



UNIwersytet Medyczny
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

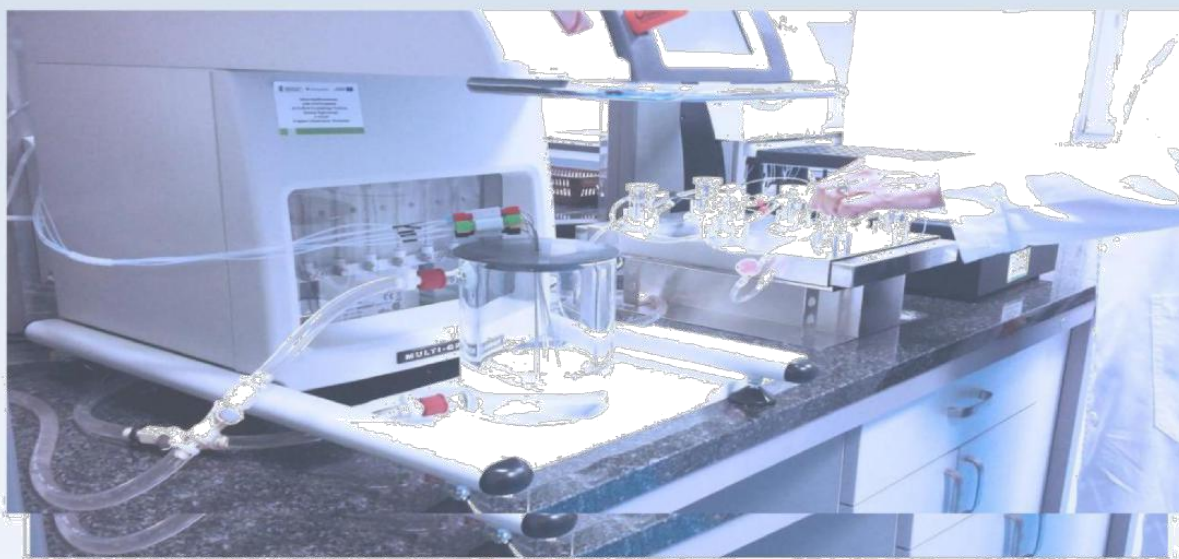
Współczesne zastosowanie metod analitycznych w farmacji i medycynie

IV OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA NAUKOWA

12 kwietnia 2019 r.

KSIĄŻKA ABSTRAKTÓW

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej ul.
Borowska 211, 50-556 Wrocław



Organizatorzy:

Studenckie Koło Naukowe Farmacji Przemysłowej
Studenckie Koło Naukowe Katedry i Zakładu Farmakognozji i Leku Roślinnego

Wszystkie materiały zamieszczone w „Książce abstraktów” nie mogą być kopiowane i tłumaczone bez pisemnej zgody Komitetu Organizacyjnego.

Dziękujemy Ogrodowi Botanicznemu Roślin Leczniczych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu przy Al. J. Kochanowskiego 10-12 za pomoc w organizacji sesji posterowej.

Komitet Organizacyjny

PATRONAT HONOROWY:

Dziekan Wydziału Farmaceutycznego z O. Analityki Medycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
prof. dr hab. Halina Grajeta

KOMITET NAUKOWY:

Przewodniczący: Prof. dr hab. Wojciech Kamysz
Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny
z O. Medycyny Laboratoryjnej Gdański Uniwersytet Medyczny

Dr hab. Izabela Fecka, prof.nadzw.
Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny
z O. Analityki Medycznej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Prof.dr hab. Anna Wiela –Hojeńska
Katedra i Zakład Farmakologii Klinicznej Wydział Farmaceutyczny
z O. Analityki Medycznej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Dr n. farm. Adam Kowalczyk
Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny
z O. Analityki Medycznej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Dr Tomasz Han
Centrum Badawczo – Rozwojowe Novasome

Mgr farm. Katarzyna Karłowicz-Bodalska
Zakład Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

KOMITET ORGANIZACYJNY:

Przewodnicząca: mgr Katarzyna Karłowicz-Bodalska
Zakład Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny
z O. Analityki Medycznej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Dr Adam Kowalczyk
Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny
z O. Analityki Medycznej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Mgr farm. Agnieszka Bodalska
Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny
z O. Analityki Medycznej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Mgr farm. Michał Smoleński
Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Wydział Farmaceutyczny
z O. Analityki Medycznej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Mgr farm. Izabela Jęskowiak
Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Wydział Farmaceutyczny
z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

STUDENCI:

SKN Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Anna Deszcz, Joanna Drózdź

SKN Katedry i Zakładu Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej Uniwersytet
Medyczny we Wrocławiu

**Julia Piechaczek, Joanna Dobrowolska, Gabriela Długosz, Anna Czarnecka, Dominika Kaput, Martyna
Przychodna, Natalia Stępień, Sylwia Sopata, Klara Seelbach**

WYSTĄPIENIA USTNE

MOŻLIWOŚĆ ZASTOSOWANIA PEPTYDÓW PRZECIWDROBNOUSTROJOWYCH W MODYFIKACJI POWIERZCHNI BIOMATERIAŁÓW

Marta Bauer

Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański
Uniwersytet Medyczny

Biomateriałami określane są tworzywa pochodzenia naturalnego lub syntetycznego, które wykorzystywane są w medycynie w celu przywrócenia lub poprawy funkcji tkanek i organów. Aby dany materiał mógł zostać zakwalifikowany do grupy biomateriałów musi spełniać określone warunki, m. in. być biokompatybilny, bioinertny i odporny na sterylizację.

W związku z coraz szerszym stosowaniem biomateriałów powszechny staje się problem występowania tzw. infekcji odbiomateriałowych, czyli takich, których rozwój związany jest z procesem implantacji lub samym materiałem. Doniesienia literaturowe potwierdzają, że zakażenia te są trudne w terapii, co związane jest z powstawaniem biofilmu.

Wśród wielu grup związków, które badane są pod kątem aktywności mikrobiologicznej dużo uwagi poświęca się peptydom przeciwdrobnoustrojowym.

Wyniki prowadzonych badań naukowych, które uwzględnione zostały w prezentacji podejmują tematykę związaną z możliwościami zapobiegania infekcjom bakteryjnym towarzyszącym stosowaniu materiałów medycznych. Celem doświadczeń jest określenie skuteczności zastosowania peptydów przeciwdrobnoustrojowych w modyfikacji powierzchni komercyjnie dostępnych wyrobów medycznych (cewników urologicznych, soczewek kontaktowych) i wpływ tej modyfikacji na redukcję lub eliminację zjawiska adhezji bakteryjnej. Rezultaty badań potwierdzają wysoką skuteczność krótkich syntetycznych lipopeptydów jako substancji zmieniających właściwości powierzchni i tym samym ograniczających kolonizację bakteryjną. Do badań wykorzystano szczepy referencyjne drobnoustrojów, a modyfikacja przeprowadzana była na drodze inkubacji w roztworze oraz poprzez trwałe wiązanie peptydów z powierzchnią.

