzystujące modele hierarchiczne. Taki rodzaj analizy oparty jest o algorytm, który stochastycznie generuje analizowane dane oraz pozwala wnioskować o rozkładzie parametrów zaproponowanego modelu. Takie podejście do analizy danych posiada szereg zalet, gdyż opiera się o model dedykowany konkretnym danym, natomiast zastosowanie modelu hierarchicznego pozwala w łatwy sposób uwzględnić informację *a priori* oraz dziedziczyć informację pomiędzy analizowanymi związkami. Eliminuje także problem wielokrotnych porównań (*multiple testing*), często obecny w przypadku poszukiwania różnic pomiędzy dwiema analizowanymi grupami danych, ograniczając w ten sposób prawdopodobieństwo otrzymania fałszywie pozytywnych wyników.

W pracy przedstawiono koncepcję oraz przykład zastosowania modelowania hierarchicznego na przykładzie modelowania danych obejmujących stężenia nukleozydów w moczu osób zdrowych i chorych na nowotwory pęcherza moczowego.

Kontakt: [emilia.dagher@gumed.edu.pl](mailto:emilia.dagher@gumed.edu.pl)

## Prozdrowotne właściwości wybranych produktów pszczelich

Marcin Andrzej Kruszewski, Monika Naumowicz

Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno-Chemiczny, Instytut Chemii, Zakład Elektrochemii

Człowiek interesuje się pszczołami od zarania dziejów. W pierwszych wiekach pozyskiwanie miodu miało charakter bardzo prymitywny i najczęściej skazywało rodzinę pszczelą na zagładę. Z biegiem czasu człowiek nauczył się obchodzić z pszczołami i „przeprowadził” pszczoły z dziupli do ula. Zauważono, że miód korzystnie oddziałuje na organizm ludzki. Dostyc szybko spostrzeżono iż dziuple zabezpieczone przez pszczoły propolisem nie ulegają zniszczeniu. Dlatego próbowano używać go również w trakcie leczenia ludzi [1].

Do produktów pszczelich zalicza się miód, propolis zwany kitem pszczelim, pierzgę, mleczko pszczele jak i homogenat czerwiu trutowego. Zarówno miód jak i propolis są dobrze znane i często używane, natomiast pozostałe produkty są rzadko stosowane pomimo cennych właściwości. Bogactwo związków o charakterze biologicznie czynnym takich jak flawonoidy czy karotenoidy powoduje iż produkty pszczele są bardzo dobrymi antyoksydantami. Związki te mają zdolność niwelowania negatywnego wpływu wolnych rodników na komórki [2].

Mleczko pszczele jest wydzieliną gruczołów młodych pszczół (5-14 dniowych). Jest to substancja o charakterystycznym, kwaśnym smaku i delikatnym zapachu fenolu. Ma postać żółtawo-białej galarety. Pszczoły wykorzystują je do odżywiania larw oraz karmienia matki pszczelej. W skład mleczka pszczelego wchodzi: woda, węglowodany, białka, lipidy oraz związki mineralne. Posiada ono silne właściwości antibakteryjne w stosunku do bakterii gram-dodatnich, natomiast w stosunku do bakterii gram-ujemnych hamuje rozwój tych bakterii – skuteczność mleczka pszczelego porównywalna jest ze skutecznością antybiotyków różnych klas [3].

Pierzga jest to zbierany przez pszczoły pyłek kwiatowy, umieszczany przez owady w komórkach plastrów i w odpowiedni sposób zakonserwowany. Przyniesiony do ula pyłek jest zwilżany śliną pszczoły, w której zawarte są enzymy. Enzymy te zapobiegają kiełkowaniu, a w cyklu kolejnych przemian zachodzi proces fermentacji mlekowej nadający pierzdze charakterystyczny kwaskawy smak. Pszczoły wykorzystują ją do odżywiania się. Człowiek może wykorzystać pierzgę bezpośrednio bądź po wymieszaniu z miodem. Produkt ten zawiera bardzo dużo cennych składników odżywczych takich jak białka, lipidy i mikroelementy. Może być wykorzystywana w stanach osłabienia organizmu [4].

Homogenat czerwiu trutowego jest to specjalnie przygotowana mieszanina, w skład której wchodzi larwy trutowe. W medycynie wschodu jest często wykorzystywana. Homogenat zawiera bardzo dużo cennego i łatwo przyswajalnego białka. Na podstawie doniesień literaturowych można stwierdzić, że homogenat ma właściwości protektorowe dla płodu w łonie matki, jak również nadaje się do leczenia męskiej niepłodności oraz łagodzenia objawów przekwitania [5].

Piśmiennictwo:

- [1] Ostrowska W. 1985. *Gospodarka Pasieczna*. Państwowe Wyd Rol i Leś
- [2] Mouhoubi-Tafnine Z., Ouchemoukh S., Tamendjari A. 2016. *Antioxydant activity of some algerian honey and propolis*. Industrial Crops and Products 88: 85-90.
- [3] Fratini F., Cilia G., Mancini S., Felicioli A. 2016. *Royal Jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties*. Microbiological Research 192: 130-141
- [4] Nagai T., Nagashima T., Suzuki N., Inoue R. 2005. *Antioxidant Activity Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibition by Enzymatic Hydrolysates from Bee Bread*. Z. Naturforsch 60C: 133-138.
- [5] Isidorov W.A. 2013. *Alchemia Pszczół Pszczoły i Produkty Pszczęle Oczami Chemika*. Sąddecki Bartnik

Kontakt: kaligula9@gmail.com

## Izotachoforeza – efektywne narzędzie izolacji i wzbogacania wybranych składników badanych próbek

**Szymon Dziomba<sup>1</sup>, Adam Prah<sup>2</sup>, Paulina Dąbrowska<sup>1</sup>, Anna Klimowska<sup>1</sup>, Aleksandra Pawelec<sup>1</sup>, Marta Piskunowicz<sup>1</sup>, Bartosz Wielgomas<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Katedra i Zakład Toksykologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk*

<sup>2</sup>*Zakład Syntezy Organicznej, Katedra Chemii Organicznej, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-952 Gdańsk*

Izotachoforeza (ITP) jest techniką elektromigracyjną wykorzystywaną przede wszystkim w analizie jonów nieorganicznych i prostych jonów organicznych. Jej znaczenie w chemii analitycznej jest obecnie marginalizowane z uwagi na rozwój alternatywnych technik analitycznych jak chromatografia jonowa, atomowa emisyjna spektroskopia z indukcyjnie wzbudzaną plazmą (ICP-OES) czy spektrometria mas. Ostatnie wyniki badań zespołu prof. J. Santiago ze Stanford University prezentują zupełnie nowe, innowacyjne wykorzystanie techniki ITP do izolacji i wzbogacania kwasów nukleinowych ze złożonych matryc biologicznych [1-3].

Celem badania była ocena możliwości wykorzystania techniki ITP do izolacji i wzbogacania grupy substancji chemicznych o określonych właściwościach fizykochemicznych. Proces ITP prowadzono w niemodyfikowanych kapilarach krzemionkowych (50  $\mu\text{m}$  x 60 cm) z użyciem systemu do elektroforezy kapilarnej PA 800 plus (Sciex, CA, USA). Izolację i wzbogacanie prowadzono z użyciem dwóch układów elektrolit wiodący (LE) - elektrolit terminujący (TE): zasadowego 40 mM NaOH/50 mM HEPES – 70 mM Tris/50 mM HEPES (pH 8.0) oraz kwasowego 20 mM Tris/40 mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> – 40 mM glicyna/40 mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (pH 2.3). W doświadczeniach stosowano napięcie o wartości 30 kV przy normalnej polaryzacji elektrod. W badaniach użyto roztworów czterech substancji modelowych (arekolina, emetyna, kodeina, parakwat) o stężeniu 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

Wstępne wyniki badań dowodzą możliwości selektywnego wzbogacania silnie hydrofilowej ( $\log P$  -6.9) substancji kationowej (parakwat) z użyciem zasadowego układu LE - TE. Na uwagę zasługuje niespotykana w innych technikach elektromigracyjnych zdolność zawężania pasma substancji wzbogacanej (szerokość podstawy piku parakwatu < 0,6 sek dla czasu dozowania 10 sek, 3,45 kPa). Uzyskane rezultaty pokazują także, że proces ten może być selektywny w stosunku do wybranej grupy analitów w zależności od doboru parametrów jego prowadzenia. Zastosowanie buforu kwasowego pozwoliło na zmianę selektywności w kierunku wzbogacania emetyny i kodeiny. Możliwość izolacji tych substancji ze złożonych próbek biologicznych pokazano na przykładzie fortyfikowanego moczu ludzkiego. Obserwacja procesu elektroforetycznej izolacji substancji drobnocząsteczkowych ze złożonych matryc została wsparta symulacją komputerową z użyciem programu Simul 5.

Projekt został sfinansowany ze środków Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego (KNOW), przyznanych na podstawie decyzji MNISW-DS.-6002-4693-23/WA/12 z dnia 12 lipca 2012 r. na lata 2012-2017, w ramach programu Doktor KNOW

Piśmiennictwo:

- [1] A. Persat, L.A. Marshall, J.G. Santiago, Purification of Nucleic Acids from Whole Blood Using Isotachopheresis, *Analytical Chemistry*, 81 (2009) 9507-9511.
- [2] K. Kuriyama, H. Shintaku, J.G. Santiago, Isotachopheresis for fractionation and recovery of cytoplasmic RNA and nucleus from single cells, *Electrophoresis*, 36 (2015) 1658-1662.
- [3] L.A. Marshall, C.M. Han, J.G. Santiago, Extraction of DNA from Malaria-Infected Erythrocytes Using Isotachopheresis, *Analytical Chemistry*, 83 (2011) 9715-9718.

Kontakt: szymon.dziomba@gumed.edu.pl

## Badanie wpływu nowych analogów bis-amidyn na aktywność topoizomeraz DNA

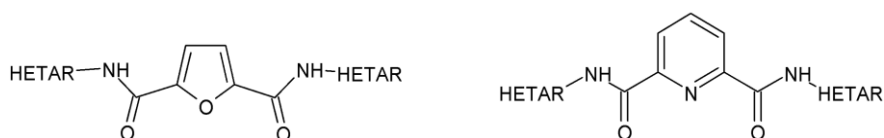
Agnieszka Wróbel, Anna Pućkowska, Ewelina Budacz, Danuta Drozdowska

Zakład Chemii Organicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Wśród wielu środków o działaniu przeciwnowotworowym, dużą i ważną grupę stanowią ligandy oddziaływujące z DNA, szczególnie w jego mniejszej bruzdzie, wykazujące zdolność rozpoznawania specyficznych sekwencji bogatych w pary zasad adenina-tymina. Związki tej klasy, oprócz specyficzności sekwencyjnej, charakteryzują się wspólnymi cechami struktury, takimi jak płaska cząsteczka wygięta w sposób zapewniający izohelikalność z kształtem mniejszego rowka DNA, obecność donorów/akceptorów wiązań wodorowych oraz hydrofobowych pierścieni przyczyniających się do powstawania oddziaływań van der Waalsa [1]. Najlepiej poznanymi przedstawicielami tej grupy ligandów DNA są aromatyczne bis-amidyny (pentamidyna, furamidyna i ich analogi) oraz leksitropsyny, znane głównie z aktywności przeciwdrobnoustrojowej [1]. W ostatnich latach pojawiły się doniesienia dotyczące aktywności przeciwnowotworowej tych związków [2, 3], która między innymi jest związana z ich zdolnością do hamowania aktywności topoizomerazy DNA typu I i II [1]

Krótkie oligoamidy zawierające układy aromatyczne, w tym furanu, pirydyny i diazyn (Rys.1) zostały zsyntezowane w Zakładzie Chemii Organicznej UMB [4].

Rys.1. Ogólna struktura zaprojektowanych oligoamidów (HETAR = pierścień heterocykliczny)



Celem prezentowanej pracy jest zbadanie wpływu hamującego nowo otrzymanych pochodnych na działanie topoizomeraz DNA. Zdolność hamowania działania wskazanych enzymów może wskazywać na aktywność przeciwnowotworową badanych związków.

Piśmiennictwo:

- [1] Cai X., Gray P.J. Jr., Von Hoff D.D., DNA minor groove binders: back in the groove, *Cancer Treatment Reviews*. 2009, 35, 437-450.
- [2] Baraldi P.G., Bovero A., Fruttarolo F., Preti D., Tabrizi M.A., Pavani M.G., Romagnoli R., DNA minor groove binders as potential antitumor and antimicrobial agents. *Medicinal Research Reviews*. 2004, 24, 475-528.
- [3] Spychala J., The usefulness of cyclic diamidines with different core-substituents as antitumor agents *Bioorganic Chemistry* 2008, 36, 183–189.
- [4] Pućkowska A. The click synthesis of new bis-amidines. (przygotowywane do druku).

## Synteza, struktura i właściwości biologiczne kompleksów miedzi(II) z cyklicznymi pochodnymi *N*-(pirydyn-2-ylo)(tio)mocznika

Franciszek Sączewski<sup>1</sup>, Łukasz Balewski<sup>1</sup>, Maria Gdaniec<sup>2</sup>, Patrick J. Bednarski<sup>3</sup>

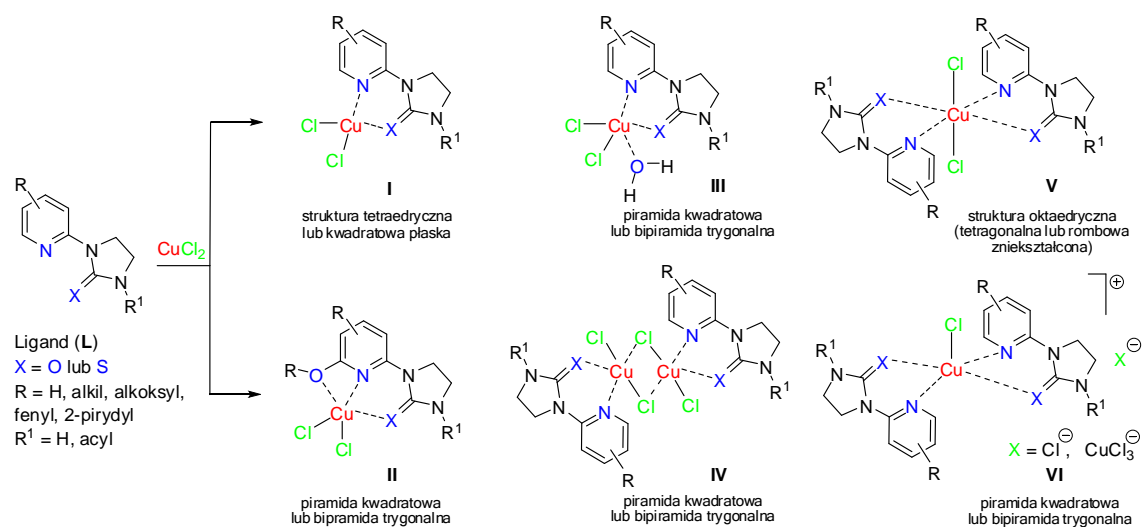
<sup>1</sup>Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Zakład Krytalografii, Wydział Chemii UAM w Poznaniu

<sup>3</sup>Department of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Institute of Pharmacy, University of Greifswald, Germany

Wzrost zainteresowania związkami koordynacyjnymi metali przejściowych, do których należy miedź, wynika z ich udokumentowanej aktywności biologicznej, obejmującej działanie przeciwnowotworowe, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne i naśladujące dysmutazę ponadtlenkową (SOD) [1-4]. Fakt, iż związki kompleksowe metali cechuje znacznie wyższa aktywność biologiczna w porównaniu z macierzystymi ligandami, stwarza możliwość ich zastosowania w praktyce medycznej.

Kontynuując badania nad syntezą, strukturą i właściwościami biologicznymi związków kompleksowych miedzi(II) z azotowymi układami heterocyklicznymi (azolami, benzazolami) [4-6], przeprowadzono reakcje ligandów cyklicznych o strukturze *N*-(pirydyn-2-ylo)mocznika i *N*-(pirydyn-2-ylo)tio mocznika (**L**) z chlorem miedzi(II), uzyskując szereg połączeń koordynacyjnych **I-VI**:



Struktury otrzymanych związków kompleksowych zostały potwierdzone w oparciu o analizę widm w podczerwieni oraz badania rentgenograficzne (Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu). Badania aktywności cytotoksycznej ligandów i kompleksów względem linii komórkowych nowotworów ludzkich przeprowadzono we współpracy z Zakładem Chemii Medycznej Instytutu Farmaceutycznego Uniwersytetu w Greifswaldzie (Niemcy).

Piśmiennictwo:

- [1] Santini, C.; Pellei, M.; Gandin, V.; *et al. Chem. Rev.* **2014**, *114*, 815-862.
- [2] Mendes, I.C.; Moreira, J.P.; Mangrich, A.S.; *et al. Polyhedron* **2007**, *26*, 3263-3270.
- [3] Puranik, R.; Bao, S.; Bonin, A.M.; *et al. Cell Biosci.* **2016**, *6*:9.
- [4] Sączewski, F.; Dziemidowicz-Borys, E.; Bednarski, P.J.; Gdaniec, M. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2007**, *340*, 333-338.
- [5] Sączewski, F.; Dziemidowicz-Borys, E.; Bednarski, P.J.; *et al. J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 1389-1398.
- [6] Balewski, Ł.; Sączewski, F.; Bednarski, P.J.; Gdaniec, M.; *et al. Molecules* **2014**, *19*, 17026-17051.

Kontakt: lbalewski@gumed.edu.pl

U24

## The development and standardization new medicinal drugs based on *Maclura pomifera*

Vladimir Korotkov <sup>1</sup>, Saule Ordabayeva <sup>2</sup>

<sup>1</sup>*PhD, Assistant professor, Department of pharmaceutical and toxicological chemistry, South Kazakhstan State Pharmaceutical Academy, Production director of "Phyto-Apipharm" LLP.*

<sup>2</sup>*Professor, Doctor of pharmacy, Department of pharmaceutical and toxicological chemistry, South Kazakhstan State Pharmaceutical Academy*

A phytochemical research of *Maclura pomifera* was conducted and it was found that *Maclura pomifera* fruits are rich with lipophilic biologically active substances, of which the most interesting are the isoflavones, phytosterols and triterpenes. Total flavonoid content is at least 8% based on osayin, phytosterols amount not less than 4% based on lupeol. The new medicinal drugs in form of oil extract and suppositories based on *Maclura pomifera* were developed. To evaluate the quality of the oil extraction and suppositories it was studied their organoleptic and physico-chemical properties; the methods of standardization were developed. It was examined the stability of suppositories with *Maclura pomifera* oil extract under the influence of various storage conditions and time. Experimental evaluation of the biological properties of suppositories based on the models of turpentine prostatitis and sulphiridebenign prostate hyperplasia of rats has shown anti-inflammatory, membrane-stabilizing, antioxidant, prostateprotective properties of the developed preparation. Normalization of clinical, biochemical and biometric parameters was accompanied by positive changes in the morphological structure and functional activity of the prostate gland. The therapeutic action of the *Maclura pomifera* oil extract suppositories did not inferior to the reference preparation - Prostatlant forte.

Contact: [farmacevt.vk@gmail.com](mailto:farmacevt.vk@gmail.com)



## **PREZENTACJE POSTEROWE**

## P1-1

### Wpływ trzymiesięcznego spożywania naparu z czystka siwego na wybrane wskaźniki równowagi oksydacyjno-redukcyjnej i lipidowe parametry ryzyka chorób sercowo-naczyniowych

S. Labudda<sup>2</sup>, K. Dąbkowski<sup>1</sup>, E. Parzych<sup>2</sup>, A. Haffke<sup>2</sup>, M. Dąbrowska<sup>2</sup>, A. Rokicka<sup>2</sup>, I. Andrzejewska<sup>2</sup>, P. Jatkowska<sup>2</sup>, P. Celmer<sup>2</sup>, P. Dawid<sup>2</sup>, P. Bładowska<sup>2</sup>, A. Dąbkowski<sup>2</sup>, E. Nowak<sup>2</sup>, P. Nagel<sup>2</sup>, E. Suszek<sup>2</sup>, K. Gabryś<sup>2</sup>, K. Kapusta<sup>2</sup>, H. Dąbrowska<sup>2</sup>, K. Sionek<sup>2</sup>, A. Manuszewska<sup>2</sup>, O. Lewandowska<sup>2</sup>, K. Pławska<sup>2</sup>, K. Pilarska<sup>2</sup>, A. Cichoński<sup>2</sup>, M. Kukier<sup>2</sup>, M. Koronkiewicz<sup>2</sup>, A. Mazurowska<sup>2</sup>, J. Radziejewicz<sup>2</sup>, K. Sinkiewicz<sup>2</sup>, A. Danielkiewicz<sup>2</sup>, J. Zielińska<sup>2</sup>, E. Wieczorek<sup>1</sup>, A. Ćwiklińska<sup>1</sup>, B. Kortas-Stempak<sup>1</sup>, A. Gliwińska<sup>1</sup>, A. Kuchta<sup>1</sup>, M. Jankowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Analityki Klinicznej; Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Chemii Klinicznej

Czystek siwy (*Cistus incanus*) jest rośliną pochodzącą z rejonów Morza Śródziemnego i Azji Zachodniej. Właściwości zdrowotne ziola związane są m.in. z wysoką zawartością polifenoli - substancji o silnych właściwościach przeciwutleniających. Zaburzenie równowagi oksydacyjno-redukcyjnej, poprzez aktywację procesów zapalnych, uszkodzenia naczyń krwionośnych oraz wpływ na metabolizm lipoprotein, jest istotnym czynnikiem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Niewiele jest jednak prac przedstawiających wpływ spożywania naparu z czystka siwego na laboratoryjne parametry równowagi oksydacyjno-redukcyjnej i inne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych.

Celem projektu była ocena wybranych parametrów równowagi oksydacyjno-redukcyjnej oraz profilu lipidowego w trakcie trzymiesięcznego spożywania naparu z czystka siwego.

W badaniu wzięło udział 21 kobiet i 3 mężczyzn w wieku 21-25 lat. Uczestnicy badania spożywali napar z czystka siwego (napar z 2 gramów suszonych liści; źródło: zielarnia Astron) przez okres trzech miesięcy, według podanego przepisu.

W ramach projektu u wszystkich ochotników przeprowadzono analizę składu ciała z wykorzystaniem metody bioimpedancji elektrycznej, oceniono profil lipidowy, oznaczono aktywność paraoksonazy-1 względem paraoksonu i octanu fenylu, oceniono stężenie zaawansowanych produktów utlenienia białek (ang. Advanced Oxidation Protein Products-AOPP), a także stopień utlenienia lipidów na podstawie stężenia TBARS (ang. Thiobarbituric Acid Reactive Substances)

Po 12 tygodniach spożywania naparu z czystka siwego stwierdzono wzrost stężenia cholesterolu HDL (średnio o 4%,  $p=0,047$ ) i spadek stężenia triglicerydów (średnio o 14%,  $p=0,036$ ), przy braku zmian w stężeniu cholesterolu całkowitego i cholesterolu LDL. Stężenie TBARS i AOPP zmalało (średnio o 22%,  $p<0,001$  i o 19%,  $p<0,001$  odpowiednio) już po pierwszych 6 tygodniach suplementacji. Kolejne 6 tygodni suplementacji nie spowodowało dalszych istotnych zmian w stężeniu produktów peroksydacji. Nie zaobserwowano wpływu naparu z czystka siwego na aktywność paraoksonazy-1, zarówno wobec paraoksonu jak i octanu fenylu. W trakcie trwania projektu nie zauważono także istotnych zmian w parametrach składu ciała mierzonych przy pomocy bioimpedancji elektrycznej.

Wykazano korzystny efekt spożywania naparu z czystka siwego na profil lipidowy oraz stopień oksydacji białek i lipidów, co może mieć istotne znaczenie dla ograniczenia ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych.

Kontakt: agakuchta@gumed.edu.pl

## P1-2

### Ocena farmakologiczna udziału podtypów receptorów alfa2-adrenergicznych w efektach mydriatycznych u szczura, wywołanych pochodnymi imidazoliny

**Joanna Raczak-Gutknecht<sup>1</sup>, Teresa Frąckowiak<sup>1</sup>, Antoni Nasal<sup>1</sup>, Anita Kornicka<sup>2</sup>, Franciszek Sączewski<sup>2</sup>, Roman Kaliszan<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416, Gdańsk, Polska

<sup>2</sup>Katedra Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416, Gdańsk, Polska

Pochodne imidazoliny podane dożylnie wywołują rozszerzenie źrenicy oka u niektórych gatunków ssaków (szczury, myszy, koty) [1, 2]. Wykazano, że działanie to związane jest ze stymulacją postsynaptycznych receptorów alfa2-adrenergicznych w mózgu, natomiast receptory I1-imidazolinowe praktycznie nie pośredniczą w efekcie mydriatycznym [3, 4]. Rola podtypów receptorów alfa2 układu sympatycznego w mechanizmie rozszerzania źrenicy oka nie została, jak dotąd, ostatecznie wyjaśniona.

W niniejszych badaniach porównano wpływ na źrenicę oka szczura dwóch nowych pochodnych imidazoliny: marsanidyny i 7-metylomarsanidyny, wykazujących w doświadczeniach radioizotopowych wyraźne powinowactwo do receptorów typu alfa2 oraz charakteryzujących się działaniem hipotensyjnym u szczurów, wywołanym pobudzeniem receptorów alfa2-adrenergicznych w ośrodkowym układzie nerwowym [5, 6]. Marsanidyna, 7-metylomarsanidyna oraz związek modelowy – klonidyna były podawane dożylnie w skumulowanych dawkach szczurom szczepu Wistar, samcom, w znieczuleniu uretanowym. Każda z pochodnych była testowana osobno oraz w obecności antagonistów receptora alfa2-adrenergicznego (nieselektywnego - johimbiny, wybiórczych względem podtypów tego receptora: BRL44408 (alfa2A), ARC239 (alfa2B), JP1302 (alfa2C) oraz RX 821002 – preferencyjnie blokującego receptor typu alfa2D). Każdy z antagonistów był podawany w jednorazowej dawce, przed zastosowaniem serii skumulowanych dawek badanej imidazoliny. Średnica źrenicy była mierzona z pomocą mikroskopu stereoskopowego zaopatrzonego w zielony filtr. Ocenianymi parametrami farmakometrycznymi były: wielkości dawek równoefektywnych – ED<sub>50</sub> (µg/kg) oraz wartości efektów maksymalnych – E<sub>max</sub> (mm).

Marsanidyna i 7-metylomarsanidyna wywoływały efekty mydriatyczne, E<sub>max</sub>, równe odpowiednio: 3,97±0,10 oraz 3,52±0,08 mm, zaś dla klonidyny wartość E<sub>max</sub> wynosiła 3,63±0,09 mm. Analiza uzyskanych dla badanych związków krzywych dawka-efekt wykazała, że BRL44408, JP1302, oraz ARC239 nie powodowały znaczącego ich przesunięcia w prawo, natomiast johimbina (a zwłaszcza RX821002) wywoływały istotne przesunięcie omawianych krzywych w prawo. Otrzymane wyniki sugerują, że w efektach mydriatycznych wywołanych marsanidyną, 7-metylomarsanidyną oraz klonidyną pośredniczą głównie receptory alfa2-adrenergiczne podtypu 2D.

Podziękowania: Badanie było finansowane z funduszy NCN, Grant Preludium nr 2012/05/N/NZ7/03544.

Piśmiennictwo:

- [1] M.C. Koss, J. Pharmacol. Methods 1986, 15, 1-19; [2] M.C. Koss, Auton. Autacoid Pharmacol. 2003, 23, 51-56; [3] Y. Yu, M.C. Koss, Auton. Neurosci. 2005, 117, 17-24; [4] J. Raczak-Gutknecht et al., Int. J. Pharmacol. 2014, 10, 470-478; [5] F. Sączewski et al., J. Med. Chem. 2008, 51, 3599-3608; [6] M. Wróblewska et al., Pharmacol. Rep. 2013, 65, 1025-1032.

Kontakt: roman.kaliszan@gumed.edu.pl

## P1-3

### Kwas 4-fenylomasłowy: prosta struktura – wiele zastosowań

**Marcin Kruszewski**<sup>1</sup>, **Magdalena Kusaczuk**<sup>2</sup>, **Marzanna Cechowska-Pasko**<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Elektrochemii, Instytut Chemii, Uniwersytet w Białymstoku

<sup>2</sup> Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Kwas 4-fenylomasłowy (PBA) jest krótkołańcuchowym aromatycznym kwasem tłuszczowym, będącym pochodną kwasu masłowego, który produkowany jest przez fizjologiczne bakterie flory jelitowej [1]. Kwas 4-fenylomasłowy wykazuje różnorodny wpływ na funkcjonowanie jelit, m.in. bierze udział w łagodzeniu stanów zapalnych błony śluzowej, wpływa na łagodzenie stresu oksydacyjnego, reguluje transport przez nabłonek śluzówki jelita oraz zapobiega rozwojowi raka jelita grubego [2]. Ponadto, wyniki licznych badań *in vitro* wskazują na skuteczność PBA w hamowaniu rozwoju innych typów nowotworów, prowadząc do zahamowania proliferacji komórek nowotworowych oraz kierowania ich na drogę śmierci apoptotycznej [1]. W badaniach *in vitro* oraz prowadzonych na modelach zwierzęcych, wykazano również potencjalnie korzystny wpływ PBA na łagodzenie przebiegu innych stanów patologicznych, takich jak: genetyczne zespoły metaboliczne, neuropatie, hemoglobinopatie, zaburzenia cyklu mocznikowego czy cukrzyca [3]. Mechanizmy działania kwasu 4-fenylomasłowego są różne i związane z trzema głównymi aspektami jego aktywności. PBA wykazuje działanie: inhibitora deacetylaz histonów (HDACI), chemicznego chaperonu, oraz neutralizatora wolnych grup amonowych [1]. Przyczyniając się do hiperacetytacji białek histonowych i regulacji ekspresji wielu genów, PBA pełni funkcję HDACI [4]. Ułatwiając nieprawidłowo sfalduwanym białkom przywracanie ich prawidłowej konformacji, PBA działa jako chemiczny chaperon [5]. Kwas 4-fenylomasłowy pełni też rolę neutralizatora wolnych grup amonowych, wpływając na przebieg cyklu mocznikowego i wydalanie z organizmu toksycznego amoniaku [6]. Z uwagi na wiele korzystnych efektów działania, PBA może być uważany za potencjalny środek terapeutyczny w leczeniu wielu chorób.

Piśmiennictwo:

- [1] Kusaczuk M., Bartoszewicz M., Cechowska-Pasko M. Phenylbutyric acid: simple structure - multiple effects. *Curr Pharm Des.* 2015; 21: 2147-2166.
- [2] Sossai P. Butyric acid: what is the future for this old substance? *Swiss Med Wkly.* 2012; 142: w13596.
- [3] Berni Canani R., Di Costanzo M., Leone L., et al. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World J Gastroenterol.* 2011; 17: 1519-1528.
- [4] Kusaczuk M., Krętowski R., Bartoszewicz M., Cechowska-Pasko M. Phenylbutyrate – a pan-HDAC inhibitor – suppresses proliferation of glioblastoma LN-229 cell line. *Tumor Biol.* 2016; 37: 931-942.
- [5] Ono K., Ikemoto M., Kawarabayashi T., et al. A chemical chaperone, sodium 4-phenylbutyric acid, attenuates the pathogenic potency in human alpha-synuclein A30P + A53T transgenic mice. *Parkinsonism Relat Disord.* 2009; 15: 649-654.
- [6] Lee B., Rhead W., Diaz G.A., et al. Phase 2 comparison of a novel ammonia scavenging agent with sodium phenylbutyrate in patients with urea cycle disorders: safety, pharmacokinetics and ammonia control. *Mol Genet Metab.* 2010; 100: 221-228.

Kontakt : ewelina-wilinska1@wp.pl

## P1-4

### Aktywność biologiczna krótkich lipopeptydów kationowych

**Katarzyna Greber, Krystyna Pieńkowska, Wiesław Sawicki**

*Katedra Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny*

Lipopeptydy kationowe stanowią przedmiot zainteresowania ze względu na wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec szczepów G+ oraz G-.

Postanowiono zsyntetyzować dwa lipopeptydy kationowe zawierających dwa łańcuchy hydrofobowe - (C<sub>10</sub>)<sub>2</sub>-KKKK-NH<sub>2</sub> and (C<sub>12</sub>)<sub>2</sub>-KKKK-NH<sub>2</sub>. Zbadano właściwości przeciwdrobnoustrojowe wobec referencyjnych i klinicznych szczepów *Staphylococcus aureus*. Oznaczono toksyczność wobec keratynocytów ludzkich. Zbadano *ex vivo* zdolność do przenikania i penetracji skóry ludzkiej.

Z przeprowadzonych badań wynika, że lipopeptydy są jednakowo aktywne wobec szczepów klinicznych co referencyjnych. Wyznaczona wartość MIC zawierała się w zakresie 4 -32 µg/ml. Wartość IC<sub>50</sub> wyznaczone dla HaCaT wyniosło 49,4 µg/ml oraz 42,0 µg/ml dla (C<sub>10</sub>)<sub>2</sub>-KKKK-NH<sub>2</sub> and (C<sub>12</sub>)<sub>2</sub>-KKKK-NH<sub>2</sub> odpowiednio. Nie zaobserwowano zdolności do przenikania przez skórę ani penetracji *stratum corneum* przez badane lipopeptydy.

Ze względu na wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową, niską toksyczność jak i brak przenikania przez skórę badane lipopeptydy mogłyby pełnić rolę środka konserwującego lub antybiotyku stosowanego w miejscowych infekcjach skóry.

## P1-5

### Otrzymywanie i badania fizykochemiczne mezoporowatych materiałów krzemionkowych jako potencjalnych nośników metronidazolu

**Katarzyna Czarnobaj, Magdalena Prokopowicz, Wiesław Sawicki**

*GUMed, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Chemii Fizycznej*

Uporządkowane materiały mezoporowate, w tym mezoporowate materiały krzemionkowe otrzymywane metodą zol-żel są grupą związków, nad którą w ciągu ostatnich lat prowadzone są bardzo intensywne badania, głównie ze względu na doskonałe właściwości adsorpcyjne tych materiałów i potencjalnie szerokie możliwości wykorzystania ich w procesach przemysłowych tj. adsorpcja i kataliza, jak również w obszarach medycyny regeneracyjnej, np. jako implantacyjne nośniki substancji leczniczych [1].

Celem badań było uzyskanie wysoce porowatych materiałów krzemionkowych typu MCM-41 i SBA-15, które jako implantacyjne formy leku mogłyby znaleźć zastosowanie w odbudowie tkanki kostnej i miejscowym dostarczaniu leku oraz ocena ich właściwości fizykochemicznych, zwłaszcza parametrów porowatości, a dodatkowo badania bioaktywności *in vitro* oraz badania dostępności farmaceutycznej metronidazolu z uzyskanych materiałów. Właściwości strukturalne oceniono za pomocą techniki TEM – elektronowej mikroskopii transmisyjnej. Badanie to potwierdziło uporządkowaną heksagonalną strukturę otrzymanych mezoporowatych materiałów krzemionkowych oraz jednorodność wielkości ich porów.

Za pomocą badania BET, wykorzystującego zjawisko adsorpcji gazów na powierzchni ciał stałych, oceniono właściwości powierzchniowe i adsorpcyjne zsyntezowanych materiałów. Badanie to wykazało, że materiały posiadają wysoce rozwiniętą powierzchnię właściwą (575 - 765 m<sup>2</sup>/g) i jednolite mezopory (6 – 8 nm), co potwierdziło przydatność otrzymanych uporządkowanych materiałów krzemionkowych do procesów adsorpcyjnych.

Wykorzystując technikę FTIR, XRD oraz SEM oceniono bioaktywność *in vitro* otrzymanych materiałów. Gotowe materiały inkubowano w płynie symulującym osocze krwi przez okres 4 – 6 tygodni, a następnie ww. technikami oceniano zdolność do narastania hydroksyapatytu na ich powierzchni. Badania potwierdziły bioaktywność *in vitro* uzyskanych materiałów.

Badania dostępności farmaceutycznej wykazały dwuetapowe uwalnianie MT (na początku szybki wyrzut dużej ilości substancji leczniczej, a potem stopniowe uwalnianie niewielkich porcji MT).

Przeprowadzone badania świadczą o dużym potencjale aplikacyjnym otrzymanych materiałów. Uzyskane nośniki jako implanty z MT mogłyby znaleźć zastosowanie w opracowaniu postaci leku w leczeniu zakażeń słabo ukrwionych tkanek np. kości, dozując miejscowo substancję leczniczą w procesie odbudowy lub rekonstrukcji tkanki kostnej lub zębowej [2].

Piśmiennictwo:

- [1] M. Vallet-Regi, F. Balas, D. Arcos. Mesoporous Materials for Drug Delivery. *Angew Chem Int Ed* 2007, 46, 7548-58.
- [2] M. Prokopowicz, K. Czarnobaj, A. Szewczyk, W. Sawicki. Preparation and *in vitro* characterization of bioactive mesoporous silica microparticles for drug delivery applications. *Med. Sci. Eng. C* 2016, 60, 7-18.

Kontakt: [kczar@gumed.edu.pl](mailto:kczar@gumed.edu.pl)

## P1-6

### Wpływ wybranych kwasów tłuszczowych na metabolizm lipidów w hepatocytach

Aleksandra Czumaj

*Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Dębinki 1, 80-211 Gdańsk*

Wstęp: Tkanka tłuszczowa wydziela nie tylko aktywnie biologiczne peptydy – adipokiny, ale również odpowiada za uwalnianie do krwi wolnych kwasów tłuszczowych. Ostatnie badania wskazują, że wiele spośród kwasów tłuszczowych występujących we krwi człowieka może wykazywać aktywność biologiczną wpływając na metabolizm różnych tkanek, w tym na ekspresję różnych genów [1]. Kwasy tłuszczowe stanowią zróżnicowaną grupę związków i w zależności od ich długości oraz stopnia nasycenia efekt ich działania może być odmienny. Celem pracy jest ocena wpływu wybranych kwasów tłuszczowych na ekspresję genów związanych z metabolizmem lipidów w liniach hepatocytów hodowanych in vitro.

Materiały i metody: Badania wykonano z użyciem ludzkich komórek wątrobowych linii HepG2. Do środowiska inkubacyjnego komórek podawano kwasy tłuszczowe w stężeniu 25µM, 50µM i 100µM na okres 48h. W poniższym doświadczeniu użyto następujące kwasy: kwas palmitooleinowy (16:1), kwas 9,10-metylenohexadecanowy (cyklo-17) oraz kwas arachidonowy (20:4). Po wyznaczonym okresie inkubacji z komórek izolowano RNA, a następnie poziom ekspresji genów oceniano przy pomocy techniki real-time PCR. Do analizy wybrano przykładowe geny zaangażowane w metabolizm lipidów, tj.: elongazy (Elov1, Elov3, Elov6), desaturazy stearylo-CoA (SCD1, SCD5) oraz receptory aktywowane przez proliferatory peroksyosomów (PPARA, PPARG1, PPARG2).

Wyniki: Zanotowano wzrost ekspresji wszystkich analizowanych genów w obecności kwasu cyklo-17. W przypadku kwasu palmitooleinowego wzrost ekspresji zanotowano tylko w przypadku SCD1, SCD5, ELOV1 i ELOV3. Natomiast w przypadku kwasu 20:4 zaobserwowano spadek ekspresji wszystkich analizowanych genów, z wyjątkiem SCD5. Każdy z zaobserwowanych efektów był zależny od dawki kwasu tłuszczowego.

Podsumowanie: Przedstawione wyniki sugerują, że wybrane kwasy tłuszczowe mają wpływ na metabolizm lipidów, jednak ich działanie zależy od struktury poszczególnych kwasów tłuszczowych. Każdy z przebadanych kwasów tłuszczowych należał do innej podgrupy związków biorąc pod uwagę długość łańcucha, stopień nasycenia czy obecność grup cyklicznych. W konsekwencji czego ich wpływ na ekspresję wybranych genów również był odmienny.

Piśmiennictwo :

- [1] Cao H., Gerhold K., Mayers J.R., Wiest M.M., Watkins S.M., Hotamisligil G.S. (2008) Identification of a lipokine, a lipid hormone linking adipose tissue to systemic metabolism. *Cell*, 134(6): 933-944.

Kontakt: aczumaj@gumed.edu.pl

## P1-7

### Ocena stanu wiedzy wybranej grupy osób na temat wpływu diety na rozwój osteoporozy

**Adam Sadokierski<sup>1</sup>, Dominika Tatarynowicz<sup>1</sup>, Magdalena Bola<sup>1</sup>, Małgorzata Misztal-Szkudlińska<sup>2</sup>, Piotr Szefer<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny

Osteoporoza to choroba, w wyniku której dochodzi do utraty masy kostnej, zaburzeń mikrostruktury gąbczastej, obniża się gęstość i wytrzymałość kości na czynniki zewnętrzne, co zwiększa możliwość złamań. Osteoporoza jest uznana przez WHO za chorobę cywilizacyjną [1]. Czynniki predysponujących do powstania choroby jest wiele, wśród nich wyróżnia się między innymi: wiek; płeć; uwarunkowania genetyczne; przekwitanie (zwłaszcza przedwczesne); długotrwałe spożywanie leków np. glikokortykosteroidów, immunosupresyjnych, przeciwpadaczkowych, heparyny; nieprawidłowa dieta o obniżonej zawartości wapnia, fosforu i witaminy D<sub>3</sub>; picie alkoholu i palenie papierosów [2].

Celem pracy jest ocena stanu wiedzy na temat roli stosowanej diety w młodym wieku w profilaktyce osteoporozy.

Badanie przeprowadzono metodą ankietową wśród 111 studentów i absolwentów Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Analizę statystyczną wyników wykonano w programie STATISTICA 12.

Większość z ankietowanych kobiet częściej niż mężczyźni wskazywało, że styl życia i dieta w młodym wieku w istotny sposób wpływa na możliwość zachorowania na osteoporozę w późniejszych latach życia (test U Manna-Whitney'a,  $p < 0,03$ ). Średnio co szósty ankietowany posiada wśród swoich bliskich osobę cierpiącą na zrzesotnienie kości. Mieszkańcy miasta częściej zapadają na osteoporozę niż mieszkańcy wsi (test U Manna-Whitney'a,  $p < 0,02$ ). Według respondentów najistotniejszymi czynnikami wpływającymi na rozwój osteoporozy są uwarunkowania genetyczne oraz wiek i płeć. Natomiast czynnikami zmniejszającymi możliwość zachorowania są: aktywność fizyczna, przyjmowanie suplementów diety zawierających składniki mineralne i witaminy oraz częste badania profilaktyczne. Wśród składników diety mających działanie profilaktyczne badane osoby wskazały: wapń, witaminę D<sub>3</sub>. 14% ankietowanych deklaruje suplementację diety preparatami zawierającymi witaminę D<sub>3</sub>. Odnośnie spożycia produktów o wysokiej zawartości wapnia i witaminy D<sub>3</sub> najczęściej respondenci wskazywali: mleko UHT, jogurty naturalne, jaja, sery żółte i twarogowe. Częstość spożycia ryb i przetworów rybnych wśród badanych była sporadyczna.

Piśmiennictwo:

- [1] Muraki S., Yamamoto S., Ishibashi H., Hiroyuki O., Yoshimura N., Kawaguchi H., Nakamura K., 2007. Diet and lifestyle associated with increased bone mineral density: cross-sectional study of Japanese elderly women at an osteoporosis outpatient clinic. *Journal of Orthopaedic Science*, 12:317-320
- [2] Smith A., 2006. Veganism and osteoporosis: A review of the current literature. *International Journal of Nursing Practice* 12:302-306

Kontakt: adam.sadokierski@gumed.edu.pl



## P1-8

### Wyznaczanie profilu uwalniania trygoneliny z minipomp osmotycznych w wykorzystaniu techniki HILIC-HPLC

Anna Stefaniak<sup>1</sup>, Adrianna Skwira<sup>1</sup>, Marietta Jankowska<sup>1</sup>, Weronika Wyrwas<sup>1</sup>, Damian Szczesny<sup>2</sup>, Paweł Wiczling<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Biofarmacji i Farmakodynamiki, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416, Gdańsk

<sup>2</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416, Gdańsk

Infuzyjne pompy osmotyczne to systemy terapeutyczne służące do podawania leku ze stałą, ustaloną szybkością i przez określony czas. Szybkość uwalniania substancji leczniczej jest niezależna od jej ilości pozostającej w organizmie, a więc zgodna z kinetyką zerowego rzędu. Działają one na zasadzie osmozy, co sprawia, że są samozasilające a substancje są dostarczane do ustroju w jednostajny sposób. Ze względu na budowę pompy mechanizm dozowania jest niezależny od właściwości podawanego leku, więc zarówno zjonizowane cząsteczki leków, jak i makrocząsteczki, mogą być dozowane w sposób ciągły i z kontrolowaną szybkością.

Oprócz lecznictwa minipompy osmotyczne znajdują zastosowanie w badaniach z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych, w których konieczne jest długotrwale podawanie leków. Dostępne komercyjnie urządzenia pozwalają na dużą rozpiętość stosowanych dawek i czasów infuzji, od 1 dnia do 6 tygodni [1].

Przeprowadzone badania miały na celu wyznaczenie profilu uwalniania trygoneliny z minipompy osmotycznej. Porównane zostały również dwa sposoby napełniania pompy – przy użyciu igły dostarczonej przez producenta, jak również za pomocą standardowej igły iniekcyjnej. Trygonelina uwalniana była do roztworu 0,9% NaCl o stałej temperaturze 37°C, który imitował płyn ustrojowy. Próbkę roztworu do oznaczeń pobierane były po 15, 30, 45 minutach oraz 1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 20, 21, 22, 23 i 24 godzinach od rozpoczęcia doświadczenia. Do wyznaczenia profilu wykorzystana została metoda opracowana w Katedrze Biofarmacji Farmakodynamiki [1]. Do przeprowadzenia analizy zastosowano wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją DAD oraz technikę chromatografii oddziaływań hydrofilowych (HILIC). Zastosowano kolumnę chromatograficzną Kinetex HILIC (4,6 x 50 mm; 2,6 µm). Faza ruchoma składała się z mieszaniny acetonitrylu i roztworu mrówczanu amonu (10 mM, pH = 3) w stosunku objętościowym 55 : 45. Analizę prowadzono w warunkach izokratycznych, a szybkość przepływu fazy ruchomej wynosiła 0,5 ml/min. W celu ilościowej oceny uwalnianej trygoneliny przygotowana została krzywa kalibracyjna w zakresie stężeń trygoneliny od 1 do 200 µg/ml. Jako wzorzec wewnętrzny wykorzystany został kwas nikotynowy.

W wyniku przeprowadzonych oznaczeń uzyskano cztery profile uwalniania trygoneliny z minipomp osmotycznych. Nie wykazano różnic w sposobie uwalniania substancji w zależności od sposobu napełniania pompy. Wykazano również, że profil uwalniania jest zgodny z deklarowanym przez producenta, który zapewnia uwalnianie roztworu z szybkością 8 µl/h przez okres 24 godzin. Wykazano również, zgodnie z informacjami dostarczonymi przez producenta, że stabilne uwalnianie rozpoczyna się z opóźnieniem wynoszącym do 5 godzin.

Piśmiennictwo:

- [1] Perkins L, Peer C, and Murphy-Hackley P., “The use of mini-osmotic pumps in continuous infusion studies” w: “*Pre-Clinical Continuous Intravenous Infusion*”, red. Smith & Healing, Taylor and Francis, Londyn.
- [2] Makowska J, Szczesny D, Lichucka A, Gieldoń A, Chmurzyński L, Kaliszan R, “Preliminary studies on trigonelline as potential anti-Alzheimer disease agent: Determination by hydrophilic interaction liquid chromatography and modeling of interactions with beta-amyloid,” *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 968, pp. 101–104, 2014

Kontakt: dszczesny@gumed.edu.pl

## P1-9

### Wpływ aktywności receptora wapniowego na poziom glukozy we krwi i sekrecję insuliny u szczurów

**Aleksandra Marchwińska<sup>1</sup>, Aleksandra Dys<sup>2</sup>, Anna Szczoczarz<sup>1</sup>, Konrad Boblewski<sup>1</sup>, Artur Lehmann<sup>1</sup>, Barbara Lewko<sup>1</sup>, Apolonia Rybczyńska<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Patofizjologii Farmaceutycznej GUMed

<sup>2</sup>Zakład Medycyny Laboratoryjnej GUMed

Receptor wapniowy (CaR) należy do rodziny receptorów sprzężonych z białkiem G, aktywującym fosfolipazę C i bierze udział w regulacji stężenia wapnia w osoczu [1,2]. CaR występuje na powierzchni komórek przytarczyc, ale również komórek innych narządów niezwiązanych z regulacją Ca<sup>2+</sup> w osoczu, takich jak komórki β wysp trzustkowych [3]. Badania *in vitro* na mysich komórkach trzustki linii C57BL/6 wykazały, że kalcymimetyk R-467 zwiększa uwalnianie insuliny z komórek stymulowanych glukozą [4]. Jak dotychczas powyższa obserwacja nie została potwierdzona badaniami *in vivo*. Nie badano również w warunkach *in vivo* wpływu hamowania aktywności CaR na poziom glukozy we krwi i sekrecję insuliny.

Celem przeprowadzonych doświadczeń było zbadanie wpływu antagonisty CaR, kalcylityka NPS 2143, na poziom glukozy i Ca<sup>2+</sup> we krwi oraz insuliny w osoczu u szczurów.

Doświadczenia prowadzono na samcach szczurów Wistar, m.c. 250-280 g, głodzonych przez 14 godzin przed eksperymentem, znieczulanych inaktywną *i.p.* 100 mg/kg m.c.. Zwierzęta podzielono na dwie grupy: badaną i kontrolną. Szczury z grupy badanej otrzymywały jednorazowo dożylnie NPS 2143, rozpuszczany w 15% cyklodekstrynie, w dawce 2mg/kg m.c.. Grupa kontrolna otrzymała 15% roztwór cyklodekstryny w takiej samej objętości. Pomiarów glukozy i Ca<sup>2+</sup> dokonywano 10 minut przed podaniem kalcylityka oraz w 60, 120, 180 i 210 min po podaniu NPS 2143. Próbkę krwi do oznaczeń insuliny były pobierane w tym samym czasie, z wyjątkiem 60 minuty. Poziomy glukozy przed podaniem roztworu cyklodekstryny lub NPS 2143 wynosiły dla grupy kontrolnej 93±1,7 i 88±1,8 dla grupy badanej. Podanie kalcymimetyka spowodowało znaczący przyrost stężenia glukozy o około 18% w 180 i 210 minucie eksperymentu w porównaniu z grupą kontrolną. Ponadto wyniki pomiarów stężenia insuliny w grupie badanej wskazują istotny spadek stężeń o około 18% w 180 minucie eksperymentu. Obniżenie to osiągnęło najniższą wartość w 210 minucie po podaniu związku. Podanie kalcylityka NPS 2143 spowodowało również znaczący wzrost stężenia Ca<sup>2+</sup> we krwi w porównaniu do grupy kontrolnej oraz okresu początkowego. W grupie kontrolnej stężenie Ca<sup>2+</sup> utrzymywało się na stałym, niezmiennym poziomie. Prezentowane wyniki potwierdzają, że aktywność receptora wapniowego może wpływać na poziom glukozy we krwi i sekrecję insuliny. Przedstawione wyniki doświadczeń wykazały po raz pierwszy, że hamowanie aktywności CaR za pomocą kalcylityka NPS 2143, zwiększa stężenie glukozy we krwi oraz obniża sekrecję insuliny u szczurów. Planuje się zbadanie wpływu aktywacji CaR na te parametry.

Piśmiennictwo:

- [1] Brown EM. Extracellular Ca<sup>2+</sup> sensing, regulation of parathyroid function, and role of Ca<sup>2+</sup> and other ions as extracellular (first) messengers. *Physiol Rev* 1991;71:371-411
- [2] Brown EM, Gamba G, Riccardi D, Lombardi M, Butters R, Kifor O, Sun A, Hediger MA, Lytton J, Hebert SC. Cloning and characterization of an extracellular Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature* 1993;366:575-80
- [3] Bruce JI, Yang X, Ferguson CJ, Elliott AC, Steward MC, Case RM, Riccardi D. Molecular and functional identification of Ca<sup>2+</sup> (polyvalent cation)-sensing receptor in rat pancreas. *J Biol Chem* 1999;274(29):20561-8
- [4] Straub SG, Kornreich B, Oswald RE, Nemeth EF, Sharp GW. The calcimimetic R-467 potentiates insulin secretion in pancreatic beta cells by activation of non specific cation channel. *J Biol Chem* 2000;275(25):18777-8

Kontakt: aleksandramar@gumed.edu.pl

## P1-10

### Wpływ wyciągu i eupatoriopikryny wyizolowanej z nadziemnych części sadzka konopiastego (*Eupatorium cannabinum* L.) na pro-zapalne funkcje ludzkich neutrofilii.

**Barbara Michalak<sup>1</sup>, Sebastian Granica<sup>1</sup>, Jakub P. Piwowski<sup>1</sup>, Anna Stojakowska<sup>2</sup>, Hermann Stuppner<sup>3</sup>, Anna K. Kiss<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Katedra Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska

<sup>2</sup>Zakład Fitochemii, Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk, Polska

<sup>3</sup>Zakład Farmakognozji, Uniwersytet w Innsbrucku, Austria

Ziele sadzka konopiastego (*Eupatorium cannabinum* L., Asteraceae) wykazuje działanie przeciwbakteryjne, grzybobójcze, cytostateczne i przeciwzapalne [1, 2]. Ekstrakty z nadziemnych części sadzka są bogatym źródłem laktonów seskwiterpenowych [3], benzofuranów, polisacharydów, flawonoidów [2,4]. W medycynie tradycyjnej ziele sadzka konopiastego, stosowano w leczeniu chorób o podłożu zapalnym, co doprowadziło do hipotezy, że może ono stanowić bogate źródło związków o działaniu przeciwzapalnym [5].

Celem badań była analiza aktywności biologicznej wyciągu oraz eupatoriopikryny, będącej głównym laktonem seskwiterpenowym, poprzez określenie ich wpływu na uwalnianie reaktywnych form tlenu (ROS), enzymu proteolitycznego elastazy, interleukiny 8 (IL-8), czynnika martwicy nowotworu (TNF $\alpha$ ), oraz na ekspresję białka adhezyjnego CD11b/CD18 ludzkich neutrofilii.

Etanolowy ekstrakt w stężeniach 25-100  $\mu\text{g/ml}$  statystycznie znamienne zmniejszył wytwarzanie reaktywnych form tlenu przez stymulowane neutrofile. Wykazano również, iż w stężeniach 25-100  $\mu\text{g/ml}$  ekstrakt moduluje wytwarzanie IL-8 i TNF- $\alpha$ , oraz obniża ekspresję integryny CD11b. Eupatoriopikryna, w stężeniach 0,25-2,5  $\mu\text{M}$  wykazała istotne statystycznie zahamowanie wydzielania ROS, elastazy, IL-8, oraz TNF- $\alpha$ . Związek ten poprzez obniżenie ekspresji białka adhezyjnego na powierzchni neutrofilii, hamował ich przyleganie do śródbłonka naczyniowego. Obserwacja ta jest zgodna z danymi literaturowymi, tłumaczącymi wpływ ekspresji  $\beta 2$  integryn (CD11/CD18) na adhezję neutrofilii do śródbłonka [6]. Aktywność biologiczna eupatoriopikryny była statystycznie znamienne w porównaniu z kwercetyną - kontrolą pozytywną.

Nasze obserwacje wskazują, iż części nadziemne sadzka konopiastego są źródłem związków modulujących pro-zapalne funkcje ludzkich neutrofilii. Ponadto, wyniki przeprowadzonych badań wskazują że eupatoriopikryna jest dobrym kandydatem do dalszych badań nad jej działaniem przeciwzapalnym.

Piśmiennictwo:

- [1] Judzentiene A, Garjonyte R, Budiene J: Variability, toxicity, and antioxidant activity of *Eupatorium cannabinum* (hemp agrimony) essential oils. *Pharmaceutical Biology* 2016, 6, 945–953.
- [2] Chen JJ, Tsai YC, Hwang TL, Wang TC: Thymol, benzofuranoid, and phenylpropanoid derivatives: anti-inflammatory constituents from *Eupatorium cannabinum*. *J Nat Prod* 2011, 74:1021–1027.
- [3] Van Der Linde JCC, Woerdenbag HJ, Malingré TM, Kampinga HH, Konings AWT: Role of membrane lipid composition in the cytotoxicity of the sesquiterpene lactone eupatoriopicrin. *Phytotherapy Research* 2006, 7: 128–133.
- [4] Zhang ML, Wu M, Zhang JJ, Irwin D, Gu YC, Shi QW: Chemical constituents of plants from the genus *Eupatorium*. *Chem Biodivers* 2008, 5:40–55.
- [5] Harada A, Sekido N, Akahoshi T, Wada T, Mukaida N, Matsushima K: Essential involvement of interleukin-8 (IL-8) in acute inflammation. *Journal of Leukocyte Biology* 1994, 56, 559-564.
- [6] Skubitz KM, Skubitz AP.: Interdependency of CEACAM-1, -3, -6, and -8 induced human neutrophil adhesion to endothelial cells. *J. Transl. Med.*, 2008, 6, 78.

Kontakt: barbara.michalak@wum.edu.pl

## P1-11

### Chemoprewencyjne i lecznicze działanie ziół

Marcin Andrzej Kruszewski, Monika Naumowicz

Uniwersytet w Białymstoku, Zakład Elektrochemii

Chemoprewencja jest jedną z coraz częściej stosowanych metod zapobiegania powstawaniu nowotworów polegającą na przyjmowaniu nietoksycznych środków farmakologicznych lub substancji obecnych w pożywieniu, które mogą zatrzymać albo spowolnić proces kancerogenezy, czy też nawet wpłynąć na regresję powstałych już zmian [1]. Pomimo badania wielu związków chemicznych, zarówno syntetycznych jak i naturalnie występujących w przyrodzie, wciąż dąży się do poszukiwania związków lepiej działających – tzn. cechujących się lepszą biodostępnością, działających w niższym stężeniu czy wykazujących mniej skutków ubocznych. Na podstawie badań empirycznych i ocen klinicznych zidentyfikowano wiele związków o charakterze chemoprewencyjnym. Obejmują one: witaminy, składniki mineralne, naturalnie występujące fitochemikalia i związki syntetyczne [2].

Zioła wykorzystywane były w medycynie już w starożytności. Zawierają one związki wpływające na metabolizm człowieka. Wykorzystywane są w ziołolecznictwie, jako przyprawy oraz w aromaterapii. W dzisiejszych czasach bardzo często spotyka się gospodarstwa zielarskie – nastawione wyłącznie na pozyskiwanie i przetwarzanie ziół. Najczęściej stosowanymi ziołami w farmacji są: rumianek, mięta, melisa, aloes, czosnek oraz szalwia. Bardzo często są one wykorzystywane w tradycyjnych dolegliwościach, ale posiadają również znacznie szersze właściwości niż tylko działanie objawowe [3].

Olejek rumianku posiada szerokie właściwości przeciwzapalne. Zawiera on do 50%  $\alpha$ -bisabololu odpowiadającego za właściwości przeciwbakteryjne oraz łagodzące podrażnienia. Jest związkiem silnie liofilowym ze skłonnościami do utleniania. Rumianek stosowany jest tradycyjnie w stanach zapalnych jamy ustnej, rozkurczowo czy w przypadku podrażnienia oczu [4].

Mięta jest chyba najczęściej wykorzystywanym ziołem na świecie. Stosowana jest do produkcji gum do żucia, cukierków, pasty do zębów czy jako przyprawa. Liście mięty mają właściwości antyoksydacyjne, przeciwzapalne oraz antybakteryjne. Bardzo często stosowana jest przy dolegliwościach trawiennych [5].

Melisa lekarska wykazuje właściwości antyproliferacyjne w stosunku do linii komórkowych raka okrężnicy. Ekstrakty z tego zioła wykazują również szerokie właściwości antyoksydacyjne – zapobiegające negatywnym skutkom stresu oksydacyjnego. Olej z czarnuszki ma bardzo korzystne działanie antynowotworowe i przeciwzapalne [6].

Piśmiennictwo:

- [1] J. Szumilo. 2008. *Polski Mercuriusz Lekarski*; 25: 280-283
- [2] R. Patel, R. Garg, S. Erande, G. B. Maru. 2007. *Chemopreventive Herbal Anti-Oxidants: Current Status and Future Perspectives*. J. Clin. Biochem. Nutr. 40: 82–91
- [3] A.A. Cavelius, B. Frohn. 2009: *Zioła w Medycynie Naturalnej. Napary, Kąpiele, Diety*. MAK,
- [4] K.J Waleczek, H.M.Cabral Marques, B.Hempel,P.C Schmidt. 2003: *Phase solubility studies of pure (-)- $\alpha$ -bisabolol and camomile essential oil with  $\beta$ -cyclodextrin*. Eur J Pharm Biopharm 55: 247-251.
- [5] A. Sato,H.Tamura. 2015: *High antiallergic activity of 5,6,4'-trihydroxy-7,8,3'-trimethoxyflavone and 5,6-dihydroxy-7,8,3',4'-tetramethoxyflavone from eau de cologne mint (Mentha piperita citrata)*. Fitoterapia 102: 74-83.
- [6] J. Tavakoli, S. Miar, M. M. Zadehzare, H. Akbari.2012. *Evaluation of Effectiveness of Herbal Medication in Cancer Care: A Review Study*. Iran J Cancer Prev 3: 144-156.

Kontakt: kaligula9@gmail.com

## P1-12

### Chemoprewencyjne właściwości miodu

Marcin Andrzej Kruszewski, Monika Naumowicz

Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno-Chemiczny, Instytut Chemii, Zakład Elektrochemii

Miód jest produktem znanym i cenionym na wszystkich kontynentach. Jego unikalne właściwości i skład powodują iż ma on bardzo duże znaczenie dla organizmu człowieka. Na przestrzeni wieków człowiek coraz bardziej starał się udoskonalić gospodarkę pasieczną, tak aby przynosiła jak najlepsze zbiory. Z biegiem czasu wprowadzał nowe metody i urządzenia mające poprawić funkcjonowanie pasieki. Niewątpliwie bardzo ważnym elementem było wprowadzenie gospodarki wędrownej, która umożliwiła pszczelarzowi maksymalne wykorzystanie pszczół i pożytków [1].

Ze względu na substancję wykorzystywaną przez pszczoły do produkcji miodu można wyróżnić miody nektarowe i spadziowe. Nektar jest słodką wydzieliną nektarników kwiatów. Składa się on z cukrów, substancji lotnych, kwasów tłuszczowych, aminokwasów czy substancji psychoaktywnych. Spadz jest wydzieliną mszyc żerujących na roślinach zbieraną przez pszczoły. W Polsce najczęściej dostępne są miody: wielokwiatowy, rzepakowy, lipowy, mniszkowy, gryczany i wrzosowy. Miody spadziowe pozyskiwane są głównie ze spadzi drzew iglastych oraz w mniejszym stopniu drzew liściastych. Miód ze spadzi iglastej pozyskiwany jest w drugiej połowie lata. Oprócz miodu bardzo cenne właściwości mają również inne produkty pszczele takie jak: pierzga, propolis, mleczko pszczele, jad czy homogenat czerwiu – najmniej znany i bagatelizowany produkt [2].