Część badań zrealizowano dzięki wsparciu z Grantu dla Młodych Naukowców przyznawanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, nr 01-0227/08/508.

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI SALICYLANÓW W LIŚCIACH RÓŻNYCH GATUNKÓW TOPOLI

Joanna Dobrowolska¹, Gabriela Długosz¹, Anna Czarnecka¹, Piotr Kuś²,
Maciej Włodarczyk²

¹Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji i Leku Roślinnego,
Wrocławski Uniwersytet Medyczny

²Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego,
Wrocławski Uniwersytet Medyczny,

Do listy monografii narodowych Farmakopei Polskiej XI (2017) dołączono liść topoli czarnej (*Populi folium*). Tę substancję roślinną standaryzuje się obecnie na zawartość flawonoidów oraz salicylanów oznaczonych po hydrolizie zasadowej. Obecnie liście ani kora topoli nie znajdują się na wykazie artykułów żadnej z europejskich farmakopei narodowych. W Polsce oprócz sokory spotyka się również wiele innych gatunków i mieszańców topoli, których liście lub kora nie były dotąd również rozpatrywane w kategorii substancji farmakopealnej. Celem naszych badań jest wyłonienie surowców pochodzących z tego rodzaju, które mogłyby konkurować ze wspomnianym artykułem farmakopealnym pod względem zawartości związków salicylowych poniższej pracy przeanalizowaliśmy, postępując w oparciu o metodę farmakopealną, sumaryczną zawartość salicylanów oznaczonych po hydrolizie w łącznej liczbie ponad 80 próbek liści topoli pochodzących ze zbioru jesiennego. Próbek dostarczyły różne gatunki: farmakopealna *Populus nigra* L. oraz *Populus nigra* L. 'Italica', a także *Populus × canadensis* Moench, *Populus alba* L., *Populus × canescens* Sm., *Populus tremula* L., *Populus simonii* Carr., oraz inni przedstawiciele sekcji Tacamahaca.

Procedura zmodyfikowanej metody farmakopealnej obejmowała znormalizowane suszenie, homogenizację i przesiewanie próbek, ekstrakcję połączoną z hydrolizą zasadową, zakwaszenie i spektrofotometryczne oznaczenie zawartości sumy salicylanów w przeliczeniu na salicynę metodą HPLC-UV wobec krzywej kalibracyjnej. W badaniach zastosowano zoptymalizowany układ chromatograficzny: kolumnę z fazą odwróconą F5 zamiast C18, a jako eluent wzrastający gradient acetonitrylu w wodzie (zakwaszone kwasem mrówkowym). Pozwoliło to na wydatne skrócenie czasu analizy przy zachowaniu zadowalającej rozdzielczości.

Dotychczas ustalono, że liście *Populus nigra*, jej kultywaru 'Italica' oraz *Populus simonii* należą do najuboższych w związki salicylowe spośród przebadanych gatunków.

METODY ANALITYCZNE W BADANIACH WŁAŚCIWOŚCI ANTYGLIKOOKSYDACYJNYCH FLAWONOIDÓW

Izabela Fecka

Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław

Wstęp: Glikooksydacja jest wieloetapowym procesem zachodzącym spontanicznie, bez udziału enzymów i prowadzącym do powstania zaawansowanych (końcowych) produktów glikacji białek określanych jako AGEs (ang. *Advanced Glycation End-Products*) oraz zaawansowanych produktów utleniania białek AOPPs (ang. *Advanced Oxidation Protein Products*). Proces glikooksydacji zachodzi w organizmach żywych oraz *in vitro* podczas wysokotemperaturowego przetwarzania żywności. W odniesieniu do produktów powstających w żywności używa się nazwy reakcji Maillarda lub nieenzymatycznego brązowienia i akronimu MRP (ang. *Maillard Reaction Products*). Całkowitą pulę AGEs i AOPPs w organizmie stanowią zatem związki powstające zarówno wewnątrz, jak i na zewnątrz komórek oraz MRP pochodzące z żywności. W zdrowym organizmie większość produktów glikacji i oksydacji ulega eliminacji, jednak pewna ilość gromadzi się w tkankach, prowadząc u osób w podeszłym wieku do rozwoju chorób przewlekłych.

Reaktywne dikarbonyle (RCS lub -dikarbonyle), takie jak glioksal (GO), metyloglioksal (MGO), 3-deoksyglukoson (3DG) i glucoson, są produktami nieenzymatycznego utleniania cukrów redukujących (glukozy, fruktozy, rybozy etc.) oraz produktami dalszych przemian N-glukozyloamin (m.in. dehydratacja, utlenianie) powstających w wyniku przegrupowania Amadori w procesie nieenzymatycznej glikacji. RCS odpowiadają za uszkodzenia makromolekuł. Szczególnie istotne znaczenie kliniczne ma glikooksydacja albumin. Poziom GO i MGO w ludzkim osoczu oszacowano na 0,3-1,5 μM , a ich stężenie wzrasta w cukrzycy typu 1 i 2 oraz w przewlekłej niewydolności nerek. Białka zmodyfikowane przez RCS są zaangażowane w szereg procesów patofizjologicznych, m.in. w stanach zapalnych, cukrzycy, miażdżycy, zespole metabolicznym, chorobach układu krążenia i neurodegeneracyjnych.

Cel: Celem prezentacji jest przegląd nowszych metod analitycznych wykorzystywanych w badaniach właściwości antyglukooksydacyjnych potencjalnych inhibitorów AGEs i AOPPs, m.in. związków flawonoidowych.

Wyniki i wnioski: Flawonoidy znane są z właściwości przeciwutleniających, przeciwzapalnych, wazoprotekcyjnych i kardioprotekcyjnych. Nowsze badania wskazują również na zdolność wiązania RCS, co czyni je obiecującymi kandydatami w zapobieganiu rozwojowi mikro- i makroangiopatii cukrzycowych. W ocenie potencjału antyglukooksydacyjnego znalazły zastosowanie z dużym powodzeniem metody chromatografii cieczowej z DAD i MS.

MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA BADAŃ FARMAKOGENOMIKI W PERSONALIZACJI FARMAKOTERAPII CHORYCH NA ODDZIAŁACH SZPITALNYCH

Magdalena Hurkacz

Katedra i Zakład Farmakologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Farmakogenomika jest nowoczesnym podejściem do optymalizacji farmakoterapii z wykorzystaniem badań genetycznych. Dzięki wprowadzeniu technik molekularnych do laboratoriów diagnostycznych w szpitalach możliwe stało się określenie u chorego profilu genetycznego jeszcze przed podaniem leku. Zapobiegać to może powikłaniom polekowym oraz wpływa znacząco na poprawę skuteczności, szczególnie w odniesieniu do leków o wąskim zakresie terapeutycznym. Przykładem może być ocena genotypu biocyta w zakresie metabolizmu leków immunosupresyjnych, jako element przygotowania go do przeszczepienia narządów. Ocena ta obejmuje oznaczenie genotypu CYP3A4/CYP3A5 oraz ABCB1. Działania takie zyskały referencje na poziomie A1, co oznacza, że każdy biorca narządów lub tkanek, który będzie poddany ochronie immunosupresyjnej powinien mieć wykonane takie badanie. Badania własne dowiodły również, że oznaczanie genotypu polimorfizmu enzymu odpowiedzialnego za metabolizm leków z grupy pochodnych merkaptopuryny pozwala na uniknięcie mielosupresji. Kolejnym omawianym zagadnieniem jest ocena wpływu genotypu chorego na skuteczność leczenia choroby przewlekłej, jaką jest między innymi reumatoidalne zapalenie stawów. Ocena kilku podstawowych polimorfizmów genów odpowiedzialnych za aktywność enzymów metabolizujących leki z grupy niesteroidowych przeciwzapalnych oraz metotreksatu (CYP2D6, CYP2C9, ABCB1) wpływa znacząco na możliwość przewidzenia nie tylko powikłań polekowych, ale również skuteczności leczenia. Analiza genotypu u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów wykazała, że dzięki takim badaniom zwiększa się bezpieczeństwo i skuteczność leczenia w tej grupie chorych. Badania takie można wykonywać za pomocą nowoczesnych technik molekularnych, które, dzięki automatyzacji, stały się bardziej dostępne w powszechnej diagnostyce klinicznej.

OD STUDENTA DO NAUKOWCA

Wojciech Kamysz

Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z OML,
Gdański Uniwersytet Medyczny

Wraz z upływem lat zmienia się nie tylko moda oraz dostępność technologii. Metamorfozę przechodzi także system edukacji oraz powody, dla których młodzi ludzie decydują się na studia i pracę naukową. Dużą zmianę na przestrzeni lat zauważyć można w roli społecznej studentów oraz ich prawach i obowiązkach.

Niniejsza prezentacja ma na celu porównanie, jak w ujęciu historycznym zmieniała się droga kształcenia młodzieży oraz ich podejście do edukacji. Poruszona zostanie także kwestia pracy naukowej i tego, w jaki sposób wraz z biegiem lat ewoluowała postać naukowca oraz jego pozycja w społeczeństwie.

Oczywistym jest, że obecne życie studentów jak i młodych naukowców wygląda inaczej niż chociażby 20 lat temu. Na innym poziomie znajduje się wyposażenie laboratoriów, dostęp do materiałów dydaktycznych oraz podejście wykładowców do przekazywania wiedzy. Nie zawsze są to jednak pozytywne zmiany.

Wykład jest próbą porównania, w jaki sposób czas zmieniał szkolnictwo wyższe oraz pracę naukową.

BADANIA ŻELI FARMACEUTYCZNYCH METODAMI PRZEZNACZONYMI DO OCENY PÓLSTAŁYCH POSTACI LEKU

Aneta Szyposz¹, Michał Smoleński², Dorota Haznar-Garbacz²,
Katarzyna Małolepsza-Jarmołowska²

¹SKN Technologii Postaci Leku, Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Opiekun Pracy: Dr hab. n. farm. Katarzyna Małolepsza-Jarmołowska

Żele jako półstała postać leku charakteryzują się wieloma korzystnymi właściwościami. Pozwala to na szerokie zastosowanie tej postaci leku w leczeniu. Różnorodne formułacje przeznaczone są do stosowania wewnętrznego i zewnętrznego. Wygodna forma aplikacyjna, jaką stanowią żele, została doceniona przez pacjentów, natomiast w technologii postaci leku stały się doskonałą bazą dla wielu substancji leczniczych. Dla efektywnego wykorzystania tej formy, jako nośnika substancji czynnych, konieczne są badania z zastosowaniem metod analitycznych i aparatury. W badaniach żeli mających ochronny wpływ na błonę śluzową przełyku wykorzystano urządzenia pomiarowe celem uzyskania danych liczbowych, dających pogląd na szereg właściwości, jakimi powinny się cechować takie preparaty. Poza podstawowymi badaniami odczynu i reologii, zastosowano badania tekstury. Za pomocą teksturometru oceniono adhezyjność, lepkość, twardość, spoistość i konsystencję sporządzonych preparatów. Analizator tekstury umożliwia przeprowadzenie pomiarów, dotyczących właściwości żelu mających bezpośrednie przełożenie na aplikacyjność. W przypadku omawianych preparatów adhezja na błonie śluzowej przełyku jest kluczowym parametrem niezbędnym do działania leczniczego preparatu. Utrzymywanie się postaci leku w miejscu aplikacji zapewnia odpowiedni czas terapii, a dzięki temu skuteczność. Duże znaczenie odgrywa lepkość zastosowanej formułacji. Skład zaprojektowanych serii ma wpływ nie tylko na ten parametr, ale również na twardość, spoistość i konsystencję. W celu weryfikacji danych liczbowych zastosowano model imitujący warunki *in vivo*. Badanie to umożliwia wstępną selekcję preparatów pod względem ich przydatności do badań klinicznych.

PREZENTACJE POSTEROWE

OKO JAKO NARZEDZIE WCZESNEJ DIAGNOSTYKI CHOROBY ALZHEIMERA

Katarzyna Bednarska¹, Marta Czwojdzńska¹, Karolina Sikorska¹, Jakub Baranowski¹,
Ewa Sawicka²

¹Koło Naukowe przy Katedrze Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław

²Katedra Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław

Choroba Alzheimer (ChA) będąca schorzeniem neurodegeneracyjnym dotyka około 10% populacji osób powyżej 65 roku życia i stanowi co piątą przyczynę śmierci oraz główną przyczynę niepełnosprawności w tej grupie wiekowej. Odpowiednio wczesna diagnoza jest niezwykle istotna ponieważ leczenie jest zazwyczaj najskuteczniejsze, gdy rozpoczyna się je na wczesnym etapie procesu chorobowego. Diagnoza ChA jest trudna i często niejednoznaczna, specjaliści stosują zwykle kilka metod - w tym badania neuropsychologiczne, neuroobrazowanie między innymi tomografia komputerowa (CT), rezonans magnetyczny (MRI), pozytronowa tomografia emisyjna (PET) oraz badanie płynu mózgowo-rdzeniowego. Badania te są jednak nie tylko czasochłonne, trudnodostępne ale również drogie co sprawia, że stale poszukiwane są szybsze, nieinwazyjne i tańsze metody, które usprawnią diagnostykę choroby Alzheimer.