Od wielu lat prowadzone są badania nad związkami mającymi wpływ na proces powstawania raka – karcynogenezy. Bardzo dużo uwagi poświęca się właściwej diecie czy uprawianiu sportu. Istnieją produkty żywnościowe, które mają właściwości chemoprewencyjne. Do takich produktów należy właśnie miód. Chemoprewencyjne właściwości miodu polegają na hamowaniu lub opóźnieniu rozwoju raka inwazyjnego [3]. Liczne występujące związki biologicznie czynne mają szerokie spektrum działania. Karotenoidy takie jak  $\beta$ -karoten czy ksantofil, znajdujące się w miodzie, odpowiadają nie tylko za jego barwę, ale mają zdolności antyoksydacyjne. W „składzie” miodu wykryto ponad 350 substancji biologicznie aktywnych i lista ta ciągle się powiększa. Obecność większości tych związków nie zależy od odmiany miodu. Jednak coraz częściej więcej uwagi zwraca się na miód manuka. Miód ten pochodzi z Nowej Zelandii i jest zbierany z rośliny o tej samej nazwie. Ma on bardzo silne właściwości antyseptyczne dlatego jest coraz częściej stosowany w medycynie do przyspieszania gojenia się trudnych ran. Znalazł również zastosowanie w leczeniu infekcji antybiotykoopornych oraz jako środek zapobiegający infekcjom pooperacyjnym [2].

Piśmiennictwo:

- [1] Ostrowska W. 1985. *Gospodarka Pasieczna*. Państwowe Wyd Rol i Leś
- [2] Isidorov W.A. 2013. *Alchemia Pszczół Pszczoły i Produkty Pszczele Oczami Chemika*. Sąddecki Bartnik
- [3] E. R. Kasala, L. N. Bodduluru, R. M. Madana, Athira K. V, R. Gogoi, C. C. Barua. 2015. *Chemopreventive and therapeutic potential of chrysin in cancer: mechanistic perspectives*. *Toxicol. Lett.* 233:2 pp. 214-225.

Kontakt: kaligula9@gmail.com

## P1-13

### Zależność pomiędzy stężeniem lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) a efektywnością lipolizy lipoprotein bardzo niskiej gęstości (VLDL) katalizowanej przez lipazę lipoproteinową u chorych z przewlekłą chorobą nerek

**Wieczorek Ewa<sup>1</sup>, Ćwiklińska Agnieszka<sup>1</sup>, Cackowska Monika<sup>2</sup>, Kuchta Agnieszka<sup>1</sup>, Król Ewa<sup>2</sup>, Kortas-Stempak Barbara<sup>1</sup>, Gliwińska Anna<sup>1</sup>, Dąbkowski Kamil<sup>1</sup>, Jankowski Maciej<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Analityki Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych, Gdański Uniwersytet Medyczny

U chorych z przewlekłą chorobą nerek (PChN) charakterystycznym zaburzeniem lipidowym jest hipertriglicerydemia (HTG), zaliczana do niezależnych czynników ryzyka zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych. Rozwój HTG wynika m.in. z zaburzeń osocznego katabolizmu lipoprotein bardzo niskiej gęstości (VLDL), zależnego od lipazy lipoproteinowej (LPL). HTG prowadzi do rozwoju innych zaburzeń lipidowych, w tym do obniżenia stężenia lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) o działaniu przeciwmiażdżycowym [1]. Osoczyowy metabolizm VLDL i HDL jest ze sobą ściśle powiązany, dlatego przypuszcza się, że obniżone stężenie HDL może zwrotnie nasilać rozwój HTG. W poprzednich badaniach wykazaliśmy, że przy wyższych stężeniach TG-VLDL obecność HDL zwiększa wydajność lipolizy VLDL pod wpływem LPL *in vitro* [2]. Celem tej pracy była ocena, czy wpływ HDL na lipolizę VLDL jest zależny od stężenia HDL.

Materiałem badanym była surowica chorych z PChN leczonych zachowawczo w Klinice Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Krew pobierano rano, od chorych będących na czczo. VLDL izolowano z surowicy krwi metodą ultrawierowania. HDL izolowano metodą dwuetapową (I etap: precypitacja lipoprotein zawierających apoB, II etap: ultrawierowanie). VLDL inkubowano z LPL (1 godz., temp. 37°C, stosunek triglicerydów (TG)-VLDL:LPL 90:0,48 mg/dl, albumina 2%), bez lub w obecności wzrastającej ilości HDL (stosunek cholesterolu (CH)-VLDL:CH-HDL 1:0, 1:0,1, 1:0,25, 1:0,5, 1:0,75, 1:1). Po inkubacji VLDL oddzielano od HDL i pozostałych składników mieszaniny reakcyjnej metodą immunoprecypitacji z przeciwciałami anty-apo B, a następnie oznaczano stężenie TG i wyliczano odsetek (%) zhydrolizowanych TG. % zhydrolizowanych TG dla poszczególnych warunków doświadczalnych porównano testem analizy wariancji (ANOVA). Korelacje oceniono za pomocą współczynnika r Pearsona. Znamienność statystyczną ustalono na poziomie  $p < 0,05$ .

Dla prób bez dodatku HDL odsetek zhydrolizowanych TG-VLDL wahał się od 44% do 80% i korelował odwrotnie proporcjonalnie do stężenia TG ( $r = -0,9562$ ,  $p = 0,01$ ). Obecność i stężenie HDL wpływały na wydajność lipolizy VLDL ( $p < 0,0001$ ). Wraz ze wzrostem ilości HDL wzrastał odsetek zhydrolizowanych TG-VLDL ( $r = 0,9833$ ,  $p = 0,0004$ ). Średnie % zhydrolizowanych TG wyniosły 67%, 72%, 74%, 78%, 83% i 85%, odpowiednio dla stosunków CH-VLDL:CH-HDL 1:0, 1:0,1, 1:0,25, 1:0,5, 1:0,75, 1:1. Największy wpływ obecności HDL na wydajność lipolizy, tj. największy wzrost % zhydrolizowanych TG (odpowiednio o 12%, 18%, 41%, 48% i 59% dla wzrastającej ilości HDL) stwierdzono dla próbki o najwyższym stężeniu TG-VLDL.

Uzyskane wyniki wskazują na istnienie zależności pomiędzy stężeniem HDL a efektywnością lipolizy VLDL *in vitro*. Największy efekt obserwuje się przy wysokich stężeniach TG-VLDL. HDL odgrywają ważną rolę w przebiegu lipolizy VLDL, a ich niedobór może być związany z nasilaniem się HTG u chorych z PChN.

Piśmiennictwo:

- [1] Wang X, Belani S, Coyne DW, Fabbrini E, Reeds DN, Patterson BW, et al. Very Low Density Lipoprotein Metabolism in Patients with Chronic Kidney Disease. *Cardiorenal Med.* 2012;2(1):57–65.
- [2] Ćwiklińska A, Cackowska M, Wieczorek E, Kuchta A, Król E, Kortas-Stempak B, et al. HDL enhances the efficiency of lipoprotein lipase (LPL)-mediated VLDL lipolysis in non-dialysed patients with chronic kidney disease. *Cardiology.* 2015;132(1):173-174

Kontakt: e.wieczorek@gumed.edu.pl

## Optimalizacja wymiany przeciwjonu peptydów w roztworach niewodnych

**Karol Sikora, Damian Neubauer, Wojciech Kamysz**

*Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. Hallera 107, 80-416 Gdańsk*

Synteza na nośniku stałym jest powszechnie stosowana do otrzymywania peptydów. Jej wykorzystanie wiąże się z użyciem kwasu trifluorooctowego – zarówno podczas odszczepiania peptydu od żywicy, końcowej deprotekcji oraz oczyszczania chromatograficznego. W efekcie produkt zawiera znaczące ilości trifluorooctanu (TFA<sup>-</sup>). Badania wskazują na znaczną toksyczność soli kwasu trifluorooctowego [1]. W efekcie może on wpływać na wyniki badań biologicznych. W związku z tym, istotne jest to by uwzględnić rodzaj przeciwjonu występującego wraz z peptydem. W świetle powyższych faktów uzasadniona jest wymiana TFA<sup>-</sup> na jon biozgodny. Najczęściej metody wymiany przeciwjonu wykorzystują kilkukrotną liofilizację z wodnego roztworu kwasu, żywicę jonowymienną lub chromatografię w układzie faz odwróconych z odpowiednio dobranym dodatkiem do fazy ruchomej. Wielokrotna liofilizacja z roztworu kwasu solnego jest procedurą czasochłonną, która prowadzi do niecałkowitej wymiany przeciwjonu - TFA<sup>-</sup> [2]. W związku z tym zachodzi potrzeba opracowania nowych metod, które będą charakteryzowały się lepszą wydajnością.

W badaniach przeprowadzono wymianę anionów trifluorooctanowych na jony chlorkowy (Cl<sup>-</sup>) z wykorzystaniem roztworów niewodnych. Do tego celu użyto peptydu - Citropinę 1.1 (GLFDVIKKVASVIGGL-NH<sub>2</sub>). Peptyd zsyntezowany został na nośniku stałym, a następnie oczyszczony przy pomocy HPLC. Czystość oraz tożsamość peptydu potwierdzono przy pomocy analizy HPLC-MS. Przygotowane zostały roztwory chlorowodoru w następujących rozpuszczalnikach: acetonitryl, dichlorometan, izopropanol, metanol, *n*-butanol, *t*-butanol oraz octan etylu. Rozpuszczalniki zostały osuszone przy pomocy sit molekularnych, a następnie nasycone gazowym chlorowodorem, do uzyskania stężenia ok. 2%. Wymianę przeciwjonu w środowiskach niewodnych wykonano poprzez rozpuszczenie peptydu w danym roztworze, a następnie odparowanie do sucha przy pomocy wyparki próżniowej w temperaturze łaźni wodnej nie przekraczającej 45°C. Następnie próbka została dwukrotnie rozpuszczona w wodzie dejonizowanej i zliofilizowana. Metoda odniesienia opierała się na wymianie przy pomocy 0,1 M wodnego roztworu HCl oraz liofilizacji. Procedurę wymiany w poszczególnych rozpuszczalnikach wykonano czterokrotnie, każdorazowo kontrolując stopień wymiany. Analizy zawartości przeciwjonów dokonano przy pomocy chromatografii jonowej (chromatograf Dionex IC-5000+).

Zastosowanie klasycznej metody w środowisku wodnym powodowało stopniową wymianę trifluorooctanów na chlorki do poziomu 96% (4 wymiany). W większości przypadków efektywność wymiany w roztworach niewodnych jest istotnie wyższa i sięga 98% już po pierwszej wymianie, przy czym brak jest znaczących zmian po wykonaniu kolejnych powtórzeń. Najlepsze wyniki uzyskaliśmy dla acetonitrylu, metanolu, izopropanolu, *t*-butanolu i *n*-butanolu. W przypadku dichlorometanu poziom wymiany sięgnął maksymalnie 95%, natomiast w nasyconym metanolu zachodziła estryfikacja peptydu. Zastosowano roztwory niewodne o stosunkowo niskim stężeniu HCl w porównaniu z klasyczną metodą (0,1 M). Pozwala to przypuszczać, że stosowanie odpowiednio dobranego środowiska niewodnego pozwala na zmniejszenie ryzyka degradacji peptydów przy jednocześnie wyższej wydajności wymiany przeciwjonów. Opracowaną metodę cechuje efektywność, prostota wykonania oraz niski nakład pracy.

Praca finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki - Projekt Nr. 2011/03/B/NZ7/00548.

Piśmiennictwo:

- [1] W. Mroziak, A. Markowska, L. Guzik, B. Kraska, and W. Kamysz, "Determination of counter-ions in synthetic peptides by ion chromatography, capillary isotachopheresis and capillary electrophoresis," *J. Pept. Sci.*, **2012**, 18, 192–198.
- [2] S. Roux, E. Zekri, B. Rousseau, M. Paternostre, J. Cintra and N. Fay "Elimination and exchange of trifluoroacetate counter-ion from cationic peptides: a critical evaluation of different approaches" *J. Pept. Sci.* **2008**, 14, 354–359.

Kontakt: karol.sikora@gumed.edu.pl

## Synteza nowych pochodnych 3-amino-*N*-(2-chloroetylo)-1*H*-indazolo-1-karboksyamidu o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej

**Karol Gzella<sup>1</sup>, Anita Kornicka<sup>1</sup>, Franciszek Sączewski<sup>1</sup>, Patrick J. Bednarski<sup>2</sup>, Martyna Korcz<sup>1</sup>, Adam Krzykowski<sup>1</sup>, Michalina Żyłka<sup>1</sup>, Rafał Bartoszewski<sup>3</sup>**

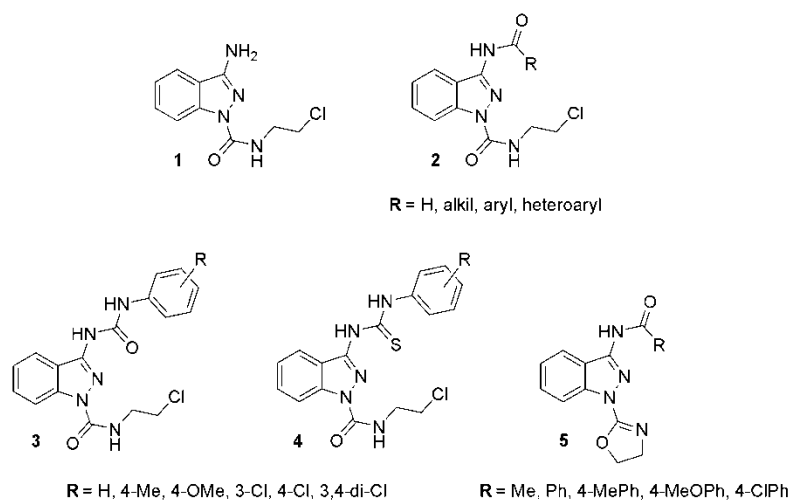
<sup>1</sup>Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Department of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Institute of Pharmacy, University of Greifswald, Germany

<sup>3</sup>Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny

Szacuje się, iż ponad połowa substancji leczniczych posiada w swojej strukturze układ heterocykliczny. Jedną z grup związków, wzbudzającą duże zainteresowanie badaczy zajmujących się poszukiwaniem nowych leków przeciwnowotworowych, są pochodne 3-amino-1*H*-indazolu [1]. Wcześniej opisaliśmy działanie cytotoksyczne pochodnych 3-amino-1-(4,5-dihydrooksazol-2-yl)-1*H*-indazolu, zawierających w pozycji C-3 indazolu ugrupowanie mocznikowe lub tiomocznikowe, wobec linii komórkowych nowotworów ludzkich [2].

Kontynuując badania w tym kierunku, otrzymaliśmy szereg nowych pochodnych 3-amino-1*H*-indazolu **2-5**. Reakcje 3-amino-*N*-(2-chloroetylo)-1*H*-indazolo-1-karboksyamidu (**1**) z odpowiednimi chlorkami kwasów karboksylowych umożliwiły uzyskanie 3-amido-*N*-(2-chloroetylo)-1*H*-indazolo-1-karboksyamidów **2**, natomiast działając izocyjanianami lub izotiocyjanianami aromatycznymi otrzymano odpowiednie pochodne mocznika **3** i tiomocznika **4**. Cyklizacja 3-amido-*N*-(2-chloroetylo)-1*H*-indazolo-1-karboksyamidów **2** w środowisku tetrahydrofuranu w obecności wodoroku sodu prowadziła do wytworzenia produktów o strukturze *N*-[1-(4,5-dihydrooksazol-2-yl)-1*H*-indazol-3-yl]amidów **5**.



Budowę chemiczną otrzymanych związków potwierdzono w oparciu o analizę spektroskopową (IR, NMR i MS), natomiast aktywność cytotoksyczną oceniono względem wybranych linii komórkowych nowotworów ludzkich i keratynocytów.

Piśmiennictwo:

- [1] Menichincheri, M.; Ardini, E.; Magnaghi, P.; Avanzi, N.; *et al.* Discovery of entrectinib: a new 3-aminoindazole as a potent anaplastic lymphoma kinase (ALK), c-ros oncogene 1 kinase (ROS1), and pan-tropomyosin receptor kinases (Pan-TRKs) inhibitor. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 3392-3408.
- [2] Kornicka, A.; Sączewski, F.; Bednarski, P.J.; Korcz, M.; *et al.* Synthesis and preliminary cytotoxicity studies of 1-[1-(4,5-dihydrooksazol-2-yl)-1*H*-indazol-3-yl]-3-phenylurea and 3-phenylthiourea derivatives. Praca wysłana do druku w *Medicinal Chemistry*.

Kontakt: kgzella@gumed.edu.pl



## Ocena aktywności cytotoksycznej nasion *Trigonella foenum-graecum*

Barbara Król-Kogus<sup>1</sup>, Justyna Stefanowicz-Hajduk<sup>2</sup>, Mirosława Krauze-Baranowska<sup>1</sup>, J. Renata Ochocka<sup>2</sup>, Sylwia Godlewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Farmakognozji GUMed

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej

Nasienie kozieradki pospolitej (*Foenugraeci Semen*) stanowi surowiec leczniczy oraz jest składnikiem żywności. Dotychczas aktywność cytotoksyczną wyciągów z nasion kozieradki badano wobec szeregu linii komórkowych [4], jakkolwiek nie prowadzono badań nad korelacją obserwowanego efektu cytotoksycznego a profilem dominujących metabolitów wtórnych - C-glikozyloflawonów i saponin steroidowych. Spośród obecnych w nasionach kozieradki związków czynnych jedynie niektóre były badane w zakresie aktywności przeciwnowotworowej [1-3].

Cel pracy stanowiła ocena aktywności cytotoksycznej różnych wyciągów i frakcji z *Foenugraeci Semen* oraz niektórych C-glikozydów flawonowych oraz saponin steroidowych wobec linii komórek nowotworowych HeLa, SKOV-3 i MOLT-4, na tle składu chemicznego badanych wyciągów i frakcji. Do badań otrzymano wyciąg wodno-alkoholowy (A), wodny (B) oraz frakcję wyciągu metanolowego z nasion kozieradki (D). Analizę jakościową i ilościową związków czynnych w otrzymanych ekstraktach prowadzono z użyciem opracowanych, zwalidowanych metod 1D- i 2D HPLC, w sprzężeniu z detektorami DAD, ELSD i MS. Natomiast w ocenie aktywności cytotoksycznej wyciągów i frakcji zastosowano test MTT oraz system RealTimeXCELLigence (RTCA).

Najwyższą zawartością C-glikozyloflawonów oraz saponin steroidowych charakteryzowała się frakcja wyciągu metanolowego z nasion kozieradki (D) (823,68 µg/mg oraz 163,182 µg/mg, odpowiednio), dla której wykazano najsilniejszą aktywność cytotoksyczną wobec wszystkich badanych linii komórek nowotworowych. Wraz ze spadkiem zawartości obydwu dwóch grup związków, w tym szczególnie saponin steroidowych, w ekstraktach A i B odnotowano słabszy efekt cytotoksyczny. W mechanizmie obserwowanej aktywności przeciwnowotworowej frakcji D wykazano stymulację procesu apoptozym. in. poprzez wzrost aktywności kaspaz3 i 7, zmianę potencjału mitochondrialnego oraz wzrost poziomu wolnych rodników (ROS) i nasilenie stresu oksydacyjnego. Badane saponiny steroidowe wykazywały znacznie silniejszą aktywność cytotoksyczną w porównaniu do C-glikozydów flawonowych, które uwzględniając wytyczne NCI uznano w rezultacie za nieaktywne (oznaczone wartości IC<sub>50</sub>>20-30 µg/ml). Najsilniejszym działaniem cytotoksycznym wobec badanych linii komórkowych charakteryzowała się jamogenina (IC<sub>50</sub> wobec linii HeLa 16,5 µg -MTT, 19,6 µg RTCA, IC<sub>50</sub> wobec linii SKOV-3 16,5 µg -MTT, 23,9 µg RTCA) są to pierwsze dane o aktywności cytotoksycznej tego związku.

Piśmiennictwo:

- [1] An F, Wang S, Tian Q, Zhu D (2015) Effects of orientin and vitexin from *Trollius chinensis* on the growth and apoptosis of esophageal cancer EC-109 cells. *Oncol. Lett.* 10:2627-2633
- [2] Hu K, Yao X (2002) Protodioscin (NSC-698 796): Its spectrum of cytotoxicity against sixty human cancer cell lines in an anticancer drug screen panel. *Planta Med.* 68:297-301
- [3] Lee CY, Chien YS, Chiu TH, Huang WW, Lu CC, Chiang JH, Yang JS (2012) Apoptosis triggered by vitexin in U937 human leukemia cells via a mitochondrial signaling pathway. *Oncol. Rep.* 28:1883-1888
- [4] Shabbeer S, Sobolewski M, Anchoori RK, Kachhap S, Davidson N, Carducci MA, Khan SR (2009) Fenugreek a naturally occurring edible spice as an anticancer agent. *Canc. Biol. Ther.* 8:268-274

Kontakt: basia.m.krol@gumed.edu.pl

## Aktywność przeciwdrobnoustrojowa *Foenugraeci Semen*

Barbara Król-Kogus<sup>1</sup>, Rafał Hałasa<sup>2</sup>, Mirosława Krauze-Baranowska<sup>1</sup>, Marianna Bienias<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Farmakognozji GUMed

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej

Nasienie kozieradki pospolitej stanowi surowiec leczniczy, stosowany pomocniczo w terapii choroby wrzodowej żołądka ze względu na wysoką zawartość polisacharydów, tworzących wokół niszy wrzodowej warstwę ochronną [3]. Jedną z głównych przyczyn choroby wrzodowej żołądka oraz czynnikiem etiologicznym nowotworu żołądka jest *Helicobacter pylori* [1, 2].

Aktywność przeciwbakteryjną wyciągów z nasion kozieradki analizowano wobec 7 szczepów bakterii Gram(-): *Helicobacter pylori* ATCC 43504, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella enteritica* ATCC 13076, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Proteus vulgaris* NCTC 4635, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9077 oraz 1 szczepu bakterii Gram(+): *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Wstępne badania wykazały najsilniejszą aktywność przeciwko *Helicobacter pylori*. Dlatego w zakresie aktywności hamującej wzrost tej bakterii analizowano pojedyncze związki z grupy C-glikozydów flawonowych (witeksynę, izowiteksynę, orientynę, wiceninę-2 i wiceninę-3) oraz sapogenin steroidowych (diosgeninę, sarsasapogeninę i tigogeninę) jako związków nasion kozieradki. Aktywność przeciwdrobnoustrojową analizowano metodą seryjnych rozcieńczeń substancji w płynnych podłożach hodowlanych. Spośród badanych C-glikozydów flawonowych najsilniejszą aktywność bakteriobójczą wobec *H. pylori* wykazała witeksyna (MBC 0,03 mg/ml) obok sapogenin steroidowych: tigogeniny i sarsasapogeniny – MBC 0,0625 mg/ml oraz diosgeniny – MBC 0,125 mg/ml. Natomiast orientyna ujawniła działanie bakteriostatyczne wobec *H. pylori* w stężeniu 4-krotnie wyższym w porównaniu do witeksyny (MIC 0,125 mg/ml). Otrzymane wyniki stanowią pierwsze doniesienia o aktywności przeciwbakteryjnej sapogenin steroidowych (jamo geniny, tigogeniny i diosgeniny) oraz witeksyny wobec *Helicobacter pylori*.

Spośród badanych wyciągów najsilniejszym działaniem hamującym wzrost *H. pylori* charakteryzował się wyciąg 70% metanolu (A) (MIC 0,27 mg/ml) o najwyższej zawartości C-glikozydów flawonowych oraz saponin steroidowych -  $113,368 \pm 0,09 \mu\text{g}$  oraz  $135,157 \pm 4,74 \mu\text{g}$ , odpowiednio. Zawartość C-glikozyloflawonów oraz saponin steroidowych oznaczono metodami 1D i 2D HPLC. Znacznie słabszy wpływ hamujący wzrost patogenu wykazywał wyciąg metanolowy (MIC 12,5 mg/ml). Natomiast wyciąg wodny o najniższej zawartości badanych związków był nieaktywny.

Piśmiennictwo:

- [1] Bessède E, Staedel C, Acuña Amador LA, Nguyen PH, Chambonnier L, Hatakeyama M, Belleannée G, Mégraud F, Varon C (2014) *Helicobacter pylori* generates cells with cancer stem cell properties via epithelial-mesenchymal transition-like changes. *Oncogene* 33:4123-4131
- [2] Graham DY (1997) *Helicobacter pylori* infection in the pathogenesis of duodenal ulcer and gastric cancer: A model. *Gastroenterology* 113:1983-1991
- [3] Suja Pandian R, Anuradha CV, Viswanathan P (2002) Gastroprotective effect of fenugreek seeds (*Trigonella foenum graecum*) on experimental gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 81:393-397

Kontakt: basia.m.krol@gumed.edu.pl

## P1-18

### Analiza TLC flawanonów w *Populi gemmae*

**Loretta Pobłocka-Olech, Piotr Migas, Mirosława Krauze-Baranowska**

*Katedra i Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Hallera 107, 80-416 Gdańsk,*

Topole (*Populus*) są szeroko rozpowszechnionymi drzewami w strefie klimatu umiarkowanego. Pąki (*gemmae*) obok liści (*folium*) oraz kory (*cortex*) są surowcami wykorzystywanymi w leczeniu stanów zapalnych skóry, guzków krwawniczych i chorób reumatycznych, ze względu na właściwości przeciwzapalne, przeciwbakteryjne i moczopędne [1,2]. Pąki topól stanowią bogate źródło rzadko występujących w świecie roślinnym flawanonów (pinocembryna, pinostrobin) i flawonów (chryzyna, tektochryzyna, genkwanina) [2]. Skład chemiczny surowca może znacznie różnić się pomiędzy poszczególnymi taksonami topoli [3]. W Polsce surowcem leczniczym są pąki topoli czarnej *Populus nigra*, ale ze względu na malejącą populację gatunku istnieje konieczność poszukiwania innych źródeł surowca bogatego w związki flawonoidowe.

Celem pracy było opracowanie warunków analizy jakościowej związków flawonoidowych metodą chromatografii cienkowarstwowej (TLC) oraz oznaczania pinocembryny i pinostrobin z wykorzystaniem analizy densytometrycznej i wideo-densytometrycznej w materiale roślinnym pochodzącym z różnych gatunków i odmian topoli występujących w Polsce. Optymalizację układu chromatograficznego prowadzono w zakresie doboru rodzaju adsorbentu, składu fazy ruchomej, warunków kondycjonowania oraz detekcji. Opracowaną metodę TLC zwalidowano dla celów analizy ilościowej.

W rezultacie mieszaninę 17 substancji wzorcowych spośród aglikonów flawonoidowych, mianowicie 6 flawonów: apigeniny, luteoliny, genkwaniny, chryzyny, dimetylowego eteru chryzyny, tektochryzyny, 6 flawonoli: galanginy, izoramnetyny, kemferolu, kwercetyny, myricetyny, 5 flawanonów: eriodykcjolu, naryngeniny, pinocembryny, pinostrobin, dimetylowego eteru pinocembryny i 1 flawanonolu: pinobanksyny rozdzielano na żelu krzemionkowym TLC Si 60 stosując fazę ruchomą będącą mieszaniną heksanu, octanu etylu i kwasu mrówkowego (60:40:1,3, v/v/v). Analizę zawartości flawanonów - pinocembryny i pinostrobin prowadzono przed i po wywołaniu 2%  $AlCl_3$  otrzymanych chromatogramów.

Badaniom poddano materiał roślinny pochodzący z trzech naturalnie występujących w Polsce gatunków z rodzaju *Populus* i ośmiu taksonów introdukowanych do flory naszego kraju.

W rezultacie przeprowadzonych badań potwierdzono brak obecności analizowanych związków flawonoidowych w ekstraktach z pąków *Populus alba*, *P. tremula* i *P. lasiocarpa*. W pozostałych surowcach obserwowano występowanie obu flawanonów w zróżnicowanych stężeniach, wśród których najwyższą zawartością obu oznaczanych związków wyróżniały się pąki topoli berlińskiej *Populus berolinensis*.

Piśmiennictwo:

- [1] Matławska I. Farmakognozja, Akademia Medyczna w Poznaniu, Poznań 2006.
- [2] Bradley P.R. British Herbal Compendium. Vol.1, British Herbal Medicine Association, Bournemouth, 1992.
- [3] Bertrams J., Müller M.B., Kunz N., Kammerer D.R., Stintzing F.C. 2013, Phenolic Compounds for Botanical Origin Determination of German Propolis Samples Based on TLC and TLC-MS, Journal of Applied Botany and Food Quality 86, 143-153.

Kontakt: loretta@gumed.edu.pl

## P1-19

### Ocena właściwości przeciwzapalnych wyciągów z *Populi gemmae*

Loretta Poblócka-Olech<sup>1</sup>, Iwona Inkielewicz-Stępnia<sup>2</sup>, Mirosława Krauze-Baranowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roslin Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Hallera 107, 80-416 Gdańsk,

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Chemii Medycznej, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębinki 1, 80-211 Gdańsk

Pąki topoli (*Populi gemmae*) są surowcem roślinnym o działaniu przeciwbakteryjnym, antyoksydacyjnym i przeciwzapalnym [1]. Aktywność przeciwzapalna wynika z obniżania poziomu prozapalnych czynników: IL-6, IL-10, iNOS, COX-2 i MCP-1 [2]. W badaniach *in vitro* wpływu nanocząstek srebra na komórki ludzkich fibroblastów dziąseł (HGF-1) wykazano działanie indukujące procesy zapalne poprzez wzrost reaktywnych form tlenu i czynników prozapalnych [3]. Nanocząstki srebra ze względu na właściwości przeciwbakteryjne są coraz powszechniej stosowane w zabiegach stomatologicznych i preparatach do higieny jamy ustnej m.in., jako składniki past do zębów [3]. W związku z powyższym podjęto badania nad efektem ochronnym wyciągów z pąków topoli oraz izolowanych flawanonów – pinocembryny i pinostrobinę wobec komórek fibroblastów dziąseł poddanych ekspozycji na nanocząstki srebra.

Badania prowadzono na linii ludzkich fibroblastów dziąseł HGF-1 stymulowanych prozapalnie nanocząstkami srebra, które inkubowano w obecności wyciągów z pąków topoli berlińskiej *Populus berolinensis*, topoli wielkolistnej *P. lasiocarpa* i topoli czarnej *P. nigra* oraz związków flawonoidowych charakteryzujących *Populi gemmae* – pinocembryny i pinostrobinę. W badanych ekstraktach kontrolowano obecność związków flawonoidowych metodą TLC. Wykazano obecność obu flawanonów w pąkach z *Populus berolinensis* i *P. nigra* oraz stwierdzono ich brak w materiale z *P. lasiocarpa*.

W badaniu aktywności przeciwzapalnej analizowano zmiany poziomu interleukin IL-6 i IL-1 $\beta$  z użyciem testu ELISA oraz ekspresję genów IL-6 i IL-1 $\beta$  metodą PCR w czasie rzeczywistym. Poziom białka cyklooksygenazy COX-2 w komórkach linii ludzkich fibroblastów dziąseł oznaczano stosując metodę Western blot. Wyniki zaprezentowano, jako średnią  $\pm$  SD z 3-4 niezależnych eksperymentów. Analizę statystyczną przeprowadzono wykorzystując test post-hoc Tukeya.

W rezultacie przeprowadzonych eksperymentów wykazano istotne statystycznie obniżenie poziomu prozapalnych cytokin IL-6 i IL-1 $\beta$  w obecności pinocembryny i pinostrobinę oraz wyciągów z *Populi berolinensis gemmae* i *P. nigrae gemmae* o wysokiej zawartości związków flawonoidowych.

Natomiast obniżenie COX-2 na poziomie białka w komórkach HGF-1 wywołanego obecnością nanocząstek srebra, obserwowano stosując pinocembrynę oraz wyższe stężenia pinostrobinę i wyciąg z pąków *Populus berolinensis*.

Wyniki badań dowodzą, że wyciągi z pąków topoli o wysokiej zawartości związków flawonoidowych wykazują działanie ochronne wobec ludzkich komórek fibroblastów dziąseł ekspozowanych na działanie nanocząstek srebra o aktywności prozapalnej.