Zmianom neurodegeneracyjnym w mózgu wywołanym przez ChA towarzyszą strukturalne i funkcjonalne zmiany układu naczyniowego oka. Wiele ostatnich badań wykazało obecność blaszek β -amyloidowych w siatkówce pacjentów cierpiących na Alzheimer, przy czym równolegle inne badania ujawniły również zmiany zwyrodnieniowe i uszkodzenia warstwy włókien nerwowych siatkówki.

Podjęmowane są próby opracowania nowych metod obrazowania siatkówki zdolnych wykryć zmiany strukturalne w jej warstwie naczyniowej. W tym celu naukowcy wykorzystują między innymi techniki optycznej tomografii koherentnej, pozwalającej na przeprowadzenie „biopsji optycznej” w czasie rzeczywistym. Umożliwia ona wizualizację mikrostruktury tkanki oraz zdiagnozowanie ewentualnych charakterystycznych dla ChA zmian patologicznych takich jak złoże B-amyloidu, zmniejszenie usieciowienia naczyń krwionośnych czy spadek grubości warstwy włókien nerwowych siatkówki w sposób całkowicie nieinwazyjny i stosunkowo szybki. Drugą metodą, która daje obiecujące wyniki jest badanie laserowym przepływowym dopplerowskim, umożliwiające ocenę morfologii naczyń oraz parametry przepływu krwi w siatkówce. Badanie to daje informacje zarówno o potencjalnych zmianach w strukturze naczyniowej jak i o zmniejszeniu przepływu krwi spowodowanym odkładaniem się patologicznych białek w ścianach naczyń.

Obie metody badania siatkówki oka dają obiecujące efekty, nie tylko na szybszą, mniej inwazyjną i tańszą diagnostykę ChA ale też na monitorowanie przebiegu choroby i leczenia.

IZOLACJA GERANINY Z ZIELA IGLICY POSPOLITEJ

Katarzyna Bednarska¹, Marta Matwiej¹, Izabela Fecka²

¹Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław

²Katedra i Zakład Farmakognozji Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław

Wstęp: *Erodium cicutarium* (L.) L'Herit (iglica pospolita) jest jednoletnią lub dwuletnią rośliną z rodziny bodziszkowatych – *Geraniaceae*, powszechnie spotykaną na terenie całej Polski. Ziele tego gatunku wykorzystywane było tradycyjnie jako środek ściągający i hemostatyczny przy drobnych krwawieniach. Wyciągi wodno-alkoholowe z ziela iglicy stosowano w medycynie ludowej jako leki żołądkowe, przeciwbólowe i moczopędne. Znane było również użycie zewnętrzne do przemywania skóry przy infekcjach i ugryzieniach zwierząt. Liście służyły także do sporządzania naparu o działaniu napotnym i diuretycznym, natomiast po namoczeniu w wodzie wykorzystywane były w leczniczych kąpielach przy schorzeniach reumatycznych.

Cel: Za cel pracy obrano przeprowadzenie izolacji monomerycznego dehydroelagotanoidu - geraniny z ziela *Erodium cicutarium* (L.) L'Hérit, przy wykorzystaniu odpowiednich technik ekstrakcji i chromatografii (CC, TLC, LC).

Materiały i metody: Badania objęły przygotowanie wyciągu wodno-acetonowego (1:1) z ziela *E. cicutarium*, a następnie jego sukcesywne rozdzielanie za pomocą kolumn chromatografii kolumnowej (oktadecyl, sephadex LH-20). Obecność izolowanego związku zarówno w sporządzonym wyciągu jak i zbieranych frakcjach i podfrakcjach z poszczególnych etapów, potwierdzono z wykorzystaniem techniki TLC i HPLC-DAD. Do identyfikacji geraniny użyto dodatkowo technikę UPLC z detektorem diodowym (PDA) i detektorem mas (qTOF-ESI-MS).

Wyniki i wnioski: Uzyskano 0,867 g geraniny o czystości chromatograficznej 94,86%. Pozostałe frakcje i podfrakcje zawierające związki o charakterze polifenoli pozostawione zostały do dalszych badań.

ZASTOSOWANIE CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ SPRZEŻONEJ ZE SPEKTROSKOPIĄ MAS W ANALIZIE ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH

Agnieszka Bodalska¹, Adam Kowalczyk¹, Michał Smoleński², Izabela Fecka¹

¹Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

²Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Naukowcy oraz producenci preparatów leczniczych są zainteresowani opracowaniem dokładnych i powtarzalnych metod umożliwiających oznaczenie związków o budowie polifenolowej. Najczęściej stosowaną jest wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC). Zastosowanie wyłącznie tej techniki nie umożliwia jednak określenia struktury niezidentyfikowanych związków. W celu określenia budowy chemicznej nieznanych struktur stosuje się chromatografię cieczową połączoną ze spektroskopią mas LC/MS.

Celem pracy jest przegląd prac naukowych opisujących wykorzystanie techniki LC/MS w analizie związków polifenolowych.

Publikacje naukowe potwierdzają wysoką skuteczność zastosowania techniki chromatografii cieczowej w połączeniu ze spektroskopią mas w analizie wielu grup związków polifenolowych takich jak kwasy fenolowe, flawonoidy, lignany i stilbeny. Ponadto istnieje wiele usprawnień metody, np. UHPLC/MS – ultra wysokosprawną chromatografię cieczową pozwalającą na uzyskanie wyników o większej rozdzielności i ograniczającą zużycie rozpuszczalników organicznych o około 80%.

Chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas jest skuteczną i powszechnie wykorzystywaną techniką pozwalającą na identyfikację związków polifenolowych.

ZASTOSOWANIE ILOŚCIOWYCH BADAŃ MARKETINGOWYCH W FARMACJI NA PRZYKŁADZIE BADANIA CATI I PAPI

Kamila Boszkiewicz¹, Daria Wiśniewska², Joanna Rackiewicz²,
Katarzyna Karłowicz-Bodalska³

¹Przedsiębiorstwo Produkcji Farmaceutycznej Hasco-Lek S.A.

²Studenckie Koło Naukowe Farmacji Przemysłowej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu Opiekun Koła Naukowego: Katarzyna Karłowicz-Bodalska

³Zakład Farmacji Przemysłowej Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

W marketingu farmaceutycznym stosowane są badania umożliwiające poznanie otoczenia rynkowego, konkurencji, czynników wpływających m.in. na zachowania i świadomość odbiorców reklam. Funkcją badań marketingowych jest weryfikacja skuteczności działań promocyjnych oraz realizacji celów sprzedażowych. W badaniach tych stosowane są metody jakościowe oraz ilościowe. Badania jakościowe umożliwiają poznanie motywów ludzkich postaw i zachowań, podczas gdy badania ilościowe koncentrują się na określeniu skali zjawiska i pozwalają na ustalenie wniosków przyczynowo - skutkowych. Technikami badawczymi stosowanymi w badaniach ilościowych są m.in. CATI i PAPI.

CATI (ang. *Computer Assisted Telephone Interviewing*) to metoda wykorzystująca wywiady realizowane przez telefon, wspomagane komputerowo w oparciu o przygotowany kwestionariusz. Zaletami metody CATI jest krótki czas realizacji oraz niski koszt. Przykładem badania jest zlecone w 2014 roku przez Polskie Towarzystwo Flebologiczne, badanie nt. świadomości społecznej Polaków w zakresie znajomości czynników ryzyka, występowania, objawów oraz możliwości leczenia przewlekłych chorób żył kończyn dolnych. Badanie przeprowadzono na 1005 losowo wybranych pacjentach, 62% respondentów zgłaszało dolegliwości z czego 28% nie stosowało żadnego leczenia. Wyniki badania wykazały, iż świadomość Polaków nt. zapobiegania i leczenia chorób żył jest niska a źródłem informacji o dolegliwościach czy farmakoterapii, częściej jest farmaceuta, aniżeli lekarz.

PAPI (ang. *Personal Assisted Paper Interviewing*) to metoda ilościowa oparta na bezpośrednim wywiadzie z wykorzystaniem ankiety papierowej przeprowadzana przez przeszkolonego ankietera. Przykładem badania PAPI jest zlecone w 2015 roku przez Federację Konsumentów badanie „Leki bez recepty”. Celem badania, w którym wzięło udział 2674 respondentów, było poznanie zwyczajów dotyczących zakupu leków OTC, powodów zakupu i czynników istotnych przy zakupie oraz ważnych dla pacjenta źródeł informacji. Analiza ankiet wykazała, iż respondenci sami podejmują decyzję o zakupie leków OTC (63%) i są to najczęściej leki na ból głowy, gardła, gorączkę, przeziębienie, głównymi źródłami informacji są - farmaceuci (53,2%), lekarze (47,3%) oraz Internet (32%).

Z punktu widzenia marketingu farmaceutycznego, badania CATI i PAPI dostarczają wielu cennych informacji, umożliwiających świadome planowanie strategii promocyjnej oraz znacząco zmniejszając ryzyko jej niepowodzenia.

METODY BADANIA FOTOTOKSYCZNEGO DZIAŁANIA PRODUKTÓW KOSMETYCZNYCH

Patrycja Buganiuk¹, Dominika Bzymek¹, Klaudia Chmielewska¹, Justyna Cichecka¹,
Klaudia Kupczyńska¹

¹Studenci Wydziału Farmacji z Oddziałem Analityki Medycznej we Wrocławiu

Kosmetyki stanowią obecnie dużą grupę produktów dostępną w aptekach. Produkty te wywierają pozytywny wpływ na naszą skórę, pielęgnują, wspomagają terapie trądziku czy kontaktowego zapalenia skóry. W okresie wakacyjnym przy zwiększonej ekspozycji na słońce media i farmaceuci zwracają uwagę na możliwość fotouczulającego działania niektórych stosowanych kosmetyków. Składniki kosmetyków, ale również leków mogą wywoływać reakcje fototoksyczne manifestujące się zwiększoną wrażliwością skóry na promieniowanie świetlne powodując: rumień, lżejsze bądź cięższe oparzenia, obrzęk, pokrzywkę lub świąd. Do najczęściej występujących w kosmetykach i lekach substancji fotouczulających należą: retinoidy, chinony - grupa chemioterapeutyków o działaniu bakteriobójczym oraz barwniki.

Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) przeprowadziło w 2000 roku badania dotyczące fototoksyczności i fotokancerogenności palmitynianu retinylu- bardzo popularnego składnika produktów do opalania. Wyniki badań przeprowadzonych na myszach eksponowanych na promieniowanie UVA/UVB wskazały na potencjał generowania fotokancerogenezy. Metodologia badań fototoksyczności *in vitro* obejmuje powszechnie stosowany test wychwytu czerwieni obojętnej zwany 3T3 Neutral Red Uptake Phototoxicity Test. Procedura badawcza obejmuje inkubację komórek, z badaną substancją, a następnie ekspozycję na promieniowanie UV. Powszechnie stosowanym testem fototoksyczności jest także Red Blood Cell Photoirritation Test, który umożliwia poznanie mechanizmu i oszacowanie potencjału fotodrażniającego substancji. Dodatkowych danych dostarczają testy z wykorzystaniem modeli skóry ludzkiej- Human Skin Model Phototoxicity Test, który pozwala na odwzorowanie warunków aplikacji badanej substancji. W badaniach wykorzystywane są testy kliniczne tj. naskórne testy płatkowe z użyciem badanych kosmetyków. Dodatni odczyn po stronie naświetlanej, przy jednoczesnym ujemnym odczynie po stronie nienaświetlanej potwierdza obecność fotoalergii.

Należy szczególną uwagę zwracać na skład kosmetyków oraz na możliwość występowania reakcji fotoalergicznnych czy fototoksycznych związanych z ekspozycją na promienie UV. Dlatego dane dotyczące właściwości fototoksycznych substancji nie powinny być marginalizowane na etapie prac badawczych oraz ocenie bezpieczeństwa kosmetyków.