Piśmiennictwo:

- [1] Bradley P.R. British Herbal Compendium. Vol.1, British Herbal Medicine Association, Bournemouth, 1992.
- [2] Wang K., Zhang J., Ping S., Ma Q., Chen X., Xuan H., Shi J., Zhang C., Hu F. 2014, Anti-inflammatory Effects of Ethanol Extracts of Chinese Propolis and Buds from Poplar (*Populus×canadensis*), Journal of Ethnopharmacology 155, 300-311.
- [3] Inkielewicz-Stępnia I., Santos-Martinez M.J., Medina C., Radomski M.W. (2014): Pharmacological and toxicological effects of co-exposure of human gingival fibroblasts to silver nanoparticles and sodium fluoride, Int. J. Nanomed. 9: 1677-1687.

Kontakt: loreta@gumed.edu.pl

## P1-20

### Farmakoterapia monitorowana w polskich laboratoriach uczestniczących w programie zewnętrznej oceny jakości Labquality i badaniu ankietowym

**Robert Kowalski<sup>1</sup>, Mateusz Gnitecki<sup>1</sup>, Marcin Lizakowski<sup>1</sup>, Barbara Kortas-Stempak<sup>2</sup>, Agnieszka Ćwiklińska<sup>2</sup>, Gabriela Bednarczuk<sup>3</sup>, Aleksandra Fijałkowska<sup>3</sup>, Krzysztof Lewandowski<sup>1</sup>, Mirosława Szczepańska-Konkel<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Zakład Terapii Monitorowanej i Farmakogenetyki, Katedra Analityki Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny*

<sup>2</sup>*Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Analityki Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny*

<sup>3</sup>*Systemy Oceny Wiarygodności Analiz Medycznych Sowa-Med., Gdańsk*

Podstawą farmakoterapii monitorowanej jest wiarygodne oznaczenie stężenia leku we krwi. Jednym z elementów zapewniania wysokiej jakości wyników badań laboratoryjnych jest udział laboratoriów w programach zewnętrznej oceny jakości (External Quality Assessment, EQA). Celem pracy była analiza udziału polskich medycznych laboratoriów diagnostycznych w sprawdzianach z obszaru farmakoterapii monitorowanej.

W pracy określono, jaki był udział polskich laboratoriów w 20 kolejnych międzynarodowych sprawdzianach EQA organizowanych przez Labquality Finlandia w latach 2011-2015 oraz jaki był profil leków poddawanych ocenie. Badanie uzupełniono o wyniki ankiety przeprowadzonej wśród polskich uczestników sprawdzianu nr 2/2016.

W latach 2011-2015 w sprawdzianach EQA Labquality wzięło udział 38 polskich laboratoriów. Dwa laboratoria wzięły udział we wszystkich analizowanych sprawdzianach, 8 laboratoriów, w co najmniej połowie. Zdecydowana większość (21 laboratoriów) uczestniczyła w maksymalnie 4 sprawdzianach. W kolejnych latach liczba polskich uczestników utrzymywała się na względnie stałym poziomie: 21 w 2011 roku, 19 w 2012, 16 w 2013, 18 w 2014 i 24 w 2015. Badane laboratoria uczestniczyły w kontroli jakości oznaczeń dla 15 substancji leczniczych. Najwięcej laboratoriów uczestniczyło w ocenie jakości oznaczeń: karbamazepiny (34 laboratoria), kwasu walproinowego (30), digoksyny (25), wankomycyny (18), paracetamolu (14) i teofiliny (14). Najmniej (2 laboratoria) przeprowadzało kontrolę jakości oznaczeń amikacyny. Mimo dostępności w ofercie Labquality, żadne z polskich laboratoriów nie uczestniczyło w ocenie jakości oznaczeń amitryptyliny, etosuksymidu, nortryptyliny, prymidonu, chinidyny, tobramycyny, lidokainy, dizopiramidu i netylmycyny.

Spośród 22 ankiet wysłanych do polskich uczestników sprawdzianu 2/2016, otrzymano 13 wypełnionych. W 62% ankietowanych laboratoriach oznaczenia stężenia leków są wykonywane od ponad 10 lat, w 23% od 2 do 5 lat, w 15% krócej niż rok. Laboratorium o najszerszym zakresie ocenianych substancji leczniczych analizuje 17 substancji. W 16% laboratoriów wykonuje się ponad 200 oznaczeń z zakresu terapii monitorowanej tygodniowo, w 9% – między 100 a 200, w 25% – 51-100 a w 50% – poniżej 50. W siedmiu laboratoriach (53%) zadeklarowano systematyczny wzrost liczby zleceń na oznaczenie stężenia leków.

Przeprowadzona analiza wskazuje, że polskie laboratoria biorą udział w programie zewnętrznej oceny jakości oznaczeń stężenia leków, jednak ich liczba, jak również zakres oznaczanych substancji nie uległa w ostatnich 5 latach znaczącym zmianom.

Kontakt: rkowalski@gumed.edu.pl

## P1-21

### Wpływ urolityn na komórki hormonozależnego raka prostaty linii LNCaP

Iwona J. Stanisławska, Jakub P. Piwowski, Sebastian Granica, Anna K. Kiss

Katedra Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

Nowotwory gruczołu krokowego należą do najczęstszych chorób nowotworowych u mężczyzn w Polsce [1]. Przetwory uzyskane z substancji roślinnych bogatych w elagotanoidy np. owoców granatu wykazują działanie przeciwnowotworowe w badaniach *in vitro* [2] oraz części badań klinicznych [3]. Słabo przyswajalne po podaniu doustnym elagotanoidy są przekształcane przez mikroflorę jelitową do biodostępnych pochodnych dibenzo- $\alpha$ -pironu – urolityn [4]. Celem naszych badań było określenie wpływu urolityn na komórki hormonozależnego raka prostaty na modelu linii LNCaP.

Komórki linii LNCaP hodowano w obecności urolityn A, B i C (10 - 40  $\mu$ M, 72h). Proliferację komórek określono metodą spektrofotometryczną z użyciem barwnika Hoechst 33258. Apoptozę mierzono metodą cytometrii przepływowej po wyznakowaniu komórek jodkiem propidyny i aneksyną V – FITC. Wydzielanie antygenu specyficznego prostaty (PSA) oznaczono z użyciem zestawu PSA total ELISA. Interakcje ze stosowanym klinicznie inhibitorem receptora androgenowego, bikalutamidem, określono metodą indeksu kombinacji (CI) Chou i Talaly [5].

Wszystkie badane urolityny w sposób zależny od dawki ograniczały proliferację komórek nowotworu prostaty LNCaP. Najsilniejszą aktywność wykazywała urolityna A ( $IC_{50}=32,6\pm 2,7\mu M$ ), a najsłabszą urolityna C ( $IC_{50}=45,5\pm 3,7\mu M$ ). Metabolity elagotanoidów indukowały apoptozę komórek LNCaP. Urolityna A była najbardziej aktywna, wywołując w stężeniu 40  $\mu$ M apoptozę u 23,5 $\pm$ 0,69% komórek ( $p<0,001$ ). Stymulowane dihydrotestosteronem wydzielanie PSA było obniżone przez inkubację z urolityną A i urolityną C w stężeniu 40  $\mu$ M o odpowiednio 43,1 $\pm$ 3,3 oraz 19,0 $\pm$ 5,7% ( $p<0,05$ ). Ponadto w połączeniu z bikalutamidem urolityna A i urolityna B addytywnie ograniczały proliferację komórek nowotworowych. Urolityna C miała działanie antagonistyczne w kombinacji z niesteroidowym antyandrogenem.

Uzyskane wyniki sugerują, że urolityny mogą odgrywać rolę w chemoprewencyjnym działaniu preparatów zawierających związki garbnikowe wobec nowotworów prostaty. Ponadto, powstające w jelicie grubym metabolity mogą potencjalnie wpływać na przebieg chemoterapii.

Piśmiennictwo:

1. Wojciechowska U., Didkowska J. Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie. Dostępne na stronie: <http://onkologia.org.pl/raporty> dostęp z dnia 09.11.2016.
2. Syed D.N., Khan N., Afaq F., Mukhtar H. Chemoprevention of prostate cancer through dietary agents: progress and promise. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16: 2193-2203.
3. Pantuck A.J., Leppert J.T., Zomorodian N., Aronson W., Hong J., J.R. Barnard, Seeram N., Liker H., Wang H., Elashoff R., Heber D., Aviram M., Ignarro L., Beldegrun A. Phase II study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12(13): 4018-4026.
4. Espin JC, Larrosa M, Garcia-Conesa MT, Tomas-Barberan F. Biological significance of urolithins, the gut microbial ellagic acid-derived metabolites: the evidence so far. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: Article Number 270418
5. Chou T.C. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacol Rev* 2006; 58: 621–681.

Kontakt: [istanislawski@wum.edu.pl](mailto:istanislawski@wum.edu.pl)

## Analiza dystrybucji subpopulacji lipoprotein bogatych w triglicerydy metodą izotachoforezy kapilarnej u chorych z przewlekłą chorobą nerek leczonych zachowawczo

**Agnieszka Ćwiklińska<sup>1</sup>, Robert Kowalski<sup>2</sup>, Monika Cackowska<sup>3</sup>, Ewa Wieczorek<sup>1</sup>, Ewa Król<sup>3</sup>, Agnieszka Kuchta<sup>1</sup>, Barbara Kortas-Stempak<sup>1</sup>, Kamil Dąbkowski<sup>1</sup>, Anna Gliwińska<sup>1</sup>, Mirosława Szczepańska-Konkel<sup>2</sup>, Maciej Jankowski<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Zakład Chemii Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Zakład Terapii Monitorowanej i Farmakogenetyki, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup>Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

W przewlekłej chorobie nerek (PChN) charakterystycznym zaburzeniem lipidowym jest hipertriglicydemia, związana z zaburzeniami metabolizmu lipoprotein bogatych w triglicerydy (TRL), do których zalicza się chylomikrony (CHM), lipoproteiny bardzo niskiej gęstości (VLDL) oraz remnanty CHM i VLDL. Celem pracy była analiza dystrybucji TRL metodą izotachoforezy kapilarnej (CITP) i ocena jej związku ze stężeniem triglicerydów (TG) w surowicy u chorych z PChN.

W badaniu wykorzystano krew żylną uzyskaną od 18 chorych na PChN, pacjentów Poradni Nefrologicznej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego (UCK) w Gdańsku, leczonych zachowawczo. Krew pobierano rano, na czczo, do próbek na skrzep. Surowicę przechowywano w temp. -80°C. Przed analizą próbki surowicy barwiono na obecność lipidów (1% czerń sudanowa, 2:1 v/v). Analizę subpopulacji lipoprotein przeprowadzono metodą CITP wg procedury Schmitza [1] z modyfikacją własną. Wykorzystano: aparat P/ACE MDQ (Beckman Coulter); kapilare krzemionkową (180 µm ID, 360 µm OD, długość efektywna 30 cm) powlekaną dichlorodimetylosilanem; bufor wiodący: H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 5 mM, 0,25% HPMC, ammediol, pH 9,0; bufor kończący: walina 100 mM, ammediol pH 9,2. Barwioną próbkę surowicy mieszano z buforem wiodącym i substancjami rozdzielającymi (Gly-gly, Ala-gly, Val-gly, Gly-his, seryna, glutamina, metionina, histydyna, glicyna, 3-metyl-L-histydyna, pseudourydyna; 0,6 mg/ml) w stosunku 1:3:2 (v/v), nanoszono na kolumnę (0,5 psi, 30 s) i rozdzielano (-18 kV, 20 min, 15°C). Detekcję przeprowadzono spektrofotometrycznie (λ=570 nm). Zastosowaną metodą CITP lipoproteiny surowicy rozdzielano na 11 subpopulacji (pików), z których pik nr 6-8 odpowiadały subpopulacjom TRL. Stężenie TG w surowicy oznaczono za pomocą metody enzymatycznej z odczytem spektrofotometrycznym. Normalność rozkładu cechy oceniono testem Shapiro-Wilka. Korelację oceniono za pomocą współczynnika r Spearmana. Znamienność statystyczną przyjęto na poziomie p<0,05.

Mediana stężenia TG w surowicy wyniosła 124 mg/dL (min-max 48-350 mg/dL). Wraz ze wzrostem stężenia TG wzrastała powierzchnia pików subpopulacji TRL (nr 6-8). Współczynniki korelacji wyniosły odpowiednio: r=0,8514 (p<0,0001), r=0,7936 (p<0,0001) i r=0,5439 (p=0,0196). Zmianom stężenia TG w surowicy towarzyszyły zmiany w procentowym udziale pola powierzchni poszczególnych pików: wraz ze wzrostem stężenia TG wzrastał procentowy udział powierzchni pików 6 (r=0,6698, p=0,0024) i malał procentowy udział powierzchni pików 8 (r=-0,5088, p=0,031). Nie stwierdzono związku między stężeniem TG a procentowym udziałem powierzchni pików 7 (r=-0,096, p=0,7).

Przeprowadzona analiza wykazała, że wzrost stężenia TG u chorych z PChN leczonych zachowawczo jest związany ze wzrostem ilości cząstek wszystkich subpopulacji TRL oraz ze zmianą ich dystrybucji, tj. zwiększeniem udziału TRL o większej ruchliwości (pik 6) i zmniejszeniem udziału TRL o mniejszej ruchliwości (pik 8).

Piśmiennictwo:

- [1] Schmitz G., Möllers C. Analysis of lipoproteins with analytical capillary isotachopheresis. *Electrophoresis* 1994;15:31-39.

Kontakt: acwik@gumed.edu.pl

## Wykorzystanie mikroskopii holograficznej do obrazowania efektu aplikacji na skórę siloksanów o strukturze liniowej oraz cyklicznej.

**Katarzyna Szymkowska<sup>1</sup>, Dominika Krenczkowska<sup>1</sup>, Krystyna Mojsiewicz- Pieńkowska<sup>1</sup>, Ewa Stachowska<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Zakład Metrologii i Systemów Pomiarowych, Instytut Technologii Mechanicznej, Politechnika Poznańska

Siloksany o strukturze liniowej oraz cyklicznej (silikony) należą do grupy związków krzemooorganicznych. Ze względu na swoje zalety, takie jak: wysoka stabilność chemiczna, zapobieganie utracie wody przez skórę poprzez działanie okluzyjne, powodowanie uczucia aksamitnej miękkości skóry są częstym składnikiem preparatów kosmetycznych, a także farmaceutycznych od ponad 60 lat. Siloksany, a zwłaszcza lotne metylosiloksany wykorzystywane są najczęściej jako substancje pomocnicze [1]. Powinny one nadawać pożądane właściwości formulacji, ale nie powinny destrukcyjnie oddziaływać ze strukturami skóry. Generalnie siloksany uważane są jako związki chemiczne obojętne biologicznie, co gwarantuje bezpieczeństwo ich stosowania. Jednakże analizując ich budowę chemiczną i właściwości fizykochemiczne (np. masy cząsteczkowe poniżej 500 Da oraz logP poniżej 5) można stwierdzić, iż mogą one penetrować *stratum corneum* (SC).

Celem badań była ocena możliwości penetracji *stratum corneum* przez niskocząsteczkowe siloksany: liniowy oktametylotrisiloksan L3 (237 Da, logP 4,21) oraz cykliczny dekametylocyklopentasiloksan D5 (297 Da, logP 4,45), jak również obserwacja ewentualnych interakcji z lipidami oraz korneocytami *stratum corneum*. Badania przeprowadzono przez 24 h w warunkach *ex vivo* na podstawie wytycznych WHO i OECD przy użyciu komory typu Franz. W badaniach skóry ludzkiej po raz pierwszy wykorzystano cyfrowy transmisyjny mikroskop holograficzny DHM.

Na podstawie porównania obrazów próbek kontrolnych (po aplikacji wody) i badanych (po aplikacji siloksanów) stwierdzono, iż najbardziej uwidocznione są różnice w obrazach fazowych. Można zaobserwować, że w przypadku próbek po aplikacji H<sub>2</sub>O struktura SC jest jednorodna. Natomiast na obrazach prób badanych w strukturze SC widoczne są ciemne przestrzenie, które wskazują na zaburzenie warstwy rogowej naskórka. Siloksan ze względu na właściwości lipofilowe penetruje SC drogą transepidermalną przez macierz lipidową powodując ekstrakcję lipidów. Zaburzenie uporządkowanej, zwartej struktury SC w konsekwencji prowadzi do zapadania się korneocytów i tworzenia specyficznych wgłębień, widocznych na obrazach jako ciemne przestrzenie. Obrazy 3D oraz ilościowe dane z pomiarów dostarczają informacji na temat wielkości tego zjawiska. Różnice widoczne na powierzchni warstwy potwierdzają zapadanie się korneocytów. W przypadku obrazów kontrolnych obserwowane są regularne korneocyty o średnim wymiarze szerokości 20 μm, i grubości około 1000 nm (1 μm). Natomiast w przypadku prób badanych nie ma wyraźnie wyodrębnionych struktur możliwych do pomiarów, co jest potwierdzeniem występowania zjawiska zniszczenia macierzy lipidowej oraz zapadnięcia korneocytów. Stwierdzono, że stosowanie siloksanów wpływa na utratę barierowości skóry ludzkiej. Badania wykazały, iż mikroskopia holograficzna jest przydatną metodą w ocenie zmian strukturalnych warstwy rogowej skóry po aplikacji niskocząsteczkowych siloksanów. Dostarcza ona wielu informacji ze względu na uzyskanie obrazów 3D z objętości pojedynczego zarejestrowanego obrazu, jak również ilościowy kontrast obrazu (quantitative imaging contrast).

Piśmiennictwo:

- [1] Biesterbos J. W. H., Beckmann G., van Wel L., Anzion R. B. M., von Goetz N., Dudzina T., Roeleveld N., Ragas A. M. J., Russel F. G. M., and Scheepers P. T. J. "Aggregate dermal exposure to cyclic siloxanes in personal care products: Implications for risk assessment," *Environ. Int.*, 2015, 74, 231–239.
- [2] Rappaz B., Depeursinge Ch., Marquet P. *Digital Holographic Microscopy (DHM) for Measuring Biophysical Parameters of Living Cells. Biomedical Optical Phase Microscopy and Nanoscopy*, 2013, 71-95, ISBN: 978-0-12-415871-9.

Kontakt: kasia.szym@gumed.edu.pl



## Badania preformulacyjne nad stałą postacią leku z wykorzystaniem uporządkowanych mezoporowatych materiałów krzemionkowych SBA-15

**Adrian Szewczyk, Magdalena Prokopowicz, Wiesław Sawicki**

*Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny GUMed, Hallera 107, 80-416 Gdańsk*

Badania na etapie preformulacji wiążą wiadomości uzyskane podczas określania właściwości fizykochemicznych związków aktywnych i substancji pomocniczych z procesem technologicznym wytwarzania postaci leku. Przeprowadzane są w skali laboratoryjnej, w możliwie jak najkrótszym czasie.

Głównym celem niniejszej pracy było przeprowadzenie badań preformulacyjnych związanych z otrzymaniem stałych postaci leku (proszków i peletek) z mezoporowatego materiału krzemionkowego SBA-15. Istotą badań było wstępne określenie potencjału aplikacyjnego otrzymanych proszków i peletek jako nośników dla rozpuszczalnych w wodzie substancji leczniczych. Modelową substancją leczniczą był antybiotyk – sól sodowa cefazoliny (cef-Na).

Syntezę mezoporowatego materiału krzemionkowego SBA-15 przeprowadzono zgodnie z procedurą opisaną przez *Zhao i współpr.* metodą zol-żel, z użyciem Pluronic P123 jako czynnika porotwórczego [1]. Modyfikację powierzchni grupami aminowymi otrzymanych materiałów SBA-15 przeprowadzono metodą graftingu z użyciem (3-aminopropylo)trimetoksyilanu jako czynnika modyfikującego. Efektywność syntezy i modyfikacji powierzchni określono w oparciu o analizę widm w podczerwieni (FTIR). Adsorpcję cef-Na na powierzchni materiałów krzemionkowych o niemodyfikowanej i zmodyfikowanej grupami aminowymi powierzchni przeprowadzono metodą adsorpcji z roztworu. Wydajność adsorpcji oraz dostępność farmaceutyczną zbadano wykorzystując spektroskopię UV-Vis (przy 271 nm długości fali analitycznej dla cef-Na). Peletki wytwarzano metodą sferonizacji i ekstruzji przy użyciu wielofunkcyjnego aparatu do granulacji, ekstruzji i sferonizacji w skali laboratoryjnej - Caleva Multi Lab. Peletyzacja miała na celu otrzymanie nierozpuszczalnych w wodzie peletek z antybiotykiem - cef-Na, które mogłyby pełnić rolę potencjalnych biomateriałów stosowanych w infekcjach bakteryjnych tkanki kostnej. Zbadano możliwość peletyzacji otrzymanych materiałów krzemionkowych SBA-15 oraz SBA-NH<sub>2</sub> z zaadsorbowaną cef-Na.

Modyfikacja powierzchni materiałów krzemionkowych SBA-15 grupami aminowymi zwiększyła 6-krotnie ilość zaadsorbowanej cef-Na w porównaniu do wyjściowego materiału SBA-15. W przeprowadzonym badaniu dostępności farmaceutycznej wyjściowy materiał krzemionkowy SBA-15 uwalniał całą dawkę zaadsorbowanej cef-Na w ciągu pierwszych 6 h badania, podczas gdy uwalnianie antybiotyku z materiału krzemionkowego SBA-NH<sub>2</sub> przydłużyło się do 7 dni.

Otrzymane materiały krzemionkowe nie nadawały się do bezpośredniej ekstruzji i sferonizacji. Niezbędne okazało się dodanie substancji pomocniczych: wypełniających, wiążących, poślizgowych i antyadhezyjnych. Użyto celulozę mikrokrystaliczną oraz etylocelulozę jako substancje wypełniające, 5 i 10% roztwory etanolowe (96%) PVP K30 jako lepiszcze. Za substancję zwilżającą posłużył polidimetylosiloksan (PDMS) o lepkości 25 cSt, dodawany do roztworu lepiszcza. Stearynian magnezu zastosowano jako substancję poślizgową.

Podsumowując, metoda ekstruzji i sferonizacji umożliwiła peletyzację fizycznej mieszaniny proszków materiałów krzemionkowych SBA-15 z substancjami pomocniczymi - w rezultacie otrzymano peletki o sferycznym, cylindrycznym lub nieregularnym kształcie.

Piśmiennictwo:

- [1] Zhao, D.; Huo, Q.; Feng, J.; Chmelka, B.F.; Nonionic Triblock and Star Diblock Copolymer and Oligomeric Surfactant Syntheses of Highly Ordered, Mesoporous Silica Structures, *J. Am. Chem. Soc.* 120, 6024-6036 (1998).

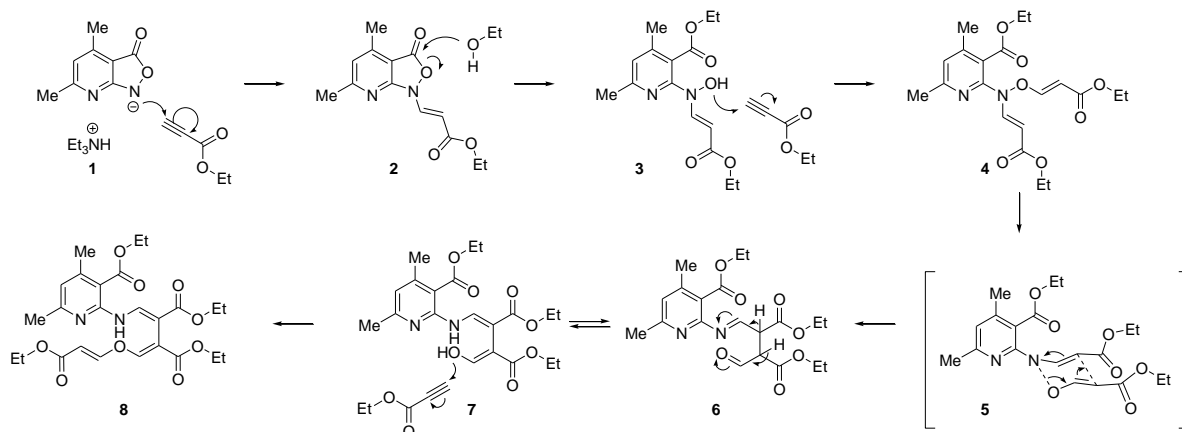
Kontakt: [adrian\\_szewczyk@gumed.edu.pl](mailto:adrian_szewczyk@gumed.edu.pl)

## Badania mechanizmu przegrupowania [3,3]-sigmatropowego z zastosowaniem kwantowo-chemicznych metod modelowania cząsteczkowego.

**Paulina Wiśniewska<sup>1</sup>, Emilia Sieniawska<sup>1</sup>, Justyna Rzewnicka<sup>1</sup>, Joanna Fedorowicz<sup>1</sup>, Jarosław Sączewski<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>SKN „Heterocyklika”, Kiz Chemii Organicznej, Wydział Farmaceutyczny z OML, GUMed

Układy heterocykliczne izoksazolo[3,4-*b*]chinolin-3(1*H*)-onu oraz izoksazolo[3,4-*b*]pirydyn-3(1*H*)-onu posiadają po dwa ambidentne nukleofilowe atomy azotu mogące, w zależności od warunków reakcji, zamiennie ulegać procesom alkirowania i acylowania [1,2]. Pochodne *N*1-alkilowe izoksazolonu w zasadowym środowisku reakcji mogą być poddawane procesom dwucząsteczkowej hydrolizy zasadowej, zgodnie z mechanizmem BAC2, z wytworzeniem produktów posiadających ugrupowania estrowe i hydroksyloaminowe. Ponadto przeprowadzone dotychczas badania wskazują, że pochodne izoksazolonu reagują z odczynnikami alkiłującymi i acylującymi zgodnie z teorią orbitali granicznych, a więc pełnią one role donatorów w reakcjach typu aza-Michaela. O-arylooksymy i O-winylo-N-fenylohydroksylaminy mogą służyć do syntezy pochodnych odpowiednio benzofuranów [3] i indoli [4] w wyniku przegrupowania Cope'a. Izoksazolo[3,4-*b*]chinolin-3(1*H*)-on oraz izoksazolo[3,4-*b*]pirydyn-3(1*H*)-on (**1**) w reakcji katalizowanej zasadą reagują z propionianami dając addukty aza-Michaela (**2**), które ulegają alkoholizacji zasadowej z rozerwaniem wiązania C-O. Powstałe *N*-winylohydroksylaminy (**3**) reagują z kolejną cząsteczką propionianu z utworzeniem *O,N*-diwinylowych pochodnych (**4**), które ulegają przegrupowaniu 1-aza-1'-oksy Cope'a (**5, 6**). Struktury produktów addycji aza-Michaela i przegrupowania hetero-Cope'a (**8**) potwierdzono analizą rentgenograficzną, a mechanizm przegrupowania [3,3]-sigmatropowego zbadano z zastosowaniem kwantowo-chemicznych metod modelowania cząsteczkowego DFT.



Piśmiennictwo:

- [1] J. Sączewski et al. *Tetrahedron* 2015, 71, 8975-8984.
- [2] J. Sączewski et al. *Heterocycl. Commun.* 2014, 20, 215–223.
- [3] P. Martin, *Helv. Chim. Acta* 67, 1647.
- [4] A.J. Castellino et al., *J. Org. Chem.* 1984, 49, 4399.

Kontakt: heterocyklika@gumed.edu.pl

## Wpływ 12-tygodniowego treningu nordic walking na wybrane parametry równowagi oksydacyjno-redukcyjnej i profil lipidowy u kobiet powyżej 60 roku życia.

A. Kuchta<sup>1</sup>, S. Labudda<sup>1</sup>, J. Kortas<sup>2</sup>, Ka. Prusik<sup>2</sup>, K. Prusik<sup>2</sup>, A. Gmiąt<sup>3</sup>, E. Ziemann<sup>3</sup>, K. Dąbkowski<sup>1</sup>, E. Wieczorek<sup>1</sup>, A. Ćwiklińska<sup>1</sup>, J. Antosiewicz<sup>3</sup>, M. Jankowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Analityki Klinicznej; Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> Wydział Turystyki i Rekreacji; Akademia Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku

<sup>3</sup> Wydział Wychowania Fizycznego; Akademia Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku

Wysiłek fizyczny, zależnie od regularności i intensywności wykonywanych ćwiczeń, może mieć różnokierunkowy wpływ na równowagę oksydacyjno-redukcyjną. W trakcie trwania pojedynczego treningu najczęściej obserwowany jest wzrost produkcji wolnych rodników, związany z nasileniem metabolizmu tlenowego. Jednocześnie jednak odpowiednio dobrana, regularna aktywność fizyczna może indukować procesy adaptacyjne polegające na zwiększeniu stężenia niskocząsteczkowych antyoksydantów i enzymów antyoksydacyjnych. Jest to szczególnie ważne dla osób starszych, ponieważ wraz z wiekiem obserwuje się zaburzenie równowagi oksydacyjno-redukcyjnej, co obok występowania tradycyjnych czynników ryzyka może mieć istotny wpływ na rozwój chorób sercowo-naczyniowych.

Celem prezentowanej pracy była ocena wpływu 12-tygodniowego treningu nordic walking o umiarkowanej intensywności na wybrane parametry równowagi oksydacyjno-redukcyjnej i profil lipidowy u kobiet powyżej 60 roku życia.

W badaniu wzięło udział 35 kobiet, w wieku od 60 do 81 lat, które pod opieką pracowników Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku przez trzy miesiące (3 razy w tygodniu) brały udział w treningu nordic walking. Przed rozpoczęciem treningu oraz po jego zakończeniu u wszystkich uczestników przeprowadzono ocenę sprawności fizycznej przy pomocy testu Fullertona. Dodatkowo wykonano analizę składu ciała z wykorzystaniem metody bioimpedancji elektrycznej, oceniono profil lipidowy, zbadano aktywność paraoksonazy-1, stopień utlenienia lipidów, na podstawie stężenia TBARS (ang. Thiobarbituric Acid Reactive Substances) oraz stężenie zaawansowanych produktów utlenienia białek (ang. Advanced Oxidation Protein Products-AOPP). Testem FRAP (ang. Ferric Reducing Ability of Plasma) zmierzono zdolność osocza do redukcji jonów żelaza (III).

Pod wpływem 12-tygodniowego treningu, stwierdzono statystycznie istotną poprawę sprawności fizycznej uczestników badania oraz znamienne spadki stężenia TBARS i AOPP (średnio o 10%,  $p=0,01$  i o 12%,  $p=0,012$  odpowiednio). Dodatkowo zaobserwowano wzrost stężenia cholesterolu HDL (średnio o 7%,  $p<0,001$ ). Nie wykazano natomiast wpływu aktywności fizycznej na potencjał antyoksydacyjny osocza, mierzony przy pomocy testu FRAP i aktywność paraoksonazy-1. Nie zauważono także znamienych zmian w pozostałych parametrach profilu lipidowego.

Regularny trening nordic walking o umiarkowanej intensywności korzystnie wpływa na profil lipidowy i parametry opisujące równowagę oksydacyjno-redukcyjną, co potwierdza słuszność rekomendowania regularnego treningu nordic walking u kobiet powyżej 60 roku życia.

Kontakt: agakuchta@gumed.edu.pl

## P1-27

### Deksametazon i angiotensyna II modulują migrację komórek podocytnych

Tomasz Kowalik<sup>1</sup>, Aleksandra Dulińska<sup>1</sup>, Barbara Lewko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Patofizjologii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Podocyty są wysoce zróżnicowanymi trzewnymi komórkami nabłonkowymi kłębuszków nerkowych, odpowiadającymi za prawidłowe funkcjonowanie bariery filtracyjnej nerek. Połączone z sobą wyrostki podocytów szczelnie pokrywają powierzchnię kłębuszków, zapobiegając przedostawaniu się białka do moczu. W dojrzałym ustroju podocyty nie proliferują, więc uszkodzenie i utrata tych komórek może prowadzić do schyłkowej niewydolności nerek. Zdolność podocytów do migracji pozwala na zachowanie szczelności bariery filtracyjnej, natomiast zmiany ich fenotypu migracyjnego są jednym z podstawowych patomechanizmów białkomoczu [1]. Angiotensyna II oraz glikokortykosterydy należą do głównych hormonów modulujących wydalanie białka z moczem.

Celem pracy była ocena wpływu angiotensyny II (Ang II) i deksametazonu (DEX) na zdolność podocytów do migracji *in vitro*.

Doświadczenia przeprowadzono przy użyciu nieśmiertelnej linii mysich komórek podocytnych transfekowanych genem ludzkiego receptora AT1 (Prof. H. Pavenstaedt, Muenster, Niemcy). Komórki namnażano w temperaturze 33°C, w pożywce RPMI1640 zawierającej 10% płodową surowicę cielęcą oraz genetyczną. Po uzyskaniu konfluencji podocyty przesiewano na płytki hodowlane, które umieszczano w temperaturze 37 °C w celu zróżnicowania. Po 2 tygodniach w monowarstwie komórek wykonywano rysę sterylną końcówką do pipet, po czym wymieniano pożywkę na DMSO z dodatkiem 1 μM Ang II, 1 μM DEX lub obu tych hormonów jednocześnie. Po 48 godzinach utrwalano komórki paraformaldehydem, wybarwiano 0,1% roztworem fioletu krystalicznego i wykonywano zdjęcia preparatów pod mikroskopem. Wielkość migracji oceniano licząc komórki, które pojawiły się w uprzednio wykonanej rysie. Wytyczony obszar liczenia był identyczny dla wszystkich preparatów.

Na podstawie uzyskanych obrazów zaobserwowano, że w porównaniu do komórek kontrolnych, inkubowanych bez dodatku hormonów, w obecności Ang II podocyty wyraźnie zwiększają zdolność do migracji (49,5 vs. 15,5 komórek. Średnia z 2 doświadczeń). DEX wywierał odwrotny wpływ, hamując spontaniczną migrację podocytów (9,5 vs. 15,5 komórek). DEX hamował też migrację komórek stymulowaną przez AngII.

Powyższe wyniki pozwalają przypuszczać, że w przypadku białkomoczu związanego z aktywacją układu renina-angiotensyna, deksametazon może przeciwdziałać temu zjawisku poprzez hamowanie migracji podocytów i zachowanie szczelności bariery filtracyjnej kłębuszków nerkowych.

Piśmiennictwo

- [1] Greka A, Mundel P: Cell Biology and Pathology of Podocytes. *Annu Rev Physiol.* 2012; 74: 299–323 .

Kontakt: blew@gumed.edu.pl

## Ocena stopnia oksydatywnej *in vitro* modyfikacji lipoprotein o niskiej gęstości z zastosowaniem techniki rozdzielania elektroforetycznego na żelu agarozowym (AGE) oraz izotachoforezy kapilarnej (CITP)

**K. Dąbkowski<sup>1</sup>, R. Kowalski<sup>2</sup>, A. Ćwiklińska<sup>1</sup>, A. Mickiewicz<sup>3</sup>, A. Kuchta<sup>1</sup>, B. Kortas-Stempak<sup>1</sup>, A. Gliwińska<sup>1</sup>, M. Fijałkowski<sup>3</sup>, M. Gruchała<sup>3</sup>, E. Wieczorek<sup>1</sup>, M. Jankowski<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Analityki Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Zakład Terapii Monitorowanej i Farmakogenetyki, Katedra Analityki Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup>I Katedra i Klinika Kardiologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

**Wprowadzenie:** Lipoproteiny o niskiej gęstości (LDL) w wyniku ich oksydatywnej modyfikacji – utlenione LDL (oxLDL) - stają się istotnym czynnikiem patogenetycznym zmian miażdżycowych. Utlenianie kwasów tłuszczowych cząstek LDL powoduje powstawanie aldehydów m.in. dialdehyd malonowy, które w wyniku nieenzymatycznej reakcji z grupami aminowymi aminokwasów białek strukturalnych cząstek LDL, głównie apolipoproteiny B-100, zwiększają ładunek ujemny cząstek i ich ruchliwość w polu elektrycznym [1].

**Cel pracy:** Określenie możliwości zastosowania metod AGE i CITP w analizie stopnia utlenienia LDL.

**Materialy i metody:** Frakcję LDL izolowano metodą ultrawirowania sekwencyjnego ( $d=1,006-1,063$  g/ml) z płynu uzyskanego po aferezie LDL pacjentki chorej na hipercholesterolemię rodzinną. Utlenianie LDL (1 mg/ml) przeprowadzano w buforze PBS przy pomocy  $\text{CuSO}_4$  (5  $\mu\text{M}$ ) w temperaturze 37°C. Rozdział elektroforetyczny na żelu agarozowym prowadzono przy stałym napięciu 50V przez 90 minut (SEBIA hydrigel 7 lipoprotein(e)). Analizę metodą izotachoforezy kapilarnej (Beckman Coulter P/ACE™ MDQ) przeprowadzano przy -18 kV, przez 20 min, 15°C z barwieniem czernią sudanu i detekcją przy  $\lambda=570$  nm [2]. Białko całkowite oznaczano przy pomocy zmodyfikowanej metody Lowry'ego.

**Wyniki:** W metodzie AGE, stwierdzono występowanie proporcjonalnej zależności pomiędzy długością czasu oksydacji cząstek LDL a względnym współczynnikiem ruchliwości elektroforetycznej (0h natywne LDL-0,233; 12h oxLDL-0,391; 24h oxLDL-0,724). W przypadku analizy ox-LDL metodą CITP uzyskano sygnał w postaci 7 pików o średnich czasach migracji [min] 10,7; 10,9; 11,2; 11,4; 11,5; 11,7; 12,1). Dokonano analizy wielkości pól powierzchni pików dla różnych czasów oksydacji LDL. Najbardziej charakterystyczne zmiany uzyskano dla pików nr 3 i 5: dla pików nr 3: 0h-4k, 12h-449k, 24h-495k; pik nr 5: 0h-1587k, 12h-645k, 24h-417k). Podobne wyniki uzyskano dla analizy wysokości pików oraz procentowych zmian ich pola powierzchni.

**Wnioski:** Metoda AGE pozwala na ocenę stopnia utlenienia LDL poprzez analizę wzrostu współczynnika ruchliwości elektroforetycznej w proporcjonalnej zależności od czasu oksydacji. Technika CITP umożliwia analizę zmian wielkości sygnału pomiędzy poszczególnymi pikami rozdzielania, gdzie zaobserwowano, że wraz ze wzrostem stopnia utlenienia LDL, dochodzi do redystrybucji sygnału frakcji z pików o dłuższym czasie migracji w kierunku pików o krótszym czasie migracji.

Piśmiennictwo

- [1] S. Parthasarathy, A. Raghavamenon, M. O. Garelnabi, and N. Santanam, "Oxidized Low-Density Lipoprotein," in *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), vol. 610, 2010, pp. 403–417.
- [2] G. Schmitz and C. Möllers, "Analysis of lipoproteins with analytical capillary isotachopheresis," *Electrophoresis*, vol. 15, no. 1, pp. 31–39, 1994.

Kontakt: kamildabkowski@gumed.edu.pl

**P1-29**

## **The creation of phytomedications on the basis of herbal plants of South Kazakhstan**

**Ordabayeva Saule<sup>1</sup>, Arystanova Tanagul<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Professor, doctor of pharmacy, Department of pharmaceutical and toxicological chemistry. South Kazakhstan State Pharmaceutical Academy, Shymkent, Kazakhstan*

*<sup>2</sup>Professor, doctor of pharmacy, Department of pharmaceutical disciplines, Medical University of Astana, Astana, Kazakhstan*

The work is devoted to the results of research to create drugs based on plant raw materials of South Kazakhstan. Research aimed at creating a combination of drugs based on a combination of licorice root components with synthetic drugs, as well as for new drug substances by chemical modification of Licorice root components and Artemisia cina and development on their basis of drugs with directed pharmacological action.

Contact: ordabaeva@mail.ru

## P2-1

### Wpływ wiązania jonów Cu(II) na aktywność biologiczną polimyksyny B

**Agnieszka Matera-Witkiewicz<sup>a\*</sup>, Monika Oleksy<sup>b</sup>, Elżbieta Łodyga-Chruścińska<sup>c</sup>**

<sup>a</sup> Pracownia Prześiewowych Testów Aktywności Biologicznej i Gromadzenia Materiału Biologicznego, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Borowska 211A, 50556 Wrocław

<sup>b</sup> Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Borowska 211A, 50556 Wrocław

<sup>c</sup> Zespół Chemii Bionieorganicznej i Analizy Środowiska, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, Stefanowskiego, 90924 Łódź

Jednym z najpoważniejszych problemów zdrowia publicznego i współczesnej medycyny jest ekspansja opornych na antybiotyki szczepów kluczowych bakterii chorobotwórczych. Tempo narastania problemu lekooporności w ostatnich latach jest przerażające, co stawia wiele strategicznych pytań o charakterze klinicznym, epidemiologicznym, a także społeczno-ekonomicznym i politycznym [1]. Bezpieczeństwo pacjenta jest coraz mniejsze ze względu na często nieskuteczną terapię i dodatkowe działania niepożądane antybiotyków, a także zwiększoną śmiertelność z powodu zakażeń. Co więcej, brak jest antybiotyków w II i III fazie badań klinicznych, które mogłyby być skuteczne w leczeniu tych zakażeń, przez co nie należy się spodziewać nowego leku w ciągu najbliższych 10 lat. Stąd pomysł, aby wspierać także badania znanych już antybiotyków w kierunku ich modyfikacji, ulepszenia oraz nowych zastosowań [2,3].

Zgodnie z regulacjami Komisji Europejskiej oraz rezolucją Światowej Organizacji Zdrowia zostały określone cztery podstawowe obszary spójnej i zintegrowanej aktywności. Jedną z nich jest wspieranie działań i programów badawczych w celu poszukiwania nowych leków p/drobnoustrojowych, innowacyjnych produktów i alternatywnych metod terapii oraz profilaktyki zakażeń i chorób zakaźnych. Ma to pozwolić na prowadzenie zwiększonej ilości prac badawczych, a zarazem stworzy większe szanse na nowe rezultaty w zakresie badań, których efektem będzie opracowanie nowych struktur substancji p/bakteryjnych oraz poznanie nowych miejsc docelowych w komórkach drobnoustrojów i mechanizmów oddziaływania. Rozprzestrzenianie się na szeroką skalę wielolekoopornych drobnoustrojów (MDR) tj.: *E. coli*, *K. pneumoniae* i inne *Enterobacteriaceae* (NDM i KPC), które nabyły oporność na antybiotyki z grupy karbapenemów, uważanych dotąd za antybiotyki ostatniej szansy w leczeniu poważnych infekcji wywołanych tymi bakteriami to sygnał alarmujący [4]. KPC stanowią najniebezpieczniejszy z dotychczas opisanych mechanizmów oporności bakterii chorobotwórczych na leki.

Szczepy te, odporne na praktycznie wszystkie dostępne antybiotyki, wykazują jeszcze jedynie wrażliwość na polimyksyny (polimyksynę B, kolistynę) oraz tygecyklinę. Jednakże problemem stosowania polimyksyn jest ich znacząca toksyczność (szczególnie nefrotoksyczność) [5]. Dlatego właśnie postanowiliśmy podjąć się zadania poszukiwania nowych rozwiązań w oparciu o istniejące już „stare” antybiotyki, które wykazują silne działanie przeciwbakteryjne. Dzięki przeprowadzeniu szerokiego spektrum badań strukturalnych i biologicznych mamy szereg wyników, które dają podstawę do postawienia tezy, iż polimyksyna B:

- (1) efektywnie wiąże jony Cu(II), tworząc trwale kompleksy;
- (2) polimyksyna B jak i jej kompleksy z Cu(II) potrafią interkalować do CT-DNA, a wartości stałych wygaszania oraz wiązania są porównywalne z powszechnie znanymi interkalatorami (jak bromek etydyny);
- (3) kompleksy polimyksyny B z jonami Cu(II) mają działanie przeciwbakteryjne zarówno na szczepy ATCC, jaki i kliniczne MDR;
- (4) kompleks polimyksyna-Cu(II) nie wykazuje działania cytotoksycznego na liniach prawidłowych.

Piśmiennictwo:

- [1] Paitan Y., Ron E.Z., Antimicrobials, Springer, ISBN 978-3-642-39967, (2014), 29
- [2] <http://ecdc.europa.eu>; Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014, Publisher 17.Nov.2015
- [3] WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, ISBN 978 92 4 156494 6
- [4] Genilloud O., Vicente F., Antimicrobials, Springer, ISBN 978-3-642-39967, (2014), 327
- [5] Vaara M., Antimicrobials, Springer, ISBN 978-3-642-39967, (2014), 159

**Kontakt:** agnieszka.matera-witkiewicz@umed.wroc.pl

## P2-2

### Ocena właściwości metabolicznych potencjalnych kandydatów na leki

**Mariusz Belka, Szymon Ulenberg, Piotr Kawczak, Joanna Zielińska, Tomasz Bączek**

*Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny*

Proces opracowania nowego leku jest długotrwały i kosztowny. Jedną z głównych składowych sukcesu nowego kandydata na lek jest jego wielokierunkowa ocena na wczesnym przedklinicznym etapie jego rozwoju. Substancja będąca dobrym kandydatem na lek powinna charakteryzować się dobrą aktywnością, korzystnymi właściwościami fizykochemicznymi, takimi jak rozpuszczalność i lipofilowość, a także trwałością, zarówno wobec czynników środowiskowych, jak i ludzkiego enzymatycznego systemu ochrony przed ksenobiotykami [1].

W Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej prowadzone są badania obejmujące dwa aspekty przedklinicznej oceny potencjalnych kandydatów na leki. Pierwszy z nich obejmuje udoskonalanie metodologii badania stabilności metabolicznej, w tym sposobu przeprowadzania eksperymentu enzymatycznego, jak również etapu analitycznego, który opiera się na technice chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Badanie stabilności metabolicznej, w zależności od typu eksperymentu, może posłużyć ilościowej ocenie stabilności poprzez wyznaczenie metabolicznego czasu półtrwania *in vitro*, bądź też próbę identyfikacji struktur powstających metabolitów, a tym samym określenie części cząsteczki podatnej na reakcje metaboliczne. Drugi kierunek badań obejmuje próby opracowywania matematycznych modeli z wykorzystaniem modelowania molekularnego i chemometrycznych metod analizy danych, które mogłyby posłużyć do oceny stabilności metabolicznej, a także innych właściwości kandydatów na leki *in silico*, to znaczy bez konieczności syntezy tych związków [2,3].

W trakcie prezentacji zaprezentowane zostaną wyniki badania stabilności metabolicznej pochodnych z grupy arylopiperazyny o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu depresji i stanów lękowych. W szczególności przedstawione zostaną różnice w podatności na metabolizm w dwu grupach tych pochodnych różniących się strukturą chemiczną.

Piśmiennictwo:

- [1] Belka M, Bączek T, The Metabolism of Anticancer Drugs by the Liver: Current Approaches to the Drug Development Process. *Curr Drug Metab.* 2015;16(7):506-21.
- [2] Belka M, Hewelt-Belka W, Sławiński J, Bączek T., Mass spectrometry based identification of geometric isomers during metabolic stability study of a new cytotoxic sulfonamide derivatives supported by quantitative structure-retention relationships. *PLoS One.* 2014 Jun 3;9(6):e98096.
- [3] Ulenberg S, Belka M, Król M, Herold F, Hewelt-Belka W, Kot-Wasik A, Bączek T., Prediction of overall in vitro microsomal stability of drug candidates based on molecular modeling and support vector machines. Case study of novel arylopiperazines derivatives. *PLoS One.* 2015 Mar 31;10(3):e0122772.

Kontakt: mariusz.belka@gumed.edu.pl



## P2-3

# Wpływ miRNA\*\*\* na regulację szlaku odpowiedzi na niezwinięte białka (UPR)

Lejnowski Dawid<sup>1</sup>, Kochan-Jamroz Kinga<sup>1</sup>, Bartoszewska Sylwia<sup>2</sup>, Rafał Bartoszewski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny.*

<sup>2</sup>*Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny.*

Stres komórkowy spowodowany odkładaniem się w retikulum endoplazmatycznym (ER), nieprawidłowo zwiniętych białek prowadzi do aktywacji szlaku odpowiedzi na niezwinięte białka (*Unfolded Protein Response*) [1]. UPR w ramach swej funkcji adaptacyjnej, umożliwia przetrwanie przez komórki niekorzystnych warunków zapobiegając apoptozie i przywracając homeostazę ER (poprzez zwiększenie jego pojemności oraz zmniejszenie napływu nieprawidłowo zwiniętych białek do tego organelum) [2]. Jeśli UPR nie może przywrócić prawidłowego funkcjonowania ER (np. podczas długotrwałej ekspozycji na stres), to kieruje komórki do apoptozy (funkcja apoptyczna). Prowadząca do aktywacji UPR akumulacja niezwiniętych białek w ER często wynika z zaburzeń procesów: zwijania białek, degradacji proteasomalnej i transportu białek z ER. [1][2].

Stres ER towarzyszy wielu patologiom człowieka takim jak m. in. schorzenia neurodegeneracyjne, nowotwory czy schorzenia układu oddechowego. Zrozumienie epigenetycznych mechanizmów molekularnych UPR celem ich kontroli mogłoby być więc podstawą nowych terapii. [1][3].

Jednym z epigenetycznych mechanizmów kontroli UPR są microRNA - niekodujące RNA, które wykazują zdolność do selektywnej redukcji ekspresji wybranych genów na poziomie post transkrypcyjnym. Poprzez kontrolę ilości białek translatowanych z obecnych w komórce transkryptów, te krótkie RNA umożliwiają dynamiczną modulację przebiegu procesów komórkowych [4][5].

Zidentyfikowaliśmy miRNA\*\*\*, jako kluczowe dla utrzymania homeostazy ludzkiego retikulum endoplazmatycznego. Wyniki moich badań wskazują że, miRNA\*\*\* reguluje intensywność transportu białek między aparatem Golgiego, endosomami a retikulum endoplazmatycznym. Zidentyfikowaliśmy również sekwencje docelowe dla tego miRNA w obrębie transkryptów genów RAB6A i RPL27A. Wyniki wskazują więc że miRNA\*\*\* moduluje transport z ER zmieniając ilość białek Rab6A i Rpl27a. Co więcej wykazałem że zmieniając poziom miRNA\*\*\* można znosić stres ER wywołany zaburzeniami transportu z tego organelum.

Piśmiennictwo:

- [1] Bartoszewska S. et al. Regulation of the Unfolded Protein Response by microRNAs. Cellular and Molecular Biology Letters 18 (2013) 555-578.
- [2] Schroder M. and Kaufman R.J. ER stress and the unfolded protein response. Mutat. Res. 569 (2005) 29-63.
- [3] Ferrara N. et al. The emerging role of microRNAs in Alzheimer's disease. Front Physiol. (6) 2016.
- [4] Hollien J. and Weissman J.S. Decay of endoplasmic reticulum-localized mRNAs during the unfolded protein response. Science 313 (2006) 104-107.
- [5] Treiber T. et al. Regulation of microRNA biogenesis and function. Thromb. Haemost. 107 (2012) 605-610.

Kontakt: dawlejno@gumed.edu.pl

## Wpływ kwasów bosweliowych na aktywność przeciwdrobnoustrojową ludzkiej katelicydyny - LL-37

**Dorian Migoń<sup>1</sup>, Wojciech Kamysz<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>SKN przy Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny.

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny.

Olibanum to żywica pozyskiwana z drzew rodzaju kadzidłowiec (*Boswellia*) charakterystyczna dla medycyny ludowej Indii oraz krajów arabskich. Ze względu na swoje właściwości znajduje ona zastosowanie między innymi w leczeniu chorób reumatycznych, nieswoistego zapalenia jelit czy astmy oskrzelowej. Główne biologicznie aktywne składniki żywicy to kwasy bosweliowe - związki o budowie pięciopierścieniowych triterpenów [1]. Pomimo licznych propozycji mechanizmu działania przeciwzapalnego tych cząsteczek, ich dokładny profil farmakologiczny nie jest do końca poznany. Jednym z możliwych celów molekularnych kwasów bosweliowych jest LL-37, endogenny peptyd przeciwdrobnoustrojowy o właściwościach immunomodulujących, który dodatkowo odgrywa rolę w patogenezie chorób autoimmunologicznych. Na bazie testu LAL wykazano, że kwas 3-O-acetylo-11-keto-β-bosweliowy wiąże się z LL-37 hamując jego zdolność wiązania lipopolisacharydu. Zjawisko to może mieć znaczenie także w przypadku innych aktywności ludzkiej katelicydyny LL-37 [2].

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu kwasów bosweliowych na aktywność przeciwdrobnoustrojową LL-37. W tym celu zsyntezowano LL-37 metodą na nośniku stałym w metodologii Fmoc/tBu, a następnie oczyszczono za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej w układzie faz odwróconych (RP-HPLC). Kwas 3-O-acetylo-11-keto-β-bosweliowy i kwas 11-keto-β-bosweliowy otrzymano poprzez ekstrakcję olibanum metanolem, liofilizację ekstraktu, a następnie oczyszczenie liofilizatu: początkowo na kolumnie do ekstrakcji do fazy stałej, a następnie za pomocą RP-HPLC. Aktywność przeciwdrobnoustrojową badano metodą mikrorozcieńczeń w bulionie wobec szczepów referencyjnych *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 i *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13882. Dla szczepów *E. coli*, *P. aeruginosa* i *K. pneumoniae* zaobserwowano znaczny wpływ obecności kwasów bosweliowych na aktywność przeciwdrobnoustrojową LL-37 zarówno w przypadku dodatku kwasu 3-O-acetylo-11-keto-β-bosweliowego jak i kwasu 11-keto-β-bosweliowego. Dodatek 8-16 µg/mL dowolnego kwasu bosweliowego powodował dwukrotny wzrost minimalnego stężenia hamującego (MIC) wzrost drobnoustroju. Dodatek 128 µg/mL dowolnego kwasu bosweliowego w każdym przypadku aż szesnastokrotnie zwiększał wartość MIC. Z powodu niewielkiej aktywności LL-37 względem *S. aureus* w wypadku tego badania nie zaobserwowano wpływu kwasów bosweliowych na aktywność przeciwdrobnoustrojową. Zarówno kwas 3-O-acetylo-11-keto-β-bosweliowy jak i kwas 11-keto-β-bosweliowy nie wykazywały aktywności przeciwdrobnoustrojowej względem badanych szczepów Gram-ujemnych. Zaprezentowane wyniki dowodzą, że kwas 3-O-acetylo-11-keto-β-bosweliowy i kwas 11-keto-β-bosweliowy hamują aktywność przeciwdrobnoustrojową ludzkiej katelicydyny LL-37 wobec badanych szczepów bakterii Gram-ujemnych. Przedstawione wyniki sugerują, że terapia olibanum może potencjalnie zwiększać ryzyko wystąpienia zakażeń bakteryjnych.

Piśmiennictwo:

- [1] H.P.T. Ammon, Modulation of the immune system by *Boswellia serrata* extracts and boswellic acids, *Phytomedicine*. 17 (2015) 862-867.
- [2] A. Henkel, L. Tausch, M. Pillong, J. Jauch, M. Karas, G. Schneider, O. Werz, Boswellic acids target the human immune system modulating antimicrobial peptide LL-37, *Pharmacol Res*. 102 (2015) 53-60.

Kontakt: dorianmig@gumed.edu.pl

## P2-5

# Ocena jakości minitabletek z chlorowodorkiem werapamilu w zależności od ich geometrii

**Hanna Kotłowska<sup>1</sup>, Małgorzata Sznitowska<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk*

Minitabletki to stosunkowo nowa postać leku, zdobywająca coraz szersze zainteresowanie przemysłu farmaceutycznego. Mogą one stanowić nowoczesną akceptowalną formę leku pediatrycznego, dzięki ich małemu rozmiarowi (średnica 1-3 mm) oraz możliwości dostosowania dawki substancji leczniczej przez mnożenie jednostek. Opisane w literaturze pilotażowe badania kliniczne dowiodły, że minitabletki mogą być z łatwością polykane już przez dzieci w wieku przedszkolnym (2 i 3-letnie), kiedy podawane były w ilości do 10 sztuk rozproszone w łyżeczce doustnego żelu smakowego [1]. Celem niniejszej pracy było ustalenie czy farmakopealne metody badawcze będą odpowiednie do poprawnej oceny parametrów jakościowych minitabletek o różnej geometrii.

Minitabletki o średnicy 2 mm (masa: 5 i 8,5 mg), 2,5 mm (masa 11 i 17 mg) oraz 3 mm i masie 17 mg otrzymano przy ciśnieniu prasowania 160 MPa w tabletkarce rotacyjnej Erweka RTP-D8 przy zastosowaniu stempli pojedynczych z granulatu zawierającego 60% chlorowodoru werapamilu jako modelowej substancji czynnej. Otrzymane minitabletki poddano farmakopealnym badaniom jednolitości masy, jednolitości zawartości, twardości i ścieralności.

Najmniejsze minitabletki 2 mm/5 mg nie spełniały farmakopealnych wymagań (wysokie RSD- 10%) w odniesieniu do jednolitości masy, pomimo właściwego płynięcia masy tabletkowej. Dla jednostek wykazujących dobrą jednolitość masy oznaczono również satysfakcjonującą jednolitość zawartości werapamilu w pojedynczej jednostce (pomiar spektrofotometryczny). Udowodniono lepszą jednolitość zawartości substancji czynnej w trzech minitabletkach traktowanych jako pojedyncza doza. W porównaniu do wyników uzyskanych dla jednej minitabletki, dla trzech jednostek uzyskano znacząco niższe wartości akceptacji i nieco niższe odchylenia od wyniku średniego (RSD mniejsze o ok. 0,5%).

Twardość oznaczono dwiema alternatywnymi metodami (analizator tekstury i twardościomierz GTP-1). Zastosowanie farmakopealnego aparatu okazało się niemożliwe z powodu małych rozmiarów minitabletek. Najmniejsze minitabletki (2 mm/5mg) charakteryzowały się odpornością na zgniatanie na poziomie 10 N. Wyższe wartości oznaczono dla większych i wyższych minitabletek (2,5 mm i 3 mm o masie 17 mg - ok. 25 N). W GTP-1 uzyskano nieco niższe odchylenia od średniej twardości, co może być związane z niższą czułością tego aparatu w porównaniu do analizatora tekstury. Dla wszystkich minitabletek uzyskano bardzo dobrą odporność na ścieranie (< 0,4% ubytku masy).

Przeprowadzone badania wykazały jednolitość masy, zawartości i bardzo dobrą twardość dla minitabletek „wysokich” o grubości większej niż wymiar średnicy oraz trudności z zachowaniem jednolitości masy dla minitabletek 2 mm. Dodatkowo wykazano, że nie wszystkie cechy jakościowe można oznaczyć z zastosowaniem aparatury przeznaczonej dla konwencjonalnych tabletek (badanie twardości).

Piśmiennictwo:

- [1] Kluk A. i in. Can preschool-aged children swallow several minitablets at a time? Results from a clinical pilot study. *Int. J Pharm.* 2015; 485(1-2): 1–6.

Kontakt: hkotlowska@gumed.edu.pl

## P2-6

### Charakterystyka patogenów roślinnych *Pectobacterium spp.* wyizolowanych z prób środowiskowych roślin, gleby i wody

**Joanna Jońca<sup>1</sup>, Martyna Franczuk<sup>1</sup>, Aneta Mazurowska<sup>2</sup>, Małgorzata Koronkiewicz<sup>2</sup>, Natalia Kriegel<sup>2</sup>, Anna Manuszewska<sup>2</sup>, Małgorzata Orłowska<sup>2</sup>, Emilia Parzych<sup>2</sup>, Justyna Radziewicz<sup>2</sup>, Małgorzata Waleron<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> Studenckie Koło Mikrobiologów OML przy Katedrze Mikrobiologii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup> Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed

Bakterie z rodzaju *Pectobacterium*, gram-ujemne pałeczki należące do rodziny *Enterobacteriaceae*, są patogenami roślinnymi o zasięgu ogólnosiwiatowym. Powodują one zmiany chorobowe u wielu gatunków roślin jedno i dwuliściennych, przyczyniając się do znacznych strat ekonomicznych, szacowanych na 20-100 milionów dolarów rocznie [1]. Bakterie te mają zdolność wytwarzania enzymów pektynolitycznych, co umożliwia im inwazję tkanek roślinnych oraz wykorzystywane jest w praktyce w celu izolacji i selekcji szczepów bezpośrednio ze środowiska.

W badaniach scharakteryzowano 134 izolaty bakterii pektynolitycznych z różnych prób środowiskowych: 118 izolatów z warzyw, 4 izolaty z gleby oraz 12 izolatów z wody. Ich przynależność do rodzaju *Pectobacterium* zweryfikowano metodą PCR z wykorzystaniem specyficznych rodzajowo starterów Y1/ Y2, komplementarych do genu liazy pektynowej (*pel*) [2]. Zróznicowanie genetyczne izolatów zbadane zostało metodą DNA fingerprinting z wykorzystaniem starterów komplementarnych do sekwencji powtarzalnych ERIC (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus). Uzyskane szczepy analizowane były również pod względem obecności genu *saxA*, który zlokalizowany jest na plazmidzie koniugacyjnym Drgb3 o wielkości ok. 200kbp [1]. Gen ten koduje enzym odpowiadający za rozkład izotiocyanianu 2-feniloetylu, związku powszechnie stosowanego jako insektycyd i repulsant roślinożerców. Gen *saxA* wykryto tylko w przypadku 9 ze 134 przebadanych izolatów *Pectobacterium*. Ze wszystkich 9 szczepów wyizolowano również plazmid odpowiadający wielkością plazmidowi referencyjnemu Drgb3. Ponieważ uważa się, że zdolność do rozkładu tiocyanianów może być czynnikiem zjadliwości, celowe będzie zbadanie możliwości transferu tej cechy między szczepami w środowisku.

Piśmiennictwo:

- [1] Welte et al (2015) Environmental Microbiology
- [2] Darrasse et al (1994) Applied and Environmental Microbiology

Kontakt: jjonca@gumed.edu.pl

## Ocena metody oznaczania potencjalnych wskaźników diagnostycznych nowotworu prostaty z wykorzystaniem technik LC-TOF/MS oraz GC-OqQ/MS

**Małgorzata Patejko<sup>1</sup>, Renata Bujak<sup>1</sup>, Wiktoria Struck-Lewicka<sup>1</sup>, Marta Kordalewska<sup>1</sup>, Marcin Markuszewski<sup>2</sup>, Marcin Matuszewski<sup>2</sup>, Roman Kaliszan<sup>1</sup>, Michał J. Markuszewski<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Urologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. M. Smoluchowskiego 17, 80-214 Gdańsk

Nowotwór prostaty (ang. *prostate cancer*, CaP) stanowi drugi pod względem zachorowalności, a trzeci pod względem umieralności typ nowotworu u mężczyzn[1]. Co więcej, statystyki wskazują na wzrost zachorowalności na nowotwór prostaty w ciągu ostatnich trzech dekad. Niestety, do tej pory mechanizm odpowiedzialny za rozwój nowotworu nie został do końca poznany. Wczesne wykrycie nowotworu prostaty daje szansę na pełne wyleczenie. Diagnoza nowotworu prostaty uwzględnia wykonanie takich badań jak: badanie *per rectum*, oznaczenie poziomu specyficznego antygenu sterczowego (ang. *prostate specific antigen*, PSA), USG prostaty oraz biopsja[2]. Niestety, badania te są mało komfortowe dla pacjenta oraz nie pozwalają na wczesną diagnozę nowotworu prostaty. Z tego powodu poszukuje się metod mniej inwazyjnych oraz bardziej specyficznych. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania metabolomiką, dziedziną biologii systemowej, zajmującą się jakościowym i ilościowym opisem metabolomu próbek biologicznych. Analiza metabolomiczna może być dobrym narzędziem do poszukiwania potencjalnych biomarkerów chorób, w tym chorób nowotworowych. Stąd zrodziła się idea wykorzystania metabolomiki do badań nad nowotworem prostaty.