NOWOCZESNE METODY WYKRYWANIA I IDENTYFIKACJI KORONAWIRUSÓW U ZWIERZĄT

Marta Czwojdzińska¹, Katarzyna Bednarska¹, Ewa Sawicka²

¹Koło Naukowe przy Katedrze Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław

²Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Toksykologii,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Koronawirusy opisano po raz pierwszy w latach 60. XX wieku. Są to wirusy otoczkowe z jednoniciowym RNA o symetrii helikalnej i dodatniej polarności. Koronawirusy powodują przede wszystkim zakażenia górnych dróg oddechowych i przewodu pokarmowego ssaków i ptaków; znanych jest sześć szczepów koronawirusów odpowiedzialnych za zakażenia wśród ludzi. Najlepiej poznanym spośród występujących u ludzi koronawirusów jest odkryty w 2003 r. wirus SARS-CoV, powodujący ciężki ostry zespół oddechowy (SARS). Koronawirusy powodują również szereg chorób u zwierząt gospodarskich i domowych, z których niektóre mogą być poważne i stanowić zagrożenie dla rolnictwa, w związku z czym poszukuje się nowych, szybkich sposobów ich identyfikacji.

Jedną z nowych metod stosowanych w diagnostyce zakażeń wirusowych jest multipleksowe PCR, które w przeciwieństwie do stosowanych wcześniej badań pozwala na jednoczesną identyfikację wielu patogenów w przypadku wirusowego zapalenia górnych dróg oddechowych i przewodu pokarmowego u psów, wywoływanych przez wirusy CRV i CEV. Koronawirusy można też identyfikować z wykorzystaniem metod immunochemicznych. Opracowane połączenie testów ELISA i Western blot umożliwia szybką i tanią identyfikację wirusa ptasiego zapalenia oskrzeli (IBV) - powodującego znaczne straty w przemyśle drobiarskim - na podstawie obecności przeciwciał przeciwko białku nukleokapsydowemu 1. IBV. W porównaniu z testami komercyjnymi, metoda ta wykazała większą swoistość i czułość.

Istotną grupę stanowią testy, których wykonanie nie wymaga specjalnego przekolenia i można je wykonać bezpośrednio w miejscu hodowli. Przykładem jest opracowany w 2018 roku test immunochromatograficzny umożliwiający identyfikację wirusa świńskiej biegunki (PEDV), szczególnie niebezpiecznego dla nowonarodzonych prosiąt. Wykorzystanie w teście pasków fluorescencyjnych i nanocząsteczek złota pozwoliło uzyskać dokładne wyniki ilościowe przy niskim szumie tła.

Przedstawione nowe metody identyfikacji koronawirusów charakteryzują się dużą dokładnością, szybkością i łatwością wykonania, co pozwala na znaczne skrócenie diagnostyki, a co za tym idzie – wcześniejsze rozpoczęcie terapii.

[1] X. Hao, R. Liu et al., “Multiplex PCR methods for detection of several viruses associated with canine respiratory and enteric diseases”, PLoS ONE, vol. 14, no. 3, 2019.

[2] P. S. Finger et al., “Combined use of ELISA and Western blot with recombinant N protein is a powerful tool for the immunodiagnosis of avian infectious bronchitis”, Virology Journal, vol. 15, no. 189, 2018.

[3] H. Bian et al., “A new immunochromatographic assay for on-site detection of porcine epidemic diarrhea virus based on monoclonal antibodies prepared by using cell surface fluorescence immunosorbent assay”, BMC Veterinary Research, vol. 15, no. 32, 2019.

S. U. Trivedi, C. Miao, J. E. Sanchez, H. Caisi, A. Tamin, L. Haynes, N. J. Thornburg, “Development and evaluation of a multiplexed immunoassay for simultaneous detection of serum IgG antibodies to six human coronaviruses”, Scientific Reports, vol. 9, no. 1390, 2019

OCENA ZALEŻNOŚCI MIĘDZY STATUSEM REDOKS WE KRWI PACJENTÓW Z PRZEWLEKŁĄ BIAŁACZKĄ SZPIKOWĄ A WARTOŚCIAMI WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW STANU ZAPALNEGO – BADANIA WSTĘPNE

Maria Możdżeń¹, María Drzewicka¹, Iwona Urbanowicz², Beata
Celuch³, Sylwia Płaczkowska⁴, Ewa Mędraś⁵, Tomasz Wróbel⁵, Halina
Grajeta¹

¹Katedra i Zakład Bromatologii i Dietetyki, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ²Katedra Analityki Medycznej, Zakład Hematologii Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ³Laboratorium Analityczne Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ⁴Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ⁵Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wyniki szeregu badań doświadczalnych i klinicznych potwierdzają związek pomiędzy przewlekłymi stanami zapalnymi a rozwojem nowotworów. Stany zapalne towarzyszące chorobom nowotworowym generują powstawanie dużych ilości wolnych rodników i reaktywnych form tlenu, przyczyniając się do nasilenia stresu oksydacyjnego. Zaburzenie równowagi pomiędzy wytwarzaniem reaktywnych form tlenu a wydajnością systemów antyoksydacyjnych powoduje uszkodzenia DNA, zaburzenia szlaków sygnałowych, mutacje i w efekcie może prowadzić do transformacji nowotworowej.

Celem pracy była ocena zależności między statusem redoks w surowicy krwi pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową, a stężeniem CRP oraz wartościami obliczonych wskaźników stanu zapalnego: NLR, LMR i PLR.

Materiał do badań stanowiła surowica krwi uzyskana od 35 osób (16 kobiet i 19 mężczyzn w wieku 27-86 lat) chorych na przewlekłą białaczkę szpikową (CML), pacjentów przychodni przyklinicznej Katedry i Kliniki Hematologii Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. U wszystkich badanych osób stwierdzono przewlekłą fazę choroby. Na przeprowadzenie badań uzyskano pozytywną opinię komisji bioetycznej nr KB- 172/2018.

W surowicy krwi pacjentów wykonano oznaczenie metodą TBARS stężenia aldehydu dimalonowego (MDA) jako końcowego produktu peroksydacji lipidów. W celu oszacowania całkowitej pojemności antyoksydacyjnej surowicy przeprowadzono pomiar stopnia redukcji rodnika DPPH. Oznaczono także stężenie CRP w surowicy. Na podstawie wyników morfologii krwi pacjentów obliczono wartości wskaźników stanu zapalnego NLR, LMR oraz PLR.

Stężenie MDA w surowicy krwi u kobiet wynosiło 7,67 nmol/ml a u mężczyzn 6,92 nmol/ml. Wartość TAC (całkowitej pojemności przeciwutleniającej odbiałczonej surowicy) wynosiła u kobiet 251,55 μ mol Trolox/l, a u mężczyzn 244,67 μ mol Trolox/l. Wykazano istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy stężeniem MDA a wiekiem badanych kobiet. Stwierdzono występowanie istotnych statystycznie korelacji pomiędzy wskaźnikami stanu zapalnego: PLR, NLR, LMR, w tym korelacji ujemnych pomiędzy wskaźnikami PLR i LMR oraz NLR i LMR, dodatniej między wskaźnikami NLR i PLR. Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniem MDA, TAC, i CRP a wartościami wskaźników PLR, NLR i LMR.

OZNACZANIE EFEDRYNY W PREPARACIE TUSSIPECT METODĄ WOLTAMPEROMETRYCZNĄ NA MIKROELEKTRODZIE ŻŁOTEJ

Olimpia Gładysz¹, Przemysław Skibiński¹

¹Katedra i Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Efedryna czyli (1R,2S)-2-(metyloamino)-1-fenylpropan-1-ol jest alkaloidem pozyskiwanym z gatunków ziela przęśli (*Ephedra*) o aktywności sympatykomimetycznej i stymulującej o.u.n. Jako lek stosowana jest w celu zwężenia naczyń krwionośnych w przypadkach niedociśnienia podczas znieczulenia, w leczeniu stanów spastycznych oskrzeli a stosowana miejscowo zmniejsza obrzęk błony śluzowej nosa. Jest także składnikiem preparatów złożonych wspomagających leczenie przeziębień z towarzyszącym kaszlem. Poza wskazaniami farmakologicznymi bywa stosowana jako środek poprawiający sprawność fizyczną (*performance enhancing drug*, PED). Światowa Organizacja Antydopingowa sklasyfikowała efedrynę jako niedozwolony podczas zawodów stymulant [1]. Problemem sportowców jest możliwość nieświadomego przyjmowanie efedryny w preparatach tradycyjnej medycyny chińskiej czy suplementach diety, których producenci nie wykazują pełnego składu. Metody woltamperometryczne są konkurencyjne dla metod obecnie stosowanych do oznaczania efedryny m.in. chromatograficznych, ze względu na krótszy czas pomiaru i stosunkowo proste przygotowanie próbek. Ponadto zastosowanie zamiast elektrody o konwencjonalnych rozmiarach, mikroelektrody dyskowej złotej o średnicy 25µm stwarza nowe możliwości analityczne, ze względu na niskie wartości płynących prądów (rzędu nA) [2]. Przeprowadzono oznaczanie efedryny w roztworach uzyskanych z preparatu Tussipect 15mg (tabletki drażowane, Herbapol Poznań S.A.). Pomimo złożonego składu (wyciąg z korzenia lukrecji, saponiny i liczne substancje pomocnicze rdzenia i otoczki) wielkości zarejestrowanych prądów związanych z utlenianiem efedryny, w ustalonych warunkach eksperymentalnych, są wprost proporcjonalnie do jej stężenia. Wyznaczono krzywą kalibracji, granicę oznaczalności i detekcji. W pomiarach wykorzystana została metoda woltamperometrii fali prostokątnej (SWV) [3].

[1] www.wada-ama.org/en/content/what-is-prohibited/prohibited-in-competition/stimulants (dostęp 25.03.2019)

[2] M. Koudelka-Hep, P.D. Van der Wal, „Microelectrode sensors for biomedical and environmental applications. *Electrochim. Acta* 45 (15-160) (2000) 2437-2441.

[3] V. Mirceski, R. Gulaboski, M. Lovric, I. Bogeski, R. Kappl, M. Hoth, Square-wave voltammetry: a review on the recent progress. *Electroanal.* 25(11) (2013) 2411-2422.

IZOGRANDIFOLIOL – NOR-DITERPENOID IZOLOWANY Z GATUNKU *PEROVSKIA ATRIPLICIFOLIA* BENTH. O AKTYWNOŚCI HAMUJĄCEJ BUTYRYLOCHOLINOESTERAZĘ

Kajetan Grzelka¹, Sylwester Ślusarczyk¹, Marcin Surma¹, Adam Matkowski¹

¹Katedra Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Patogeneza choroby Alzheimerera (AD) ze względu na swoją wieloczynnikową etiologię nadal nie została w pełni poznana. Hipoteza cholinergiczna jest jedną z najbardziej akceptowalnych sposobów jej wyjaśnienia. Braki acetylocholino (ACh) spowodowane są hydrolizą tego neuroprzekaźnika przez acetylocholinoesterazę (AChE). Rywastygmina, takrina, donepezil i galantamina są jak dotąd najpopularniejszymi lekami stosowanymi w terapii tej choroby. Innym enzymem z rodziny cholinoesteraz, również związanym z przebiegiem AD jest butyrylocholinoesteraza (BChE), której aktywność enzymatyczna gwałtownie wzrasta w końcowym stadium choroby. Zostało dowiedzione, że inhibitory BChE mogą działać w podobny sposób jak inhibitory AChE i spowalniają postępowanie zaburzeń poznawczych pacjentów. Selektywnymi inhibitorami BChE są związki roślinne opisane jako diterpeny. Jednym z nich jest izograndifoliol, który jak to zostało już wstępnie potwierdzone *in vitro** jest nie tylko silnym inhibitorem BChE (IC₅₀ 0.89 μM) ale również inhibitorem AChE (IC₅₀ 103.7 μg/mL⁻¹). Taka podwójna inhibicja może potencjalnie być bardziej efektywna w leczeniu AD. Celem naszych badań było wyizolowanie znacznej ilości izograndifoliolu z korzeni *Perovskia atriplicifolia*, potrzebnej do testów *in vivo*.

Wysuszone korzenie *P.atriplicifolia* ekstrahowano czystym metanolem (MeOH). Ekstrakt odłuszczone n-hexanem (n-Hex) i wstępnie oczyszczono na złożu Rp-18 (COSMOSIL 140 C18-OPN). Następnie ekstrakt rozdzielano (chromatografia kolumnowa grawitacyjna) na złożu Silica Gel 60 (0.04-0.063 mm, 230-400 mesh) izokratycznie mieszaniną octanu etylu (EtOAc) i n-hexanu (n-Hex) w stosunku 1:1. Otrzymane frakcje oznaczono chromatograficznie (HPLC, Agilent 1260 Infinity II, z detektorem DAD) z wykorzystaniem kolumny RP-18 (Phenomenex, Kinetex 2.6 μm, 150 x 3, 100A). Frakcję z zawartością izograndifoliolu poddano oczyszczeniu na kolumnie szklanej na złożu Rp-18 (Kieselgel 60, 0.035-0.07, 400-220 mesh). Tożsamość otrzymanego izograndifoliolu potwierdzono przy pomocy spektroskopu NMR (Bruker Avance IIITM 500 MHz, Bruker, BioSpin, Rheinstetten, Niemcy) oraz spektrometru mas (HR/Q-TOF/MS, Compact, Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Niemcy).