Przedstawione badanie stanowi kolejny etap projektu i jego celem była ocena powtarzalności wcześniej opracowanej metody oznaczania potencjalnych biomarkerów nowotworu prostaty[3]. Badanie polegało na przeprowadzeniu niecelowanej analizy metabolomicznej próbek moczu pochodzących od pacjentów ze zdiagnozowanym nowotworem prostaty (n=39) oraz zdrowych ochotników (n=43). Analizy wykonano z wykorzystaniem dwóch komplementarnych technik analitycznych: LC-TOF/MS oraz GC-QqQ/MS.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej, która pozwoliła na wyodrębnienie metabolitów różnicujących badane grupy na poziomie istotnym statystycznie. Wyselekcjonowane metabolity (między innymi mezoerytrytol, kwas propanotrikarboksylowy, C16 sfingozyna oraz dimetyloguanozyna) w odniesieniu do wyników badań pilotażowych charakteryzują się największą powtarzalnością[3]. Otrzymane wyniki mogą być wykorzystane do dalszych prac nad biomarkerami nowotworu prostaty. Aby potwierdzić wartość diagnostyczną oznaczonych metabolitów, należy przeprowadzić analizę metabolomiczną obejmującą większą populację.

Piśmiennictwo:

- [1] J.E Damber, G. Aus, Prostate cancer, *Lancet* **371**(2008), 1710-1721
- [2] C.E DeSantis, C.C Lin, A.B. Mariotto, R.L. Siegel, K.D. Stein, J.L. Kramer, R. Alteri, A.S. Robbins, A. Jemal, Cancer treatment and survivorship statistics, *CA: Cancer J. Clin.* **64**(4)(2014), 252-271
- [3] W. Struck-Lewicka, M. Kordalewska, R. Bujak, A. Yumba Mpanga, M. Markuszewski, J. Jacyna, M. Matuszewski, R. Kaliszan, M.J. Markuszewski, Urine metabolic fingerprinting using LC-MS and GC-MS reveals metabolite changes in prostate cancer: A pilot study, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **111**(2015), 351-361

Kontakt: gosia\_p@gumed.edu.pl

## Opracowanie metody oznaczania wybranych związków pterynowych z zastosowaniem elektroforezy kapilarnej

Magdalena Buszewska-Forajta<sup>1</sup>, Wojciech Grochocki, Szymon Macioszek<sup>1</sup>, Marcin Markuszewski<sup>2</sup>, Marcin Matuszewski<sup>2</sup>, Michał J. Markuszewski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Gdański Uniwersytet Medyczny, al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk.

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Urologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Smoluchowskiego 1, 80-214 Gdańsk

Pteryny to dwupierścieniowe związki heterocykliczne, będące pochodnymi kwasu moczowego. W organizmie człowieka pteryny biorą udział w metabolizmie komórkowym jako kofaktory wielu enzymów. Zauważono, że stężenie pteryn w moczu zwiększa się w przypadku występowania nowotworów: pęcherza moczowego, piersi oraz jelita grubego. W związku z tym podejmowane są próby wykorzystania pteryn jako potencjalnych markerów nowotworowych, w szczególności w przypadku nowotworu pęcherza moczowego. Ze względu na światłoczułość, występowanie na kilku stopniach utlenienia, ograniczoną rozpuszczalność oraz niskie stężenie w matrycach biologicznych, dużym wyzwaniem jest ich oznaczenie, zarówno jakościowe jak i ilościowe.

Celem pracy było opracowanie specyficznej i czulej metody analitycznej oznaczania jedenastu wybranych związków pterynowych w moczu, z zastosowaniem elektroforezy kapilarnej z detektorem LIF (ang. laser induced fluorescence). Zastosowanie lasera argonowo-jonowego (wzbudzenie  $\lambda=365$  nm) umożliwia detekcję analitów na podstawie ich naturalnej luminescencji i zwiększenie czułości detekcji od 100 do 1000 razy w stosunku do detektora UV. W procesie optymalizacji opracowano metodę umożliwiającą separację 11 związków pterynowych (neopteryna, ksantopteryna, lumazyna, izoksantopteryna, kwas pteryno-6-karboksylowy, 6-hydroksylumazyna, 6-hydroksymetylopteryna, 7-hydroksylumazyna, 6,7-dimetylopteryna, pteryna, L-biopteryna, 7-biopteryna) z zadowalającą rozdzielczością w czasie 16 minut.

Opracowana metoda została zwalidowana i wykorzystana do analizy ilościowej wyselekcjonowanych pteryn w moczu pacjentów ze zdiagnozowanym nowotworem pęcherza moczowego oraz zdrowych ochotników. Otrzymane wyniki mogą posłużyć do wyjaśnienia patomechanizmu nowotworu pęcherza moczowego, a także przyczynić się do opracowania metody diagnostycznej umożliwiającej wykrycie choroby we wczesnym stadium.

Piśmiennictwo:

- [1] Kośliński P. Determination of pterins in urine by HPLC with UV and fluorescent detection using different types of chromatographic stationary phases (HILIC, RP C8, RP C18). *J Pharm Biomed Anal.* 2014 Mar;91:37-45. doi: 10.1016/j.jpba.2013.12.012. Epub 2013 Dec 25.

Kontakt: macioszek@gumed.edu.pl, markusz@gumed.edu.pl

## P2-9

### Poszukiwanie mechanizmów rozwoju oraz potencjalnych wskaźników diagnostycznych nowotworu pęcherza moczowego poprzez niecelowaną analizę metabolomiczną próbek moczu

**Julia Jacyna<sup>1</sup>, Renata Bujak<sup>1</sup>, Stéphane Balayssac<sup>2</sup>, Aleksandra Sawicka<sup>1</sup>, Małgorzata Patejko<sup>1</sup>, Marcin Markuszewski<sup>3</sup>, Piotr Gutknecht<sup>4</sup>, Véronique Gilard<sup>2</sup>, Myriam Malet-Martino<sup>2</sup>, Janusz Siebert<sup>4</sup>, Marcin Matuszewski<sup>3</sup>, Roman Kalisz<sup>1</sup>, Michał J. Markuszewski<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk

<sup>2</sup>Groupe de RMN Biomédicale, UNIVERSITÉ TOULOUSE III - Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse

<sup>3</sup>Katedra i Klinika Urologii, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. M. Smoluchowskiego 17, 80-214, Gdańsk

<sup>4</sup>Katedra Medycyny Rodzinnej, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębinki 2, 80-211, Gdańsk

Nowotwór pęcherza moczowego (BCa, ang. *bladder cancer*) jest dziewiątym pod względem częstości występowania w populacji ludzkiej nowotworem na świecie [1]. Jego diagnostyka wymaga użycia specjalistycznego sprzętu (np. cystoskopu, tomografu komputerowego), co może wywoływać dyskomfort u pacjentów, a także jest zazwyczaj przeprowadzana dopiero w wypadku wystąpienia objawów choroby, a co za tym idzie – w jej późnym stadium. Dlatego też, potrzebne są nieinwazyjne i specyficzne metody wczesnej diagnostyki BCa. Wśród dostępnych metodologii, metabolomika wydaje się być użytecznym narzędziem do poszukiwania potencjalnych biomarkerów nowotworu pęcherza moczowego, mogących posłużyć zarówno do poznania patomechanizmów rozwoju BCa, jak i opracowania poszukiwanej metody diagnostycznej.

W przedstawionym badaniu przeprowadzono analizę metabolicznego „odcisku palca” (ang. *metabolic fingerprinting*) próbek moczu pochodzących od pacjentów chorych na BCa (ang. *muscle invasive, high grade BCa*, n=24) oraz zdrowych ochotników (n=24).

Analizy przeprowadzono z wykorzystaniem 3 komplementarnych technik analitycznych:

- wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas z detektorem typu analizator czasu przelotu (HPLC-TOF/MS) w układach chromatograficznych typu RP i HILIC,
- chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią mas z detektorem typu potrójny kwadrupol (GC-QqQ/MS),
- spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (<sup>1</sup>H NMR).

Kolejny etap badań stanowiło przeprowadzenie jednowymiarowej analizy statystycznej, analizy składowych głównych (ang. *Principal Component Analysis*, PCA) oraz ortogonalnej analizy dyskryminacyjnej cząstkowych najmniejszych kwadratów (ang. *Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis*, OPLS-DA). Następnie, na podstawie przeprowadzonych analiz wyselekcjonowano metabolity różnicujące badane grupy na poziomie istotnym statystycznie. Zidentyfikowane metabolity oraz wstępna analiza szlaków biochemicznych mogą wskazywać na zaburzenia metabolizmu aminokwasów, puryn, glukozy, lipidów, a także zmiany w cyklu moczynowym w przebiegu BCa. Wykazane zmiany mogą posłużyć wyjaśnieniu patomechanizmów leżących u podstaw rozwoju BCa na poziomie molekularnym. Należy podkreślić, iż są to badania wstępne i aby potwierdzić wartość diagnostyczną wyselekcjonowanych metabolitów, należy przeprowadzić badania na większej populacji. Niezbędne jest ponadto przeprowadzenie dalszych badań obejmujących celowaną oraz ilościową analizę metabolomiczną.

Projekt został współfinansowany ze środków Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego (KNOW) przyznanych na podstawie decyzji nr MNiSW-DS-6002 4693-23/WA/12 z dnia 12 lipca 2012 r. na lata 2012-2017. Autorzy dziękują firmie Shimpol A.M. Borzymowski za możliwość przeprowadzenia analiz przy użyciu systemu GC-MS 8030TQ.

Piśmiennictwo:

- [1] World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012; [www.globocan.iarc.fr](http://www.globocan.iarc.fr)

Kontakt: [jacynaj@gumed.edu.pl](mailto:jacynaj@gumed.edu.pl); [markusz@gumed.edu.pl](mailto:markusz@gumed.edu.pl)

## Ocena jakości i trwałości mieszaniny paracetamolu i tramadolu w mieszaninach do żywienia pozajelitowego

Adrianna Dadej<sup>1</sup>, Maria Popielarz-Brzezińska<sup>1</sup>, Szymon Polański<sup>1</sup>, Aleksandra Gostyńska<sup>1,2</sup>, Anna Jelińska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań

<sup>2</sup> Apteka Szpitalna Klinicznego im. Heliodora Świącieckiego UM, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

Ból według definicji Międzynarodowego Towarzystwa Badania Bólu, jest „nieprzyjemnym, zmysłowym i emocjonalnym odczuciem towarzyszącym istniejącemu lub zagrażającemu uszkodzeniu tkanki, bądź jedynie odnoszone do takiego uszkodzenia”. Zazwyczaj ból może być zniesiony poprzez zastosowanie leków przeciwbólowych. W roku 1986 Światowa Organizacja Zdrowia przedstawiła trójstopniowy schemat leczenia tzw. drabinę analgetyczną: I stopień stanowią nieopioიდowe leki przeciwbólowe np. paracetamol, II stopień słabe leki opioიდowe i III stopień to silne opioიდy. Ból przewlekły często wymaga zastosowania różnych środków farmakologicznych, działających poprzez różne mechanizmy i posiadające odmienne punkty uchwytu. Paracetamol należy do grupy nieopioიდowych leków przeciwbólowych, tramadol zaś do opioიდowych leków przeciwbólowych. Ich połączenie „terapia multimodalna” pozwala na wzmocnienie efektu terapeutycznego, zmniejszenia dawki oraz pozwala na poprawę tolerancji i bezpieczeństwa leczenia. Jest to szczególnie ważne u osób, którzy borykają się z wieloma chorobami, często karmieni również pozajelitowo. Aby zoptymalizować terapię można podawać leki wraz z mieszaniną. Możliwość dodania leków do mieszaniny do żywienia pozajelitowego już na etapie przygotowania ich w aptece szpitalnej ma bardzo duże znaczenie w podaniu odpowiedniej dawki i ich sterylnym przygotowaniu. Zastosowanie takich połączeń wymaga dokładnych, precyzyjnych badań kompatybilności składników mieszaniny żywieniowej i leków.

Celem badań było określenie trwałości i kompatybilności mieszaniny paracetamolu i chlorowodoru tramadolu w mieszaninie do żywienia pozajelitowego. Badania prowadzono w trakcie 12-godzinnej symulowanego wlewu dożylnego oraz w trzech warunkach przechowywania: temperatura 25°C bez dostępu światła i z dostępem światła słonecznego oraz w warunkach chłodniczych (2-8°C) bez dostępu światła. Kompatybilność mieszanin leków w mieszaninie żywieniowej określano wizualnie, wyznaczano wielkość cząstek emulsji tłuszczowej, potencjał zeta, pomiar pH. Zmiany zawartości leków w czasie przechowywania analizowano metodą HPLC.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że mieszanina paracetamolu i chlorowodoru tramadolu w mieszaninach do żywienia pozajelitowego charakteryzuje się stabilnością podczas 12-godzinnej symulowanego wlewu dożylnego oraz we wszystkich warunkach przechowywania. Należy jednak uwzględnić fakt wrażliwości mieszaniny do żywienia pozajelitowego na światło słoneczne

Kontakt: mpopiel@ump.edu.pl



## Kontrola mikrobiologiczna kosmetyków komercyjnie dostępnych oraz oznaczanie zanieczyszczeń mikrobiologicznych w kosmetykach używanych

**Agnieszka Konopacka, Wioleta Niska, Krzysztof Waleron**

<sup>1</sup>*Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej GUMed*

**WSTĘP:** Kontrola i utrzymywanie czystości mikrobiologicznej wytwarzanych środków pielęgnacyjnych, praktycznie na każdym etapie produkcji, są ważnymi aspektami przemysłu kosmetycznego. Producenci powinni gwarantować wysoką jakość produktów oraz bezpieczeństwo ich stosowania. Nie ma wymagań aby kosmetyki były produktami jałowymi, ale stawiane są im wymagania co do czystości mikrobiologicznej. Muszą mieć również zbadaną skuteczność działania środków konserwujących.

**MATERIAŁY I METODY:** Stosowane metody badań opracowano na podstawie norm PN-EN oraz diagnostyki mikrobiologicznej. Kontrola czystości mikrobiologicznej, oznaczanie zanieczyszczeń ilościowo i jakościowo w nowych komercyjnych kosmetykach dostępnych na rynku polskim. Przebadano 36 produktów, różnego typu. Oznaczanie zanieczyszczeń mikrobiologicznych ilościowo i jakościowo wprowadzonych do kosmetyków w wyniku użytkowania przez konsumentów. Ocena stopnia ochrony mikrobiologicznej kosmetyków przez konserwanty. Przebadano 84 kosmetyki, używane przez różne osoby.

**WYNIKI:** Kosmetyki nowe były praktycznie jałowe, nie stwierdzono zanieczyszczeń mikrobiologicznych. Kosmetyki używane – Tylko przypadku trzech kosmetyków została przekroczona dopuszczalna liczba drobnoustrojów, co może stanowić zagrożenie dla zdrowia konsumentów. W przypadku oznaczeń jakościowych, wzrost drobnoustrojów zaobserwowano w przypadku 26 środków kosmetycznych. Zidentyfikowano min. *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter sp.* i *Candida glabrata*.

**WNIOSKI:** Środki pielęgnacyjne dostępne na rynku polskim wyróżniają się wysoką jakością pod względem czystości mikrobiologicznej. Właściwości bakteriostatyczne konserwantów zapobiegają nadmiernemu namnażaniu się wprowadzonych do kosmetyków mikroorganizmów. Nieprzestrzeganie zasad higieny, wprowadzanie wody do kosmetyków sprzyja namnażaniu się zanieczyszczeń mikrobiologicznych w środkach pielęgnacyjnych.

Kontakt: [agakonopacka@gumed.edu.pl](mailto:agakonopacka@gumed.edu.pl)

## Fabryka leków w słoiku – konsorcjum mikrobiologiczne kefiru wodnego jako źródło związków o znaczeniu farmakologicznym

Martyna Franczuk<sup>1</sup>, Aneta Mazurowska<sup>2</sup>, Anna Manuszewska<sup>2</sup>, Emilia Parzych<sup>2</sup>, Małgorzata Orłowska<sup>2</sup>, Małgorzata Koronkiewicz<sup>2</sup>, Krzysztof Waleron<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> Studenckie Koło Naukowe Młodych Mikrobiologów przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Kefir wodny to napój fermentowany powstający wskutek procesów metabolicznych konsorcjum mikrobiologicznego złożonego z 400-450 probiotycznych szczepów bakterii i drożdży[1]. Głównie bakterii kwasu mlekowego i octowego oraz przedstawicieli rodzaju *Bifidobacterium* oraz drożdży *Saccharomyces*, *Lachancea*, *Hanseaniospora*, czy *Zygorulospora*[2]. Mikroorganizmy organizują się w ziarna kefirowe, podobne do ziaren kefiru mlecznego. Jednak szkielet cukrowy, zamiast kefiranu, stanowi przezroczysty dekstran produkowany przez *L. hilgardii* i *L. mesenteroides*, a skład jakościowy zamieszkującej ziarna mikroflory jest znacznie bogatszy[3]. Odkrycie nowego szczepu *Bifidobacterium aquikefiri* sp. nov. pochodzącego właśnie z kefiru wodnego sugeruje, że konsorcjum może być interesującym źródłem nowych mikroorganizmów o potencjale probiotycznym[4].

Pochodzenie kefiru wodnego nie jest do końca wyjaśnione: w literaturze naukowej mowa o dwóch możliwych źródłach[1]. Pierwsza z hipotez zakłada, że ziarna kefirowe pochodzą z Meksyku, gdzie tworzą się samoistnie wewnątrz opuncji. Druga, że domowe hodowle dotarły do Europy wraz z żołnierzami angielskimi wracającymi w XIX wieku z Kaukazu. Zanim doszło do zmian geopolitycznych w tym regionie, spożywanie dużej ilości napojów fermentowanych uznawano za tajemnicę długowieczności społeczności zamieszkujących tamte rejony.

Jedną z cech organizmów probiotycznych jest antagonizm wobec mikroorganizmów chorobotwórczych. Kefir wodny wykazuje szerokie spektrum aktywności przeciwdrobnoustrojowej, która została udowodniona naukowo [2]. W medycynie ludowej jest stosowany w przypadkach chorób o etiologii bakteryjnej, tj. egzemy skórne, wrzody, dolegliwości układu pokarmowego. W dużej mierze napój zawdzięcza swoje właściwości przeciwdrobnoustrojowe zawartości kwasów organicznych (mlekowego i octowego)[5,6]. Przeprowadzone przez nas analizy kilkunastu genomów bakterii współtworzących konsorcjum dowodzą, że mają one również potencjał do produkcji innych związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym – lantibiotyków, terpenów i poliketydów.

Piśmiennictwo:

- [1] Gulitz A. i wsp., The microbial diversity of water kefir. Int J Food Microbiol, 2011.
- [2] Schneedorf J.M., Kefir D'Aqua and Its Probiotic Properties, In Tech: <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/39669.pdf> [dostęp: 14. 11. 2016].
- [3] Waldherr F.W. i wsp., Identification and characterization of a glucan-producing enzyme from *Lactobacillus hilgardii* TMW 1.828 involved in granule formation of water kefir, 2010.
- [4] Laureys D. i wsp., *Bifidobacterium aquikefiri* sp. nov., isolated from water kefir, Int J Syst Evol Microbiol, 2016.
- [5] Laureys D. i De Vuyst L., Microbial species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of water kefir fermentation, Appl Environ Microbiol, 2014.
- [6] Magalhães K.T i wsp., Brazilian kefir: structure, microbial communities and chemical composition, Braz J Microbiol, 2011.

Kontakt: marsilka@gumed.edu.pl

## Rola białka opiekuńczego ORP150 w chorobach związanych ze stresem siateczki śródplazmatycznej

Marcin Kruszewski <sup>1</sup>, Magdalena Kusaczuk <sup>2</sup>, Marzanna Cechowska-Pasko <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Elektrochemii, Instytut Chemii, Uniwersytet w Białymstoku

<sup>2</sup> Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Siateczka śródplazmatyczna (ER) to organellum komórkowe stanowiące miejsce syntezy wielu białek i lipidów. Wiele czynników, takich jak: niedobór substancji odżywczych, niedobór tlenu czy stres oksydacyjny, zaburza funkcjonowanie siateczki śródplazmatycznej, wywołując stan tak zwanego „stresu ER”. Zjawisku temu towarzyszy akumulacja niesfaldowanych lub nieprawidłowo sfaldowanych białek w świetle ER [1]. Nagromadzenie białek o nieprawidłowej konformacji, aktywuje w komórce mechanizmy obronne zwane odpowiedzią od białek niesfaldowanych (UPR, ang. *unfolded protein response*) [2]. Głównym celem odpowiedzi UPR jest przywrócenie homeostazy w siateczce śródplazmatycznej, między innymi poprzez nasiloną ekspresję białek opiekuńczych ER [3]. Jednym z kluczowych składników pro-przeżyciowej gałęzi odpowiedzi UPR jest indukcja cytoprotekcyjnego białka ORP150 [1]. Molekularny mechanizm działania ORP150 polega między innymi na: wiązaniu się z proapoptotycznym czynnikiem CHOP i tym samym, hamowaniu apoptozy, regulacji stężenia jonów Ca<sup>2+</sup> w komórce oraz udziale w biosyntezie śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF), odpowiedzialnego za angiogenezę. Nieprawidłowości w funkcjonowaniu ER leżą u podstaw wielu chorób, m.in.: chorób neurozwyrodnieniowych, chorób układu sercowo-naczyniowego, cukrzycy, a także chorób nowotworowych [1]. We wszystkich tych stanach patologicznych stwierdzono nadekspresję białka ORP150. Ważnym zagadnieniem jest możliwość wykorzystania tego białka jako potencjalnego celu terapeutycznego.

Piśmiennictwo:

- [1] Kusaczuk M., Cechowska-Pasko M. Molecular chaperone ORP150 in ER stress-related diseases. *Curr Pharm Des*, 2013; 19(15):2807-18.
- [2] Cechowska-Pasko M. Białka opiekuńcze siateczki śródplazmatycznej. *Postępy Biochemii*, 2009; 55(4): 416-24.
- [3] Ron D. Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007; 8: 519-29.

Kontakt: kaligula9@gmail.com

## Niskocząsteczkowe związki peptydowe mucyny7 oraz ich kompleksy z jonami metali jako potencjalne antybiotyki.

Anna Janicka-Kłos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Borowska 213, 50-556 Wrocław, [anna.janicka-klos@umed.wroc.pl](mailto:anna.janicka-klos@umed.wroc.pl)

Od odkrycia antybiotyków ponad siedemdziesiąt lat temu, są one niewątpliwie najskuteczniejszą bronią w leczeniu zakażeń drobnoustrojami. Niestety obecnie zbyt często stosowaną, pomimo iż kładzie się coraz większy nacisk na uświadamianie społeczeństwa co do skutków takiego postępowania i występowania zjawiska lekooporności. Ze względu na coraz powszechniejsze występowanie lekooporności koniecznym i zasadnym jest poszukiwanie nowych leków lub modyfikacja dostępnych już, aktywnych przeciwdrobnoustrojowo związków, które będą działać na coraz to bardziej odporne szczepy drobnoustrojów. Wśród takich substancji wykazujących szerokie zastosowanie farmakologiczne znajdują się między kationowe związki peptydowe oraz ich pochodne. Kationowe peptydy wykazujące właściwości przeciwbakteryjne stanowią jedną z istotnych linii obrony gospodarza przed atakiem niepożądanych mikroorganizmów. Wykazują szerokie spectrum aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwwirusowej i przeciwgrzybiczej. Co jest bardzo istotne, związki te wykazują zerową lub niewielką toksyczność względem komórek gospodarza, wykazując równocześnie niewielką tendencję do wywoływania u mikroorganizmów oporności [1, 2]. Przy projektowaniu potencjalnych leków stosuje się wiele modyfikacji strukturalnych peptydów lub przeprowadza się je w kompleksy z jonami metali. [3, 4]. Przykładowo pochodna histatyny-5, P113 (demegen) jest 12-sto aminokwasową pochodną kationowego peptydu (CAMP) występującego naturalnie w puli peptydów ślinowych. Peptyd ten wykazuje znakomitą aktywność *in vitro* przeciw grzybom *Candidia albicans* oraz powszechnie występującym *Gram-pozytywnym* i *Gram-negatywnym* bakteriom [5]. Innym ciekawym peptydem ślinowym jest mucyna7, która podobnie jak histatyna należy do klasy kationowych związków peptydowych wykazujących działanie przeciwdrobnoustrojowe [6, 7, 8, 9].

Do badań wybrano sześć związków peptydowych, których sekwencja aminokwasowa odpowiada fragmentowi niskocząsteczkowego białka mucyny7 (18-30 i 18-34) oraz ich analogom, w których reszty histydyłowe (potencjalne miejsca wiązania jonów metali) zastąpiono resztami alaniny. W celu określenia, czy i w jaki sposób wybrane fragmenty peptydowe oraz ich chemiczne analogi wiążą jony Cu(II) zastosowano szereg metod analitycznych (miareczkowanie potencjometryczne oraz metody spektroskopowe- UV-Vis, planowane także CD, ITC oraz NMR). Planowane są także badania właściwości koordynacyjnych względem jonów Zn(II) oraz przeprowadzenie badań mikrobiologicznych samych peptydów oraz ich kompleksów z jonami metali. Badania te pozwolą określić, które związki wykazują aktywność przeciwdrobnoustrojową względem określonej, wybranej grupy bakterii i grzybów (szczepów referencyjnych i klinicznych oraz form planktonicznej i biofilmowej) a także ich budowę strukturalną.

Piśmiennictwo:

- [1] R.E. Hancock, R. Lehrer, Trends Biotechnol., 16, 2, 1998, 82-88.
- [2] A. Peschel, A.G. Sahl, Nat Rev Microbiol., 4, 7, 2006, 529-536.
- [3] Y.J. Gordon, E.G. Romanowski, Curr Eye Res., 30, 7, 2005, 505-515.
- [4] S. Mielino, S. Rufini, M. Sette, R. Morero, A. Grottesi, M. Paci, R. Petruzzelli, Biochemistry, 38, 30, 1999, 9626-9633.
- [5] Y.J. Gordon, E.G. Romanowski, Curr Eye Res., 30, 7, 2005, 505-515.
- [6] A.R. Biesbrock, M.S. Reddy, M.J. Levine, Infect. Immun. 59, 1991, 3492-3497.
- [7] M.S.Reddy, M.J.Levine, W. Paranchych, Crit. Rev. Oral Bio. Med 4,1993, 315-323.
- [8] H. Situ, G. Wei, C. J. Smith, S. Mashhoon, L. A. Bobek, Biochem. J., 375, 2003, 175-182.
- [9] H. Situ, G. Wei, C. J. Smith, S. Mashhoon, L. A. Bobek, Biochem. J., 375, 2003, 175-182.

Kontakt: [anna.janicka-klos@umed.wroc.pl](mailto:anna.janicka-klos@umed.wroc.pl)

## Czy meropenem można dodawać do mieszanin do żywienia pozajelitowego?

Klaudia Lisowska<sup>1</sup>, Szymon Tomczak<sup>1</sup>, Aleksandra Gostyńska<sup>1,2</sup>, Maciej Stawny<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań

<sup>2</sup>Apteka Szpitala Klinicznego im. Heliodora Święcickiego UM, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

Pacjenci, u których stosowane jest leczenie żywieniowe, często wymagają jednoczesnego stosowania leków parenteralnych. Dodanie ich do mieszanin żywieniowych mogłoby zmniejszyć liczbę manipulacji przy dostępie naczyniowym, a tym samym ryzyko wystąpienia zakażenia. Należy jednak mieć na uwadze, iż możliwe jest wystąpienie niezgodności i interakcji pomiędzy składnikami mieszaniny i dodanym lekiem. Jest to o tyle ważne, ponieważ mieszanina żywieniowa jest lekiem złożonym, składającym się nawet z około pięćdziesięciu składników, które zostają zmieszane w jednym pojemniku, gdzie może dochodzić do powstania interakcji, nie tylko pomiędzy poszczególnymi składnikami, ale także pomiędzy składnikami mieszaniny a opakowaniem leku oraz substancjami pomocniczymi wchodzącymi w skład stosowanych preparatów. Z tego względu dodawanie leków do mieszanin żywieniowych musi być poprzedzone badaniami analitycznymi, które jednoznacznie potwierdzą ich stabilność w takim medium. Brak kompatybilności między lekiem a składnikami mieszaniny może stwarzać zagrożenie dla zdrowia i życia pacjentów. Dodawany lek musi charakteryzować się odpowiednio szerokim indeksem terapeutycznym i co więcej, zarówno lek, jak i wszystkie jego składniki muszą być zgodne z pH mieszaniny żywieniowej.

Celem badań było określenie trwałości oraz kompatybilności meropenemu w mieszaninach do żywienia pozajelitowego. Trwałość antybiotyku określono w trzech różnych warunkach przechowywania, tj.: w temperaturze 2–8 °C oraz w temperaturze pokojowej bez i z dostępem światła. Kompatybilność meropenemu w mieszaninie żywieniowej określano poprzez wyznaczanie wielkości cząstek emulsji tłuszczowej, potencjału zeta, pomiaru pH oraz poprzez śledzenie zmian zawartości badanego antybiotyku w czasie przechowywania metodą HPLC.

Przeprowadzone badania wykazały, że dodanie meropenemu do mieszanin żywieniowych nie wpływa istotnie na pH badanych próbek oraz wielkość cząstek emulsji tłuszczowej i potencjał zeta układu. Na podstawie wyników analizy HPLC stwierdzono natomiast, że meropenem w mieszaninach do żywienia pozajelitowego należy do leków wrażliwych na działanie promieniowania słonecznego i temperatury pokojowej. Badany antybiotyk wykazuje największą trwałość w mieszaninie żywieniowej przechowywanej w temperaturze 2–8 °C, a najmniejszą w temperaturze 25 °C z dostępem światła. Zawartość meropenemu w mieszaninie żywieniowej po 24 godzinach przechowywania w temperaturze 25 °C z dostępem światła (warunki podaży mieszaniny żywieniowej) wynosiła około 85%, a więc lek ten nie nadaje się do łącznej podaży z mieszaniną żywieniową.

Badania były finansowane z projektu SONATA Narodowego Centrum Nauki numer 2015/17/D/NZ7/00792.

Kontakt: mstawny@ump.edu.pl

## Ocena stabilności i produktów degradacji rapamycyny w osoczu krwi

**Natalia Rekowska<sup>1</sup>, Alina Plenis<sup>1</sup>, Ilona Olędzka<sup>1</sup>, Piotr Kowalski<sup>1</sup>, Katarzyna Macur<sup>2</sup>, Tomasz Bączek<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Hallera 107 80-416 Gdańsk

<sup>2</sup> Pracownia Spektrometrii Mas, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Kładki 24 80-822 Gdańsk

Choroby układu sercowo-naczyniowego, w tym choroba wieńcowa oraz choroba tętnic obwodowych, skutkujące występowaniem dławicy piersiowej, zawałem mięśnia sercowego, udarami, a nawet nagłym zgonem, należą do najczęściej występujących schorzeń we współczesnym społeczeństwie. Jedną z metod leczenia są wewnątrznaczyniowe zabiegi chirurgiczne, których celem jest udrożnienie dotkniętych chorobą naczyń krwionośnych. Niestety, w wyniku restenozy (ponownego zarostania naczyń) i tworzenia się zakrzepów, uzyskane efekty terapeutyczne są krótkotrwałe [1]. Z tego względu, współczesna nauka skupia się na poszukiwaniu nowych rozwiązań technologicznych, które pozwoliłyby na bardziej długotrwałe poszerzenie światła zwężonych naczyń krwionośnych. Takie możliwości daje zastosowanie stentów lub baloników donaczyniowych pokrytych warstwą polimeru zawierającą substancję antyproliferacyjną spowalniającą ponowne tworzenie się płytki miażdżycowej. Często tym związkiem jest sirolimus, znany także pod nazwą rapamycyna, który, wraz z rozpadem matrycy polimerowej pokrywającej stent lub balonik jest stopniowo uwalniany do tkanek otaczających implant. W trakcie projektowania implantów, ważnym etapem są testy uwalniania substancji pokrywającej stent oraz ocena jej stabilności chemicznej[2].

Celem prezentowanych badań była ocena stabilności sirolimusa w testach wymuszonej degradacji oraz identyfikacja powstałych produktów rozkładu w surowicy.

Aby zrealizować powyższy cel, przeprowadzono szereg eksperymentów, w których próbki surowicy wzbogacone dodatkiem sirolimusa o stężeniu 10 µg/ml były umieszczane w temperaturze 37°C, po czym w określonych odstępach czasowych pobierano po 1 ml surowicy i dodawano acetonitrylu jako odczynnika hamującego reakcje degradacji. Otrzymane próbki po odwirowaniu poddano analizie chromatograficznej z zastosowaniem detektora UV (LC-UV) oraz detektora masowego z pojedynczym kwadrupolem jako analizatorem (LC-MS). Wyniki tych badań potwierdziły, że na chromatogramach widoczne były piki pochodzące od sirolimusa oraz jego izomerów. Z przebiegiem eksperymentu, stężenie związku stopniowo spadało, podczas gdy stężenie jednego z izomerów sirolimusa rosło. Nie odnotowano nowych sygnałów pochodzących od innych, powstałych w wyniku degradacji związków.

Próbki poddane podobnemu procesowi degradacji wstępnie analizowano także z użyciem detektora TOF MS/MS. Otrzymane wyniki, na tym etapie badań, pozwalają dostrzec złożoność matrycy oraz spadek stężenia sirolimusa w raz ze wzrostem czasu degradacji, jakiej została poddana próbki, nie wnoszą jednak nowych informacji o produktach rozpadu związku.

W wyniku przeprowadzonych badań zaprojektowano i zoptymalizowano szybką metodę LC-UV, LC-MS oraz LC-TOF-MS/MS oznaczania sirolimusa w surowicy, która może być z powodzeniem zastosowana do oznaczania tego leku w surowicy krwi pacjentów poddanych terapii sirolimusem. Konieczne jest kontynuowanie eksperymentów w celu ustalenia struktur produktów degradacji sirolimusa w surowicy, które mogą być również obserwowane w implantach gotowych do użycia.

Piśmiennictwo:

- [1] G.Stefanini et al. Drug eluting coronary-artery stents. *N. Engl. J. Med.* 2013, 368:254-65
- [2] A.L. Olyaner et al. Mass balance in rapamycin autoxidation. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2008, 1368–1374

Kontakt: nataliarekowska@gumed.edu.pl

## P2-17

### Trwałość piperacyliny w połączeniu z tazobaktamem w mieszaninie do żywienia pozajelitowego

**Maria Popielarz-Brzezińska<sup>1</sup>, Anna Dumska<sup>1</sup>, Aleksandra Gostyńska<sup>1,2</sup>, Anna Jelińska<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań*

<sup>2</sup> *Apteka Szpitalna Klinicznego im. Heliodora Świącieckiego UM, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań*

Piperacylina jest to jedna z półsyntetycznych penicylin o poszerzonym zakresie działania należąca do grupy ureidopenicylin Kwas (2S,5R,6R)-[[[(2R)-2-[[[(4-etylo-2,3-dioxopiperazyn-1-yl)karbonylo] amino]-2-fenyloacetylo]amino]-3,3 dimetylo-7-okso-4-tiazabicyklo[3.2.0]heptano-2-karboksylowy. Łańcuch boczny wpływa na zakres działania antybakteryjnego, oporność na działanie enzymów β-laktamowych, a także właściwości farmakologiczne. Tazobaktam jest inhibitorem, blokuje działanie β-laktamaz Jest to syntetyczny związek, sulfonowa pochodna kwasu penicylanowego. Piperacylina w połączeniu z tazobaktamem została wprowadzona do leczenia w Stanach Zjednoczonych w 1993 roku. Badania kliniczne wykazały, że preparat skojarzony najbardziej skuteczny jest w stosunku 8:1. W leczeniu oba związki stosowane w postaci soli sodowej. Problemem współczesnej medycyny są zakażenia szpitalne. Paradoksalnie szpital często jest miejscem, gdzie zamiast wracać do zdrowia, nabywamy kolejnych chorób. Jedną z nich jest posocznica – zespół ogólnoustrojowej reakcji zapalnej wywołanej zakażeniem. Jednym z antybiotyków stosowanych w leczeniu posocznicy jest właśnie piperacylina. Pacjenci żywieni parenteralnie są wyjątkową grupą chorych, która często wymaga antybiotykoterapii, dlatego określenie stabilności antybiotyków podawanych przez jeden dostęp żylny, łącznie z mieszaninami do żywienia pozajelitowego jest bardzo istotne.

Celem badań było określenie kompatybilności i trwałości preparatu złożonego z piperacyliny i tazobaktamu w mieszaninach do żywienia pozajelitowego. Badania prowadzono w trakcie symulowanego wlewu dożylnego oraz w trzech warunkach przechowywania: temperatura 25°C bez dostępu światła i z dostępem światła słonecznego oraz w warunkach chłodniczych (2-8°C) bez dostępu światła. Kompatybilność mieszanin leków w mieszaninie żywieniowej określano wizualnie, wyznaczano wielkość cząstek emulsji tłuszczowej, potencjał zeta, pomiar pH. Zmiany zawartości leku w czasie przechowywania analizowano metodą HPLC.

Na podstawie analizy uzyskanych wyników można stwierdzić, że mieszanina piperacyliny i tazobaktamu w mieszaninach do żywienia pozajelitowego charakteryzuje się stabilnością podczas przechowywania w warunkach chłodniczych bez dostępu promieni słonecznych. W temperaturze pokojowej zarówno z dostępem światła jak i bez dostępu światła antybiotyk ulega rozkładowi. Badania podczas symulowanego wlewu dożylnego wskazały na możliwość jednoczesnego podawania leku z mieszaniną do żywienia pozajelitowego w czasie 30 minut.

Badania były finansowane z projektu SONATA Narodowego Centrum Nauki numer 2015/17/D/NZ7/00792.

Kontakt: mpopiel@ump.edu.pl

## Kompatybilność niektórych leków przeciwbólowych z mieszaninami do żywienia pozajelitowego

Izabela Stawska<sup>1</sup>, Rafał Olijarczyk<sup>1,2</sup>, Aleksandra Gostyńska<sup>1</sup>, Szymon Tomczak<sup>1</sup>, Maciej Stawny<sup>1</sup>, Anna Jelińska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań

<sup>2</sup>Apteka Szpitala Klinicznego im. Heliodora Święcickiego UM, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

Leczenie żywieniowe to obecnie integralna część większości terapii. Ma ono na celu poprawę oraz utrzymanie prawidłowego stanu odżywienia pacjenta, co łączy się z polepszeniem jego sprawności psychomotorycznej i w konsekwencji skrócenie czasu właściwej terapii, bądź zwiększenie jej skuteczności. Mieszanina do żywienia pozajelitowego powstaje poprzez połączenie wielu różnych składników odżywczych, co może okazać się przyczyną zmniejszonej stabilności takiej mieszaniny, pomimo, że poszczególne jej składniki charakteryzują się dobrą trwałością. Rolą farmaceuty z jednej strony jest przygotowanie mieszaniny żywieniowej zgodnie z obowiązującymi standardami tak, aby zapewnić jej terapeutyczne bezpieczeństwo dla pacjenta, wybór odpowiedniej formy leku oraz drogi jego podania dla współistniejącej terapii farmakologicznej, monitorowanie terapeutyczne pacjenta oraz informowanie personelu medycznego i pielęgniarzkiego o możliwych interakcjach leków z żywnością pozajelitową. Z drugiej strony farmaceuta powinien poszukiwać nowych możliwości podaży leków, aby stosowana terapia była efektywna, skuteczna, bezpieczna i ekonomicznie korzystna. W zakresie terapii żywieniowej takie poszukiwania obejmują badania nad kompatybilnością i stabilnością leków w mieszaninach do żywienia pozajelitowego, co w przypadku leków zgodnych i trwałych może skutkować ich łącznym podawaniem.

Przedmiotem badań było określenie trwałości i kompatybilności dwóch najczęściej stosowanych leków przeciwbólowych w leczeniu bólu okołoperacyjnego i na oddziale intensywnej terapii: ketoprofenu oraz metamizolu sodowego w mieszaninie do żywienia pozajelitowego. Ketoprofen zaliczany jest do klasycznych niesteroidowych leków przeciwzapalnych, natomiast mechanizm działania metamizolu sodowego opiera się na hamowaniu szlaku ośrodkowej cyklooksygenazy, aktywacji układu kanabinoidowego oraz opioidowego. Trwałość obu badanych leków przeciwbólowych określano w trzech warunkach przechowywania: kontrolowane warunki chłodnicze bez dostępu światła (2-8 °C), temperatura 25°C bez dostępu światła słonecznego oraz temperatura 25°C z dostępem światła słonecznego. Próby do badań pobierano przez kolejnych siedem dni, przy czym pierwsze próby pobrano bezpośrednio po sporządzeniu mieszanin stanowiących materiał do badań (t = 0 h). Kompatybilność obu badanych leków w mieszaninie żywieniowej określano poprzez wyznaczanie wielkości cząstek emulsji tłuszczowej, potencjału zeta, pomiar pH oraz poprzez śledzenie zmian zawartości badanego antybiotyku w czasie przechowywania metodą HPLC.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że roztwory ketoprofenu w mieszaninie do żywienia pozajelitowego charakteryzują się brakiem stabilności bez względu na warunki przechowywania, zatem suplementacja ketoprofenu do mieszaniny żywieniowej jest niewskazana. Roztwory metamizolu sodowego w mieszaninie do żywienia pozajelitowego przechowywane w temperaturze 2-8°C bez dostępu światła oraz w temperaturze 25°C bez dostępu światła charakteryzują się dobrą stabilnością w ciągu 24 h, można zatem rozważać suplementację metamizolu sodowego do mieszaniny żywieniowej. Należy jednak uwzględnić fakt, że roztwór metamizolu sodowego w mieszaninie do żywienia pozajelitowego okazał się wrażliwy na działanie promieni słonecznych.

Kontakt: mstawny@ump.edu.pl



## Analiza profilu lipoprotein surowicy metodą izotachoforezy kapilarnej (CITP)

**Robert Kowalski<sup>1</sup>, Agnieszka Ćwiklińska<sup>2</sup>, Ewa Wieczorek<sup>2</sup>, Kamil Dąbkowski<sup>2</sup>, Maciej Jankowski<sup>2</sup>, Mirosława Szczepańska-Konkel<sup>1</sup>, Krzysztof Lewandowski<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Zakład Terapii Monitorowanej i Farmakogenetyki, Katedra Analityki Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Analityki Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Zaburzenia metabolizmu lipidów i lipoprotein odgrywają ważną rolę w rozwoju miażdżycy i chorób sercowo-naczyniowych. W ostatnich latach coraz częściej zwraca się uwagę na fakt, że podstawowy profil lipidowy (cholesterol całkowity, triglicerydy, cholesterol LDL, cholesterol HDL) może nie w pełni odzwierciedlać zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe. Przyczyną tego jest duża heterogenność lipoprotein i występowanie subpopulacji lipoprotein o różnym potencjale: przeciwmiażdżycowym w przypadku HDL oraz promiażdżycowym w przypadku lipoprotein transportujących triglicerydy i LDL. Z tego powodu poszukuje się nowych metod, które pozwolą na szybki rozdział i identyfikację subpopulacji lipoprotein. Jedną z technik analitycznych o wysokiej zdolności rozdzielczej, umożliwiającą identyfikację subpopulacji lipoprotein w oparciu o ich ruchliwość elektroforetyczną, jest izotachoforeza kapilarna. Celem pracy było wdrożenie tej metody do analizy lipoprotein surowicy z uwzględnieniem dystrybucji ich subpopulacji.

Materiałem badanym były próbki surowicy krwi oraz izolowane metodą ultrawirowania frakcje lipoprotein (HDL, VLDL, IDL+LDL). Analizę metodą izotachoforezy kapilarnej prowadzono na aparacie P/ACE MDQ (Beckman Coulter) wg procedury opisanej przez G. Schmitza i Möllersa C. [1] z modyfikacją własną. Wykorzystano kapilarę krzemionkową (180  $\mu\text{m}$  ID, 360  $\mu\text{m}$  OD, długość efektywna 30 cm), każdorazowo powlekaną dichlorodimetylosilanem (5 psi, 2 min). Bufor wiodący stanowił roztwór H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 5 mM, 0,25% HPMC, ammediol, pH 9,0; bufor kończący: walina 100 mM, ammediol, pH 9,2. Przed analizą próbkę barwiono na obecność lipidów 1% roztworem czerni sudanowej (2:1 v/v). 50  $\mu\text{L}$  mieszaniny łączono ze 150  $\mu\text{L}$  buforu wiodącego i 100  $\mu\text{L}$  substancji rozdzielających (Gly-gly, Ala-gly, Val-gly, Gly-his, seryna, glutamina, metionina, histydyna, glicyna, 3-metyl-L-histydyna, pseudourydyna; 0,6 mg/mL). Próbę wprowadzano do kapilary hydrodynamicznie (0,5 psi, 30 s) i rozdzielano (-18 kV, 20 min, 15°C). Detekcję lipoprotein prowadzono przy 570 nm. Wyniki analizowano w programie Karat 32 (Beckman Coulter) w oparciu o czas migracji oraz bezwzględne i względne pola powierzchni pików. Analizę statystyczną przeprowadzono w programie Statistica 12.0.

Wdrożona metoda pozwoliła na wykazanie obecności 11 subpopulacji lipoprotein, o czasach migracji między 10 a 15 minutą. Precyzja w serii jednoczesnej i niejednoczesnej wyniosła: dla czasów migracji współczynnik zmienności (WZ) odpowiednio 0,6% i 6%; dla pól powierzchni poszczególnych pików 7% i 11%. Analiza wyizolowanych frakcji lipoprotein oraz surowic z dodatkiem wyizolowanych frakcji wykazała obecność 5 subpopulacji dla HDL, 2 lub 3 subpopulacji dla VLDL oraz 3 lub 4 subpopulacji dla IDL+LDL. Największą ruchliwość elektroforetyczną wykazywały HDL, pośrednią – VLDL, najmniejszą – IDL+LDL. Analiza korelacji wykonana dla 25 próbek wykazała związek między stężeniem cholesterolu HDL a polem powierzchni pików 1-5 ( $r=0,530$ ;  $p=0,006$ ), między stężeniem cholesterolu VLDL a polem powierzchni pików 6-7 ( $r=0,838$ ,  $p<0,0001$ ) oraz między stężeniem cholesterolu LDL a polem powierzchni pików 8-11 ( $r=0,4868$ ,  $p=0,014$ ).

Zastosowana metoda CITP umożliwia rozdział lipoprotein surowicy na subpopulacje i może stać się narzędziem do oceny zaburzeń lipoprotein surowicy oraz ich związku z rozwojem miażdżycy i chorób sercowo-naczyniowych.

Piśmiennictwo:

- [1] Schmitz G, Möllers C.: Analysis of lipoproteins with analytical capillary isotachopheresis. *Electrophoresis* 15: 31-39, 1994

Kontakt: rkowalski@gumed.edu.pl

## XBP1 jako czynnik transkrypcyjny biorący udział w kontroli specyficznych miRNA podczas UPR (Unfolded protein response)

**Aleksandra Sobolewska<sup>1</sup>, Anna Janaszak-Jasiecka<sup>2</sup>, Sylwia Bartoszevska<sup>3</sup>, Rafał Bartoszewski<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej

<sup>2</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej

<sup>3</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra Chemii Ogólnej i Nieorganicznej

<sup>4</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej

Zdolność organizmu człowieka do utrzymania homeostazy, mimo ciągłego narażenia na patogeny i niekorzystne czynniki środowiska jest kluczowa w adaptacji organizmu do środowiska. Jedną ze struktur stanowiących pierwszą linię obrony organizmu człowieka przed patogenami i niekorzystnymi czynnikami środowiska jest nabłonek płuc. Ciągłe narażenie nabłonka płuc na działanie czynników potencjalnie chorobotwórczych może prowadzić do zaburzenia homeostazy retikulum endoplazmatycznego (ER) i stresu w tym organellum. Konsekwencją stresu w ER jest aktywacja odpowiedzi na niezwinięte białka (UPR, *unfolded protein response*). UPR odgrywa kluczową rolę w adaptacji do warunków stresu zmniejszając ilości źle zwinionych białek w tym organellum i umożliwiając komórce przetrwanie [1]. W sytuacji niemożności przywrócenia homeostazy ER, UPR może również doprowadzić do śmierci komórki na drodze apoptozy. Zaburzenia w szlakach UPR w ludzkim nabłonku płuc są składową wielu chorób np. mukowiscydozy [2] i raka [3].

Jednym z głównych proadaptacyjnych czynników transkrypcyjnych zaangażowanych w przebieg UPR, jest XBP1 (*X-box binding protein 1*). Podczas UPR aktywna forma tego czynnika sXBP1 jest odpowiedzialna za zwiększenie ekspresji białek opiekuńczych, foldaz oraz innych składowych błony ER, przyczyniając się do zwiększenia jego rozmiaru i pojemności [4]. Nasze wcześniejsze badania wykazały, że mikroRNA kontrolowane przez sXBP1 nie zawsze są tożsame z identyfikowanymi podczas UPR. Sugeruje to, że profil miRNA ulega dynamicznym zmianom podczas przebiegu UPR i jest tylko częściowo kontrolowany przez czynniki transkrypcyjne właściwe dla tego szlaku komórkowego [5].

Celem mojej pracy jest określenie miRNA zależnych od aktywnego czynnika sXBP1 i wyjaśnienie roli jaką pełnią one w UPR. Opracowałam model badawczy pozwalającego na dynamiczną kontrolę poziomu sXBP1, w ludzkich komórkach płuc. Wykorzystując techniki inżynierii genetycznej wprowadziłam gen sXBP1 do plazmidu pTetOne uzyskując tym samym możliwość kontroli przebiegu i poziomu ekspresji tego czynnika z wykorzystaniem specyficznego induktora. W charakterze kontroli zastosowałam nieaktywną formę czynnika XBP1 (uXBP1). Dalsze prace będą miały na celu zbadanie konsekwencji dla profilu miRNA kontrolowanej akumulacji i redukcji XBP1 podczas stresu ER, z wykorzystaniem stabilnych linii komórkowych ludzkiego nabłonka płuc.

- [1] David Ron, Peter Walter (2007) Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol*
- [2] Carla Ribeiro, Richard Boucher (2010) Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Cystic Fibrosis-Related Airway Inflammatory Responses. *Proc Am Thorac Soc*
- [3] Sylwia Bartoszevska, Kinga Kochan i inni (2013) REGULATION OF THE UNFOLDED PROTEIN RESPONSE BY MICRORNAS. *Cell Mol Biol Lett*
- [4] Bommiasamy H, Back SH, Fagone P i inni (2009) ATF6alpha induces XBP1-independent expansion of the endoplasmic reticulum. *J Cell Sci*
- [5] Rafał Bartoszewski, Joseph W. Brewer i inni (2011) The Unfolded Protein Response (UPR)-activated Transcription Factor X-box-binding Protein 1 (XBP1) Induces MicroRNA-346 Expression That Targets the Human Antigen Peptide Transporter 1 (TAP1) mRNA and Governs Immune Regulatory Genes. *J Biol Chem*

Kontakt: [aleksandrasobolewska@gumed.edu.pl](mailto:aleksandrasobolewska@gumed.edu.pl)

## P2-21

# Znaczenie witaminy D w aspekcie zdrowia i jej oznaczanie metodą spektrometrii mas u pacjentów hemodializowanych

**Natalia Szupryczyńska<sup>1</sup>, Marcin Lipiński<sup>2</sup>, Zdzisław Kochan<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Zakład Biochemii Żywności, Katedra Żywności Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny*

<sup>2</sup>*Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny*

Obecnie bardzo dużo uwagi poświęca się witaminie D, jej plejotropowemu działaniu w organizmie ludzkim oraz funkcji jaką pełni w prewencji lub leczeniu różnych chorób. Wiele dyskusji toczy się wokół tego, czy niedobór tej witaminy jest skutkiem czy przyczyną powstawania schorzeń [1]. Nie podlega wątpliwości, że ilość witaminy D w całodziennych racjach pokarmowych jest zbyt niska [2], co jest jednym z powodów powstania obowiązujących rekomendacji suplementacji [3]. Aby wyodrębnić grupę pacjentów lub jednostki, które powinny być pod szczególną kontrolą, należy w dokładny sposób określić zawartość przynajmniej jednego metabolitu witaminy D – 25-OH-D<sub>3</sub> we krwi.

Czulą metodą wykorzystywaną w badaniach naukowych jest spektrometria mas [4]. Na potrzeby pracy badawczej przeprowadzono analizę prób krwi kilku zdrowych ochotników oraz grupy pilotażowej badania własnego, złożonej z 5 pacjentów ośrodka hemodializy w Gdańsku. Oznaczenia zostały przeprowadzone na spektrometrze masowym firmy SHIMADZU LCMS 8050 z systemem HPLC Nexera X2 na kolumnie Agilent Eclipse Plus C18, 1,8µm 2,1 x 100 mm. Oznaczono trzy przejścia jonowe dla 25-OH-D<sub>3</sub> w obecności standardu trytowanej D<sub>2</sub>. Materiał do badań uzyskano dodając do surowicy pacjenta mieszanekę metanolu z acetonitrylem oraz witaminę D<sub>2</sub>[H<sup>3</sup>]. Próbkę mieszano i wirowano, supernatant przeniesiono do osobnej fiolki i przeanalizowano.

Uzyskano wyniki, które w przypadku osób zdrowych wykazały niedobór witaminy D lub stężenie suboptymalne (wśród osób deklarujących suplementację) z niewielkimi różnicami w odniesieniu do wyników otrzymanych poprzez wykorzystanie komercyjnego testu ELISA. U pacjentów hemodializowanych, pomimo wdrożonego leczenia z powodu charakteru samego schorzenia, stężenie witaminy we krwi było deficytowe (poniżej 20 ng 25-OH-D<sub>3</sub>/ml).

Dopracowywanie metod oznaczania witaminy D i jej metabolitów (co jest dalszym krokiem w prowadzonym badaniu) pozwoli lepiej monitorować zawartość tejże witaminy wśród społeczeństwa oraz w wyodrębnionych grupach pacjentów. Dzięki temu i przywróceniu odpowiedniego poziomu witaminy D we krwi, możemy spodziewać się korzystnego wpływu na ich stan zdrowia, co potwierdzają aktualne doniesienia naukowe.

Piśmiennictwo:

- [1] M. J. Bolland: The effect of vitamin D supplementation on skeletal, vascular, or cancer outcomes: a trial sequential meta-analysis, *Lancet Diabetes Endo*, 2014, Vol. 2, No. 4, p. 307-320
- [2] Lebidzieńska A i in.: Ocena zawartości witaminy D w całodziennych racjach pokarmowych dorosłych Polaków, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2010, Vol. XLIII, No. 3, p. 255-259
- [3] P. Pludowski i in.: Practical guidelines for the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe - recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency. *Endokrynol Pol*, 2013, Vol. 64; No. 4, p. 319-327
- [4] M. J. Müller, D. A. Volmer: Mass Spectrometric Profiling of Vitamin D Metabolites beyond 25-Hydroxyvitamin D, *Clin Chem*, 2015, Vol. 61, No 8, p. 1033-1048

Kontakt: n.szupryczynska@gumed.edu.pl

## Rola i bezpieczeństwo stosowania wybranych filtrów promieniochronnych – przegląd literatury i analiza rynku kosmetycznego w Polsce

Paulina Kociałkowska<sup>1</sup>, Mateusz Seńcio<sup>1</sup>, Paulina Dąbrowska<sup>2</sup>, Paweł Hinc<sup>1</sup>, Katarzyna Kimel<sup>1</sup>, Zuzanna Krefft<sup>1</sup>, Bartosz Wielgomas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Substancje promieniochronne, popularnie nazywane filtrami UV, występują nie tylko w kosmetykach przeznaczonych wyłącznie do ochrony przeciwśłonecznej, ale także w dedykowanych do codziennej pielęgnacji np. fluidach, pomadkach, szamponach. Pomimo powszechnego stosowania, rekomendowanego przez organizacje takie jak Światowa Organizacja Zdrowia (WHO), pojawiają się publikacje ukazujące nieznane dotychczas działania uboczne substancji fotochronnych, głównie o charakterze alergicznym.

Uwzględniając prace opublikowane w ciągu ostatnich 15 lat zebrano informacje dotyczące mechanizmu działania filtrów, ich fotostabilności i toksyczności. Dodatkowo przedstawione zostały zasady bezpiecznego stosowania przez konsumentów. Przeanalizowano również składy 200 produktów kosmetycznych dostępnych w drogeriach, marketach i aptekach w Polsce.

Na rynku Unii Europejskiej dopuszczonych do stosowania jest 25 filtrów organicznych oraz 2 nieorganiczne. Najczęściej występującymi substancjami promieniochronnymi w kosmetykach dostępnych na polskim rynku są: butylometoksydibenzoilometan, 4-metoksycynamonian 2-etyloheksylu i oktokrylen. Analiza składów deklarowanych na opakowaniach wykazała, że nie wszystkie dopuszczone do stosowania filtry są używane przez producentów. Zazwyczaj stosowane są kombinacje kilku filtrów dla uzyskania szerszego spektrum ochrony przed promieniowaniem UV A i UV B. Filtry organiczne działają na zasadzie pochłaniania promieniowania UV, w wyniku czego mogą zachodzić zmiany fotochemiczne prowadzące do powstania produktów o działaniu m.in.: alergizującym. Ważnym problemem jest także zmniejszenie skuteczności ochrony, w wyniku ich przemian w czasie ekspozycji na światło słoneczne. Filtry nieorganiczne, stosowane jako nanocząsteczki, odbijają i rozpraszają promienie słoneczne. W związku z ich małym rozmiarem istnieje ryzyko przenikania do głębszych warstw skóry i do krwioobiegu [1, 2].

Filtry UV to najlepsza dotychczas poznana metoda ochrony przed promieniowaniem, jednak aby zwiększyć bezpieczeństwo konsumentów, należałoby kontynuować badania uwzględniające fotostabilność związków organicznych i monitorować potencjalne działania toksyczne.

Piśmiennictwo:

- [1] Kockler, J., Oelgemöller, M., Robertson, S., & Glass, B. D. (2012). Photostability of sunscreens. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 13(1), 91–110.
- [2] Nash, J. F., & Tanner, P. R. (2014). Relevance of UV filter/sunscreen product photostability to human safety. *Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine*, 30(2–3), 88–95.

Kontakt: p.kocialkowska@gumed.edu.pl

## Identyfikacja produktów reakcji elektrochemicznego utleniania 2-[4-(dietyloamino)-2-hydroksybenzoilo]benzoesu heksylu (DHBB) za pomocą techniki ESI-MS/MS

**Paulina Dąbrowska<sup>1</sup>, Anna Buczkowska<sup>2</sup>, Szymon Dziomba<sup>1</sup>, Łukasz Guzik<sup>2</sup>, Bartosz Wielgomas<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Laboratorium Analiz Chemicznych Spark-Lab, Aleja Zwycięstwa 96/98, 81-451 Gdynia, Polska

DHBB jest stosowany w stężeniu nieprzekraczającym 10% w kosmetykach jako filtr chroniący przed szkodliwym działaniem promieniowania UV, uznany przez Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) za bezpieczny dla konsumentów, ale żadne z dostępnych obecnie badań nie podejmuje próby poznania biotransformacji tego związku. Poszukiwanie alternatywnych metod badania biotransformacji ksenobiotyków jest bardzo pożądane, ze względu na możliwość zmniejszenia liczby zwierząt doświadczalnych wykorzystywanych w badanych biomedycznych, co jest zgodne z zasadą 3R. Jednym z takich rozwiązań jest zastosowanie reaktora elektrochemicznego do naśladowania reakcji metabolicznych tzw. pierwszej fazy, stanowiąc szybką i uzupełniającą metodę badawczą w stosunku do tradycyjnych modeli *in vitro* czy *in vivo* [1,2]. Pozwala ponadto na identyfikację wysoce reaktywnych metabolitów, co nie zawsze jest możliwe innymi metodami.

DHBB poddano reakcjom elektrochemicznego utleniania za pomocą reaktora elektrochemicznego ROXY™  $\mu$ -Prep Cell (Antec, Holandia) na elektrodzie z węgla szklanego (glassy carbon – GC) o dużej powierzchni roboczej, połączonego on-line ze spektrometrem mas ESI-MS/MS. Roztwór 20  $\mu$ M DHBB w mieszaninie 50:50 (v/v) acetonitryl:bufor wodny o pH 2,9 wprowadzono do reaktora przy pomocy pompy strzykawkowej z prędkością 10  $\mu$ l/min a eulat z reaktora trafiał bezpośrednio do układu ESI-MS/MS. Testowano potencjał elektrody w zakresie 0-1000 mV. Ponadto zbadano zdolność tworzenia połączeń powstających produktów ze zredukowanym glutationem (GSH) i N-acetylocysteiną (NAC).

Zaobserwowano trzy główne produkty, powstające prawdopodobnie w wyniku utleniania oraz N-deetylacji. Podobny profil produktów obserwowano podczas badań degradacji DHBB w obecności H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV [4]. W niniejszej pracy zaproponowano także struktury dwóch pobocznych produktów reakcji. Niektóre z powstających związków wykazywały reaktywność wobec GSH i NAC.

Uzyskane wyniki stanowią wstęp do dalszych, komplementarnych badań z wykorzystaniem mikrosomów szczurzych i ludzkich.

Autorzy składają podziękowania firmie Shim-Pol za udostępnienie reaktora elektrochemicznego ROXY™.

Piśmiennictwo:

- [1] Diehl G, Karst U. On-line electrochemistry--MS and related techniques. *Anal Bioanal Chem.* 2002 Jul;373(6):390-8.
- [2] Baumann A, Karst U. Online electrochemistry/mass spectrometry in drug metabolism studies: principles and applications. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2010 Jun;6(6):715-31.
- [3] Gong P, Yuan H, Zhai P, Dong W. Degradation of organic ultraviolet filter diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate in aqueous solution by UV / H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. 2015:10189-10195.

Kontakt: paulina\_dabr@gumed.edu.pl

## Białaczka typu BCP-ALL u pacjentów pediatrycznych w podejściu biomarkerowym w odniesieniu do czynników ryzyka

**Aleksandra Gramann<sup>1</sup>, Marcin Muża<sup>1</sup>, Lucyna Konieczna<sup>2</sup>, Maciej Niedźwiecki<sup>3</sup>, Elżbieta Adamkiewicz-Drożyńska<sup>3</sup>, Tomasz Bączek<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>SKN przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed,

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej GUMed

<sup>3</sup>Klinika Pediatrii, Hematologii i Endokrynologii UCK/GUMed

Białaczka jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym u pacjentów pediatrycznych z największą zachorowalnością pomiędzy 2. a 5. rokiem życia. Istnieje kilka podtypów tego nowotworu. Najczęstsza u dzieci jest ostra białaczka limfoblastyczna (ALL). Pomimo znacznych postępów w diagnostyce i leczeniu tej choroby, prawie 20 % chorych umiera w trakcie leczenia lub obserwuje się u nich nawroty, także podczas leczenia konsolidacyjnego [1]. Chorzy podlegają leczeniu zgodnie z różnymi protokołami w zależności od zakwalifikowania pacjenta do odpowiedniej grupy ryzyka. Podczas stawiania diagnozy bierze się pod uwagę między innymi: poziom limfocytów we krwi, zmiany w genotypie komórek nowotworowych oraz wiek pacjenta [2].

Ostateczna diagnoza białaczki oparta jest na wynikach badania płynu mózgowo-rdzeniowego, pobieranego za pomocą punkcji lędźwiowej. Nakłucie lędźwiowe jest zabiegiem inwazyjnym i nieprzyjemnym dla pacjenta, dlatego wciąż poszukuje się nowych biomarkerów, które umożliwiłyby ocenę skuteczności zastosowanej terapii i oszacowanie rokowania. Współczesna medycyna dąży do zindywidualizowania terapii. Pacjent pediatryczny jest szczególnie narażony na negatywne skutki stosowanego leczenia, gdyż leki cytostatyczne zaburzą rozwój młodego organizmu. Medycyna spersonalizowana dąży się do sytuacji, w której pacjenci dobrze odpowiadający na leczenie nie otrzymywaliby niepotrzebnie dużych dawek chemioterapeutyków. Natomiast leczenie w przypadku gorzej rokujących pacjentów w uzasadnionych przypadkach powinno być bardziej agresywne [2].

W naszych badaniach skupiamy się na grupie dzieci cierpiących na ostrą białaczkę limfoblastyczną B-komórkową (BCP-ALL). Jednym z leków stosowanych w terapii tych pacjentów zgodnie z protokołem 1A, jest L-asparaginaza, która wpływa na gospodarkę aminokwasową organizmu. Prezentujemy wyniki badań porównujących stężenia aminokwasów w różnych płynach ustrojowych (płyn mózgowo-rdzeniowy, krew, mocz) przed i w trakcie leczenia. Poziomy niektórych L-aminokwasów wykazują istotne statystycznie różnice na poszczególnych etapach terapii oraz w porównaniu z grupą kontrolną. Podjęto próbę wykazania korelacji pomiędzy poziomem wybranych aminokwasów a czynnikami ryzyka białaczki typu ALL.

Piśmiennictwo:

- [1] Pui, C. -, Robison, L. L., & Look, A. T. (2008). Acute lymphoblastic leukaemia. *The Lancet*, 371(9617), 1030-1043.
- [2] U. Radwańska. Białaczki u dzieci, Volumed, Wrocław, 1998

Kontakt: [aleksandra.gramann@gmail.com](mailto:aleksandra.gramann@gmail.com); [lkon@gumed.edu.pl](mailto:lkon@gumed.edu.pl)

## Przygotowanie próbek biologicznych do analizy LC-MS z zastosowaniem różnych technik ekstrakcji i mikroekstrakcji jako istotny etap strategii analitycznych

**Katarzyna Amenda<sup>1</sup>, Marta Galewska<sup>1</sup>, Anna Krawczyńska<sup>1</sup>, Natalia Treder<sup>1</sup>, Adrianna Żrubek<sup>1</sup>, Monika Żukowicz<sup>1</sup>, Lucyna Konieczna<sup>2</sup>, Tomasz Bączek<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>SKN przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed,

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej GUMed

Poszukiwanie markerów w próbkach biologicznych jest wyzwaniem dla analityka ze względu na złożoność matrycy i obecność substancji przeszkadzających. Współczesne techniki analityczne oparte na chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS) wymagają właściwego przygotowania próbek do analizy. Etap poprzedzający rozdzielanie chromatograficzne jest często skomplikowany oraz czaso- i praco-chłonny. Dlatego w ramach prac naszego Koła Naukowego podjęto się trudnego zadania opracowania procedur przygotowania próbek biologicznych takich jak płyn mózgowo-rdzeniowy, ślina, osocze krwi ludzkiej, mocz czy płyn pęcherzykowy, a następnie przeprowadzenie analizy celowanej techniką LC-MS.

Obecnie, spośród znanych technik ekstrakcji takich jak ekstrakcja ciecz-ciecz (liquid-liquid extraction, LLE), ekstrakcja do fazy stałej (solid-phase extraction, SPE) coraz większe znaczenie zyskują metody w skali mikro-, zwłaszcza mikroekstrakcja do fazy stałej (Solid Phase Microextraction, SPME) czy dyspersyjna mikroekstrakcja ciecz-ciecz (Dispersive Liquid-Liquid Microextraction, DLLME) [1,2]. Techniki te pozwalają na izolację, oczyszczenie i wzbogacenie analitów z próbek biologicznych, ograniczenie zużycia toksycznych rozpuszczalników organicznych, co jest zgodne z zasadami zielonej chemii. Na podkreślenie zasługuje dążenie do miniaturyzacji poprzez zminimalizowanie objętości użytego materiału pobranego od osoby chorej do 100 i 50  $\mu$ L, co jest wymierną korzyścią dla pacjenta, zwłaszcza pediatrycznego [2].

Takie podejście wpisuje się w aktualne trendy nowoczesnej analityki [1,2]. Dalsza analiza jakościowa i ilościowa wyekstrahowanych z matrycy biologicznej związków być może w przyszłości pozwoli na wskazanie ich jako charakterystycznych biomarkerów dla danej jednostki chorobowej.

Piśmiennictwo:

- [1] J. Pawliszyn, Handbook of Solid Phase Microextraction Chemical Industry Press of China, 2009, 406 pp.
- [2] L. Konieczna, A. Roszkowska, M. Niedźwiecki, T. Bączek, Hydrophilic interaction chromatography combined with dispersive liquid-liquid microextraction as a preconcentration tool for the simultaneous determination of the panel of underivatized neurotransmitters in human urine sample, *J. Chromatogr. A.* 1431 (2016) 111-112.

Kontakt: k.amenda@gumed.edu.pl; lkon@gumed.edu.pl

## Badania kompatybilności cyprofloksacyny z mieszaninami do żywienia pozajelitowego

Aleksandra Kordyla<sup>1</sup>, Aleksandra Gostyńska<sup>1,2</sup>, Rafał Olijarczyk<sup>1,2</sup>, Maciej Stawny<sup>1</sup>, Katarzyna Dettlaff<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań

<sup>2</sup>Apteka Szpitala Klinicznego im. Heliodora Świącickiego UM, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

Cyprofloksacyna należy do fluorochinolonów II generacji, jest często stosowana w zakażeniach układu moczowego, dolnych dróg oddechowych, w zapaleniu zatok oraz w przewlekłych ropnych infekcjach ucha środkowego. Wskazaniem do jej zastosowania są także zakażenia układu pokarmowego, kości, stawów, skóry, tkanek miękkich oraz jako profilaktyka i leczenie węglika. Podawana jest drogą doustną, miejscowo (krople do oczu i uszu), a także dożylnie (roztwór do infuzji 0,2 g/100 ml). Możliwość podawania cyprofloksacyny pacjentom żywionym pozajelitowo w mieszaninach *All in One* (AIO) zmniejszyłaby liczbę manipulacji przy dostępie żylnym, co obniżyłoby ryzyko zakażeń, ponadto pozwoliłoby uniknąć nadmiernej podaży sodu oraz przewodnienia pacjenta.

Celem pracy było określenie kompatybilności cyprofloksacyny w mieszaninach do żywienia pozajelitowego. Trwałość badanego fluorochinolonu określono w trzech różnych warunkach przechowywania: w warunkach chłodniczych (2-8 °C) bez dostępu światła dziennego oraz w temperaturze 25 °C bez i z dostępem światła. Badanie prowadzono przez kolejnych siedem dni, rozpoczynając bezpośrednio po dodaniu leku do mieszaniny żywieniowej. Realizacja założonego celu obejmowała opracowanie i walidację oznaczania cyprofloksacyny metodą HPLC w mieszaninach do żywienia pozajelitowego, a następnie wykorzystanie tej metody do badania zmian zawartości badanego leku w czasie przechowywania. Równolegle prowadzono badania wielkości cząstek emulsji tłuszczowej (metodą DLS), potencjału zeta oraz pomiary pH mieszaniny.

Uzyskane wyniki pozwoliły na stwierdzenie, że w temperaturze 2-8 °C oraz w 25 °C bez dostępu światła cyprofloksacyna w mieszaninie żywieniowej ma odpowiednią trwałość podczas 7 dni przechowywania. W mieszaninie przechowywanej w temperaturze 25 °C z dostępem światła akceptowalna zawartość leku ( $\geq 90\%$ ) była obserwowana tylko do 5 dnia eksperymentu. Cząstki emulsji tłuszczowej analizowanych mieszanin AIO miały średnią wielkość około 0,3  $\mu\text{m}$  i nie zmieniły się istotnie po dodaniu leku. Podczas przechowywania we wszystkich warunkach mieszaniny z lekiem były trwałe, nie obserwowano zmiany koloru, rozwarstwienia czy sedymentacji. W żadnej z badanych mieszanin nie stwierdzono cząstek o wielkości przekraczającej 5  $\mu\text{m}$ .

Dodanie do mieszanin żywieniowych badanego chemioterapeutyku spowodowało obniżenie ich pH z 6,21 do 6,07, a najmniejsze wahanie wartości pH w porównaniu z mieszaniną bez leku przechowywaną w tych samych warunkach zaobserwowano dla mieszaniny przechowywanej w warunkach chłodniczych.

Na podstawie wyników analizy parametrów fizycznych oraz oceny zawartości leku można stwierdzić, że cyprofloksacyna wykazuje odpowiednią trwałość w mieszaninach żywieniowych przechowywanych w warunkach chłodniczych i lek ten może być bezpiecznie dodawany do mieszanin AIO o badanym składzie. Przechowywanie mieszanin w temperaturze pokojowej obniża ich trwałość, a dostęp światła przyspiesza rozkład leku w tym medium.

Badania były finansowane z projektu SONATA Narodowego Centrum Nauki numer 2015/17/D/NZ7/00792.

Kontakt: dettlaff@ump.edu.pl



## P2-27

### Analiza składu mineralnego żywności pochodzenia naturalnego

**Marika Dudzicz<sup>1</sup>, Małgorzata Misztal-Szkudlińska<sup>2</sup> Piotr Szefer<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny

Obecnie nastąpił wzrost świadomości konsumentów pod względem jakości i bezpieczeństwa żywności. Poszukują oni pokarmu bez konserwantów, sztucznych barwników i dodatków mogących mieć negatywny wpływ na zdrowie. Powszechnie uważa się, że żywność pochodzenia naturalnego jest zdrowsza od przetworzonej. Dzikizyna, czyli mięso pochodzące od zwierząt łownych, w tym również ptaków, ceniona jest przede wszystkim ze względu na niską zawartość tłuszczów. Zalecana jest w diecie osób z zespołem metabolicznym, nadciśnieniem czy miażdżycą.

Składniki mineralne spełniają ważną rolę w żywieniu człowieka. Są materiałem budulcowym, uczestniczą w procesach metabolicznych, utrzymują prawidłową gospodarkę wodno-elektrolitową, równowagę kwasowo-zasadową i wiele innych. Zaliczamy je do egzogennych składników żywności, dlatego tak ważne jest ich właściwe dostarczenie wraz z dietą.

Celem pracy była analiza składu mineralnego tkanki mięśniowej ptaka łownego, tj. łyski zwyczajnej (*Fulica atra*), pochodzącej z okolic Zalewu Wiślanego. Materiał badawczy pobrano od 51. osobników, następnie poddano go liofilizacji, homogenizacji i mineralizacji. Pierwiastki oznaczano za pomocą atomowej spektroskopii absorpcyjnej techniką płomieniową. W celu walidacji wybranej metody analitycznej oznaczeniu poddano dwa certyfikowane materiały odniesienia: BCR-063R oraz NCZ ZC73016 uzyskując zadowalające odzyski.

Otrzymane średnie stężenia analizowanych pierwiastków można uszeregować w następujący sposób:

- największe stężenie stwierdzono dla potasu  $286 \pm 26,8$  mg/100 g mokrej masy mięsa
- dla sodu  $71,7 \pm 15,0$  mg/100 g m.m.
- dla magnezu  $24,4 \pm 2,37$  mg/100 g m.m.
- dla żelaza  $9,11 \pm 2,90$  mg/100 g m.m.
- dla wapnia  $1,97 \pm 0,969$  mg/100 g m.m.
- dla miedzi  $1,49 \pm 0,448$  mg/100 g m.m.
- dla cynku  $1,08 \pm 0,286$  mg/100 g m.m.
- najmniejsze stężenie stwierdzono dla manganu  $0,045 \pm 0,031$  mg/100 g m.m.

Statystyczna analiza danych wykazała istotne korelacje Spearmana pomiędzy następującymi parami pierwiastków: Na i Mg, Cu i Fe, Mg i Fe, Mn i Fe, K i Ca, K i Mg, Cu i Mn oraz Na i Ca.

W porównaniu z normami żywieniowymi dla populacji Polski [1] oznaczany materiał cechował się wysoką zawartością miedzi i żelaza; 100 g mięsa spełnia 165% zapotrzebowania dziennego (RDA) na miedź, 50% na żelazo dla kobiet i 91% dla mężczyzn. Badana dzikizyna odznaczała się również wyższą zawartością żelaza w porównaniu do innych gatunków mięs. Niepokojące wydają się być podwyższone poziomy miedzi i cynku w tkance mięśniowej łysiek pochodzących z okolic Zalewu Wiślanego w stosunku do południowych rejonów Polski.

Piśmiennictwo:

- [1] Jarosz M. (2012). Normy żywienia dla populacji polskiej – nowelizacja. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa.

Kontakt: mczacharowska@gumed.edu.pl

## Dystrybucja fosfatydylocholinę do międzyfazy i fazy liposomalno-micelarnej emulsji submikronowych stabilizowanych fosfolipidami

**Dorota Wątróbska-Świetlikowska<sup>1</sup>, Magdalena Przybyło<sup>2</sup>, Jan Procek<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Katedra Farmacji Stosowanej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Al. Hallera 107, 80-416 Gdańsk*

<sup>2</sup>*Katedra Inżynierii Biomedycznej, Politechnika Wrocławska, pl. Grunwaldzkiej 13, 50-377 Wrocław*

Lecytyna, składająca się w 80-90% z fosfatydylocholinę (PC), jest jedynym, biogodnym emulgatorem, przeznaczonym do podania pozajelitowego, mającym zastosowanie kliniczne (emulsje submikronowe). Znajomość struktury wewnętrznej tych układów jest niezbędna dla określania właściwości solubilizacyjnych. Celem badań było określenie wpływu rodzaju fosfolipidu i jego stężenia na dystrybucję fosfatydylocholinę (PC) do fazy liposomalno-micelarnej oraz pozbawionej nanostruktur fazy wodnej emulsji submikronowych.

Emulsje sporządzono wg standardowej metody z wykorzystaniem homogenizacji wysokociśnieniowej. Emulsje zawierały 10% oleju sojowego oraz 1,2% lecytyny jajowej, sojowej, naturalnej lub uwodornionej fosfatydylocholinę jajowej, sojowej lub dipalityloglicerolofosfatydylocholinę. Analiza fizykochemiczna sporządzonych emulsji obejmowała: pomiaru wielkości kropli fazy olejowej, potencjału zeta, pH, obserwacji mikroskopowych. Rozdział faz uzyskano stosując ultrawirowanie 50000 obr./min (fazę liposomalno-micelarną, uw), a następnie ultrafiltrację (100 kDa) – fazę pozbawioną nanostruktur (uf). Analiza ilościową PC w fazie uw i uf prowadzono we Współpracy z Politechniką Wrocławską, metodą HPG HPLC (Knauer, Germany) używając kolumny LiChrospher 100-5 Diol (125x4.0 mm) oraz prekolumny C18 (Knauer, Germany) oraz detektora ELSD (Alltech ELSD 3300, Grace, IL, USA) o długości fali 650 nm. Gradientowa faza ruchoma stanowił: n-hexan:IPA (79,23:20,76 m/m, faza A) oraz IPA:woda (82,91:17,08 m/m, faza B).

W zależności od rodzaju fosfolipidu uzyskano emulsje submikronowe (poniżej 1µm) lub tradycyjne (powyżej 1 µm). Stabilne emulsje submikronowe charakteryzowały się wielkością kropli fazy olejowej około 300 nm ( $d_{90}$  650 nm, Z-average 230 nm, PDI 0,150). Emulsje stabilizowane lecytyną jajową (5%, m/m) oraz PC jajową (1,2% m/m) miały większą wielkość kropli ( $d_{50}$  0,8 µm;  $d_{90}$  1,16 µm, Z-average 320, PDI 0,450). Natomiast stosując uwodornione PC nie uzyskano trwałych emulsji ( $d_{50}$  2,2 µm;  $d_{90}$  3,8 µm, Z-average 290 nm, PDI 0,450, potencjał zeta -15 mV). pH sporządzonych emulsji było w zakresie 6,8-7,8. Najbardziej ujemnym potencjałem zeta charakteryzowała się emulsja stabilizowana lecytyną jajową (-45 mV), a najmniej ujemnym – emulsja stabilizowana syntetyczną PC (-10 mV).

Półowa z teoretycznej zawartości PC uległa dystrybucji do fazy liposomalno-micelarnej w emulsjach stabilizowanych lecytyną jajową oraz PC, natomiast w emulsjach zawierających lecytyną sojową i uwodornioną PC jajową aż 60-80% PC było w fazie liposomalno-micelarnej. Zawartość PC w fazie wodnej pozbawionej nanostruktur wynosiła zaledwie 4% i uległa zwiększeniu do 5% wraz ze wzrostem początkowego stężenia lecytyny w emulsjach.

Stwierdzono, że przynajmniej 40% PC obecnej w emulsjach nie ulega dystrybucji do międzyfazy, tylko tworzy aglomeratów w fazie wodnej. Nie stwierdzono zależności pomiędzy trwałością emulsji a dystrybucją PC pomiędzy fazy emulsji.

Badania wykonano w ramach grantu NCN nr 6684/B/P01/2011/40.

Kontakt: [dwatro@gumed.edu.pl](mailto:dwatro@gumed.edu.pl)

## Badanie wpływu triazynowych analogów iperytu azotowego na proliferację komórek raka sutka MCF-7 i MDA-MB-231

Ewelina Budacz<sup>1</sup>, Agnieszka Wróbel<sup>1</sup>, Małgorzata Rusak<sup>2</sup>, Beata Kolesińska<sup>3</sup>, Zbigniew J. Kamiński<sup>3</sup>,  
Danuta Drozdowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Chemii Organicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku,

<sup>2</sup>Zakład Diagnostyki hematologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku,

<sup>3</sup>Instytut Chemii Organicznej, Politechnika Łódzka

Pochodne iperytu azotowego, pomimo swojej wysokiej toksyczności ogólnej, stanowią jedną z podstawowych grup leków stosowanych w terapii przeciwnowotworowej. Związki takie jak mechloretamina, chlorambucyl, cyklofosfamid, melfalan są z powodzeniem stosowane w leczeniu chłoniaka (lymphoma), białaczki (leukemia), szpiczaka mnogiego (multiple myeloma) czy raka jajnika (ovarian carcinoma). Aktywność przeciwnowotworowa iperytów związana jest z ich zdolnością do alkilowania obu łańcuchów DNA, co jeśli nie zostanie naprawione prowadzi do zatrzymania cyklu podziału komórkowego, apoptozy i w efekcie zahamowania wzrostu guza [1]. Poszukiwania nowych analogów iperytu azotowego są kontynuowane i doprowadziły do znaczącego rozszerzenia listy leków o działaniu alkilującym i coraz wyższej selektywności i skuteczności farmakologicznej.

Nowymi związkami o aktywności przeciwnowotworowej są pochodne melaminy. Fragment melaminowy jest obecny w związkach będących inhibitorami całego szeregu enzymów zaangażowanych w proces transkrypcji i translacji. Główną wspólną cechą tych związków jest obecność pierścienia triazynowego, podstawionego najczęściej grupami alkilo-(arylo-) aminowymi.

Pochodne triazynowe zawierające jedną, dwie lub trzy grupy 2-chloroetyloaminowe wykazały działanie alkilujące [2] oraz aktywność cytostatyczną przewyższającą w sprzyjających przypadkach chlorambucyl, użyty w badaniach jako związek modelowy [3]. Alkilo(arylo)amino- pochodne iperytowe 1,3,5-triazyny były także syntezowane. Najbardziej aktywne były triazynowe pochodne fenyloaminy i/lub p-toluidyny [4].

Prezentowana praca przedstawia wynik badania wpływu peptydowych pochodnych triazyny zawierających fragment 2-chloroetyloaminowy na proliferację raka sutka MCF-7 i MDA-MB-231.

Piśmiennictwo:

- [1] Steinhilber D., Schubert-Zsilavec M., Roth H.J. *Chemia medyczna*, MedPharm Polska, Wrocław 2012, 477-481.
- [2] Kolesińska B., Drozdowska D., Kamiński Z.J., The new analogues of nitrogen mustard with one, two or three 2-chloroethylamino fragments. Reactions with nucleophiles, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2008, 65, 709-714.
- [3] Kolesińska B., Barszcz K., Kamiński Z.J., Drozdowska D., Wietrzyk J., Świtalska M. Synthesis and cytotoxicity studies of bifunctional hybrids of nitrogen mustards with potential enzymes inhibitors based on melamine framework. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2012, 27, 619-627.
- [4] Frączyk J., Kolesińska B., Świąntek M., Lipinski W., Drozdowska D., Kaminski Z.J. Synthesis of arylamino-1,3,5-triazines functionalized with alkylated 2-chloroethylamine fragments and studies of their cytotoxicity on the breast cancer MCF-7 cell line. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2016, 16, 1435-1444.

Kontakt: e.budacz@gmail.com



## INDEKS NAZWISK

Adamkiewicz-Drożyńska Elżbieta.....	101	Fedorowicz Joanna.....	73
Adrych K.....	25	Fijałkowska Aleksandra.....	68
Amenda Katarzyna.....	102	Fijałkowski M.....	76
Andrzejewska I.....	49	Foks Henryk.....	30
Antosiewicz J.....	74	Franczuk Martyna.....	83, 89
Arystanova Tanagul.....	12, 77	Frąckowiak Teresa.....	50
Augustynowicz-Kopec Ewa.....	30	Gabryś K.....	49
Balaysac Stéphane.....	86	Gadzała -Kopciuch Renata.....	19
Balewski Łukasz.....	46	Galewska Marta.....	102
Bartkowska-Śniatkowska Alicja.....	37	Gdaniec Maria.....	46
Bartosińska Ewa.....	38	Gębicki Jacek.....	33
Bartoszevska Sylwia.....	22, 80, 97	Gilard Véronique.....	86
Bartoszewski Rafał.....	22, 63, 80, 97	Gliwińska Anna.....	49, 61, 70, 76
Bączek Tomasz.....	27, 31, 34, 79, 93, 101, 102	Gładys K.....	25
Bednarczuk Gabriela.....	68	Gmiat A.....	74
Bednarski Patrick J.....	46, 63	Gnitecki Mateusz.....	68
Bednarz Adrianna.....	39	Gobis Katarzyna.....	30
Belka Mariusz.....	27, 79	Godlewska Sylwia.....	64
Bienert Agnieszka.....	37	Gostyńska Aleksandra.....	87, 92, 94, 95, 103
Bienias Marianna.....	65	Gramann Aleksandra.....	101
Bładowska P.....	49	Granica Sebastian.....	58, 69
Boblewski Konrad.....	57	Greber Katarzyna.....	52
Bojanowski Krzysztof.....	30	Grochocki Wojciech.....	85
Bola Magdalena.....	55	Gruchala M.....	76
Borsuk Agnieszka.....	37, 38	Gutknecht Piotr.....	86
Buczkowska Anna.....	100	Guzek M.....	25
Budacz Ewelina.....	45, 106	Guzik Łukasz.....	100
Bujak Renata.....	84, 86	Gzella Karol.....	63
Buszewska-Forajta Magdalena.....	29, 85	Haffke A.....	49
Buszewski Bogusław.....	19	Halasa Rafał.....	65
Cackowska Monika.....	61, 70	Hinc Paweł.....	99
Cechowska-Pasko Marzanna.....	51, 90	Inkielewicz-Stępnia Iwona.....	67
Celmer P.....	49	Jacyna Julia.....	38, 86
Chojnacki Jarosław.....	34	Janaszak-Jasiecka Anna.....	22, 97
Cichocki A.....	49	Janicka-Kłos Anna.....	91
Collawn James F.....	22	Jankowska Marietta.....	56
Czarnobaj Katarzyna.....	53	Jankowski Maciej.....	49, 61, 70, 74, 76, 96
Czumaj Aleksandra.....	54	Jankowski Zbigniew.....	38
Ćwiklińska Agnieszka.....	49, 61, 68, 70, 74, 76, 96	Jatkowska P.....	49
D'Orazio Giovanni.....	18	Jelińska Anna.....	87, 94, 95
Dadej Adrianna.....	87	Jońca Joanna.....	83
Daghir-Wojtkowiak Emilia.....	42	Kaliszan Michał.....	38
Danielkiewicz A.....	49	Kaliszan Roman.....	29, 42, 50, 84, 86
Dawid P.....	49	Kamiński Zbigniew J.....	106
Dąbkowski A.....	49	Kamysz Wojciech.....	33, 62, 81
Dąbkowski Kamil.....	49, 61, 70, 74, 76, 96	Kapusta K.....	49
Dąbrowska H.....	49	Kawczak Piotr.....	79
Dąbrowska M.....	49	Kawiak Anna.....	27, 34, 41
Dąbrowska Paulina.....	44, 99, 100	Kędzia Anna.....	41
Dettlaff Katarzyna.....	103	Kimel Katarzyna.....	99
Drozdowska Danuta.....	45, 106	Kiss Anna K.....	58, 69
Dudzicz Marika.....	104	Klimowska Anna.....	39, 44
Dulińska Aleksandra.....	75	Kochan Zdzisław.....	25, 98
Dumska Anna.....	94	Kochan-Jamrozy Kinga.....	80
Dyś Aleksandra.....	57	Kociałkowska Paulina.....	99
Dzierzbicka Krystyna.....	32	Kokotkiewicz Adam.....	36
Dziomba Szymon.....	44, 100	Kolesińska Beata.....	106
Fanali Chiara.....	18	Konieczna Lucyna.....	101, 102
Fanali Salvatore.....	18	Konopacka Agnieszka.....	88

Korczyk Martyna.....	63	Namięśnik Jacek.....	20
Kordalewska Marta.....	84	Napiórkowska Agnieszka.....	30
Kordyla Aleksandra.....	103	Nasal Antoni.....	50
Kornicka Anita.....	50, 63	Naumowicz Monika.....	43, 59, 60
Koronkiewicz Małgorzata.....	49, 83, 89	Neubauer Damian.....	62
Korotkov Vladimir.....	47	Niedźwiecki Maciej.....	101
Kortas J.....	74	Niska Wioleta.....	88
Kortas-Stempak Barbara.....	49, 61, 68, 70, 76	Nowak E.....	49
Kotłowska Hanna.....	82	Nowicki Łukasz.....	35
Kowalik Tomasz.....	75	Ochocka Renata J.....	22, 64
Kowalski Piotr.....	93	Oleksy Monika.....	78
Kowalski Robert.....	68, 70, 76, 96	Olędzka Ilona.....	93
Krause Malwina.....	30	Olijarczyk Rafał.....	95, 103
Krauze-Baranowska Mirosława.....	36, 64, 65, 66, 67	Ordabayeva Saule.....	12, 47, 77
Krawczyńska Anna.....	102	Orłowska Małgorzata.....	83, 89
Kreff Zuzanna.....	99	Parzych Emilia.....	49, 83, 89
Krenczkowska Dominika.....	71	Patejko Małgorzata.....	29, 84, 86
Kriegel Natalia.....	83	Patsayev A.K.....	24
Król Ewa.....	61, 70	Pawelec Aleksandra.....	44
Król-Kogus Barbara.....	64, 65	Pieńkowska Krystyna.....	52
Kruszewski Marcin.....	43, 51, 59, 60, 90	Pikuła Michał.....	32
Kruszewski Wiesław.....	38	Pilarska K.....	49
Krzykowski Adam.....	63	Piskunowicz Marta.....	44
Kubik Łukasz.....	26	Piowarski Jakub P.....	58, 69
Kucherbayev K.Dj.....	24	Plenis Alina.....	93
Kuchta Agnieszka.....	49, 61, 70, 74, 76	Plawska K.....	49
Kukier M.....	49	Pobłocka-Olech Loretta.....	66, 67
Kukowska Monika.....	32	Pogorzelska Aneta.....	27, 34
Kuriata Elżbieta.....	40	Polański Szymon.....	87
Kusaczuk Magdalena.....	51, 90	Popielarz-Brzezińska Maria.....	87, 94
Kwapisz Ewa.....	41	Prahl Adam.....	44
Labudda Sandra.....	49, 74	Prędkiewicz Natalia.....	36
Lebiedzińska Anna.....	28	Procek Jan.....	105
Lehmann Artur.....	57	Prokopowicz Magdalena.....	53, 72
Lejnowski Dawid.....	80	Prusik K.....	74
Lewandowska O.....	49	Prusik Ka.....	74
Lewandowski Krzysztof.....	68, 96	Przybyło Magdalena.....	105
Lewko Barbara.....	57, 75	Pućkowska Anna.....	45
Lipiński Marcin.....	98	Raczak-Gutknecht Joanna.....	29, 50
Lisowska Klaudia.....	92	Raczewicz Justyna.....	49, 83
Lizakowski Marcin.....	68	Rekowska Natalia.....	93
Lodyga-Chruścińska Elżbieta.....	78	Rokicka A.....	49
Łuczkiwicz Maria.....	36	Rusak Małgorzata.....	106
Macioszek Szymon.....	85	Rybczyńska Apolonia.....	57
Macur Katarzyna.....	93	Rzewnicka Justyna.....	73
Makhatov B.K.....	24	Sadokierski Adam.....	55
Malet-Martino Myriam.....	86	Sawicka Aleksandra.....	86
Manuszewska Anna.....	49, 83, 89	Sawicki Wiesław.....	40, 52, 53, 72
Marchwińska Aleksandra.....	57	Sączewski Franciszek.....	21, 46, 50, 63
Markuszewski Marcin.....	29, 84, 85, 86	Sączewski Jarosław.....	73
Markuszewski Michał J.....	29, 42, 84, 85, 86	Schumacher Adriana.....	32
Matera-Witkiewicz Agnieszka.....	78	Seńcio Mateusz.....	99
Matuszewski Marcin.....	29, 84, 85, 86	Siebert Janusz.....	86
Mazurowska Aneta.....	49, 83, 89	Sieniawska Emilia.....	73
Michalak Barbara.....	58	Sikora Karol.....	62
Mickiewicz A.....	76	Siluk Danuta.....	38
Migas Piotr.....	36, 66	Sinkiewicz K.....	49
Migoń Dorian.....	81	Sionek K.....	49
Misztal-Szkodlińska Małgorzata.....	55, 104	Skwira Adrianna.....	56
Mojsiewicz- Pięnkowska Krystyna.....	71	Sławiński Jarosław.....	27, 34, 41
Muza Marcin.....	101	Sobolewska Aleksandra.....	97
Nagel P.....	49	Stachowicz Marta.....	28

Stachowska Ewa.....	71	Tomczak Szymon .....	92, 95
Stanisławska Iwona J.....	69	Treder Natalia.....	102
Stawny Maciej .....	92, 95, 103	Trzonkowski Piotr.....	32
Stawska Izabela.....	95	Ulenberg Szymon .....	31, 34, 79
Stefaniak Anna.....	56	Vander Heyden Yvan.....	17
Stefanowicz Justyna .....	36	Waleron Krzysztof .....	88, 89
Stefanowicz-Hajduk Justyna .....	64	Waleron Małgorzata .....	83
Stojakowska Anna.....	58	Wasilewski Tomasz .....	33
Struck-Lewicka Wiktoria .....	84	Wątróbska-Świetlikowska Dorota .....	105
Stuppner Hermann .....	58	Wiczling Pawel.....	26, 37, 38, 42, 56
Supran Claudiu T. ....	41	Wieczorek Ewa .....	49, 61, 70, 74, 76, 96
Suszek E. ....	49	Wielgomas Bartosz .....	39, 44, 99, 100
Szafrański Krzysztof.....	27, 34	Wiśniewska Paulina .....	73
Szczepańska-Konkel Mirosława.....	68, 70, 96	Wołoszczuk-Gębicka Bogumiła .....	37
Szczesio Małgorzata .....	30	Wróbel Agnieszka.....	45, 106
Szczesny Damian .....	56	Wyrwas Weronika.....	56
Szczoczarz Anna .....	57	Zielińska Joanna.....	49, 79
Szefer Piotr.....	55, 104	Ziemann E. ....	74
Szewczyk Adrian .....	72	Żrubek Adrianna.....	102
Sznitowska Małgorzata .....	82	Żołnowska Beata .....	27, 34, 41
Szupryczyńska Natalia.....	98	Żukowicz Monika.....	102
Szymkowska Katarzyna .....	71	Żyłka Michalina .....	63
Tatarnowicz Dominika .....	55		