BIOPOLIMERY W MEDYCYNIE - METODY MONITOROWANIA ON-LINE REAKCJI POLIMERYZACJI

Tomasz Han, Anna Han

Centrum Badawczo-Rozwojowe Novasome Sp. z o.o.,

51-423 Wrocław ul. Olsztyńska 5

Biodegradowalne polimery ze względu na biotolerancję, aspekty mechaniczne i technologiczne wykorzystuje się w medycynie m.in. w inżynierii tkankowej, chirurgii kostnej. Integrują się z tkankami ustroju, a po spełnieniu swej funkcji są usuwane z organizmu. Stanowią przedmiot wielu prac badawczych obejmujących projektowanie nowych związków, ich charakterystykę, rozwój metod analitycznych zapewniających wysoką jakość i optymalizację procesu wytwarzania.

Celem monitorowania procesów polimeryzacji jest kontrolowanie i uzyskiwanie danych o procesie w dowolnym czasie i na każdym etapie. Umożliwia optymalizację kosztów prac badawczych poprzez: skrócenie czasochłonnych pomiarów, szybkie wykrywanie błędów procesowych, oszczędną gospodarkę materiałami. Śledzenie w czasie rzeczywistym reakcji polimeryzacji polega na analizie kinetyki procesu i mechanizmu reakcji, a także analizie jakościowej i ilościowej uzyskanego polimeru. Charakterystyka technik monitorowania on-line reakcji polimeryzacji obejmuje ocenę przydatności zastosowania w skali laboratoryjnej jak i przemysłowej.

Przegląd publikacji technik monitorowania reakcji polimeryzacji on-line dotyczył metod: spektroskopii w bliskiej podczerwieni (NIR), skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC), densytometrii, konduktometrii, ACOMP (ang. Automatic Continuous Online Monitoring of Polymerization Reactions) oraz FPT (ang. Fluorescence Probe Technology).

Technika spektroskopii w bliskiej podczerwieni jest uniwersalną metodą monitorowania procesu polimeryzacji ze względu na niski koszt analizy oraz na możliwość zastosowania jej w układach polimeryzujących różnego typu np. emulsji czy zawiesiny.

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI KOORDYNACYJNYCH FRAGMENTU BIAŁKA MUCYNY 2 WZGLĘDEM JONÓW ZN(II)

Anna Janicka-Kłos¹, Małgorzata Kowalska, Hanna Czapor-Irzabek²

¹Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki
Medycznej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Pracownia Analizy Instrumentalnej i Badań Strukturalnych Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

W kontekście rosnącej oporności na antybiotyki zasadnym jest poszukiwanie związków o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych bądź związków wspomagających działanie obecnie stosowanych terapeutów. Jednym z typów tego rodzaju związków są peptydy przeciwdrobnoustrojowe (AMP) produkowane przez organizmy żywe w ramach odporności wrodzonej. Wiele z nich zaangażowanych jest w neutralizację endotoksyn patogenów oraz wykazuje właściwości immunomodulacyjne.

Peptydy przeciwdrobnoustrojowe mogą być kodowane w organizmie przez niezależne geny. Wiele z nich syntetyzowanych jest w postaci cząsteczek prekursorowych bądź powstają w wyniku proteolizy innych białek. Efektywne substancje przeciwdrobnoustrojowe pochodzą między innymi z fragmentacji niskocząsteczkowych białek ślinowych histatyny czy mucyny. Na skutek proteolitycznych cięć powstają fragmenty peptydowe wykazujące właściwości przeciwgrzybicze i przeciwbakteryjne. Wzrost właściwości przeciwdrobnoustrojowych tych związków indukowany może być także wiązaniem jonów metali, np. Cu(II) i Zn(II), najprawdopodobniej na skutek zmian strukturalnych umożliwiających oddziaływanie z błonami patogenu bądź na skutek wnikania związku w komórki drobnoustrojów. Stosując metody potencjometrii oraz spektrometrii mas zbadano właściwości koordynacyjne fragmentu białka mucyny2 (KSHFELPHYGLLAHQ) oraz jego analogów (KSAFELPHYGLLAHQ i KSHFELPAYGLLAHQ) względem jonów Zn(II). Określono stechiometrię tworzonych związków kompleksowych oraz wpływ siły jonowej roztworu na tworzenie nierozpuszczalnych związków ligand/jon metalu.

Badania przeprowadzone zostały dzięki finansowaniu otrzymanemu z Fundacji "Farmacja Dolnośląska"

METODY ANALITYCZNE W IDENTYFIKACJI ZWIĄZKÓW SYNTETYCZNYCH NA PRZYKŁADZIE OTRZYMANEGO KWASU 5- {2-[(3-METOKSYFENYLO)METYLIDENO]HYDRAZYN-1-YLO}-3- METYLOIZOTIAZOLO-4-KARBOKSYLOWEGO

Izabela Ješkowiak¹, Marcin Mączyński¹, Stanisław Ryng¹

¹Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej,
Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Borowska 211a, 50-556 Wrocław

Synteza organiczna jest źródłem nowych związków chemicznych o potencjalnej aktywności biologicznej. Dzięki zastosowaniu odpowiednich metod analitycznych jest możliwa weryfikacja uzyskanych produktów.

W trakcie opracowywania i przeprowadzania syntezy biblioteki pochodnych izotiazolowych korzystano z chromatografii cienkowarstwowej przy pomocy, której kontrolowano przebieg reakcji uprzednio dobierając odpowiedni układ chromatograficzny na płytkach Macherey-Nagel Pre-coated TLC ALUGRAM SIL G/UV. Produkty wizualizowano przy użyciu lampy UV Fisher Bioblock Scientific 254 nm. Doświadczalnie wyznaczono optymalny układ chromatograficzny, którym była mieszanina rozpuszczalników chloroform:metanol w stosunku 9:1.

Struktury uzyskanych pochodnych zidentyfikowano za pomocą metod analitycznych takich jak spektrometria mas (MS), spektroskopia w podczerwieni (IR) oraz spektroskopia protonowego rezonansu magnetycznego (¹H NMR). Przedstawiono widma MS, IR oraz ¹H NMR wraz z analizą dla najaktywniejszego związku z serii tj. kwasu 5-{2-[(3-metoksyfenylo)metylideno]hydrazyn-1-ylo}-3-metyloizotiazolo-4-karboksyłowego.

Potwierdzenie masy cząsteczkowej badanego związku wykonano za pomocą spektrometrii mas przy użyciu aparatu Bruker Daltonik ESI-Q-TOF. Analizę oraz symulację wzoru sumarycznego przeprowadzono za pomocą programu DataAnalysis 4.2. Widmo ¹H NMR zarejestrowano przy użyciu spektrofotometru ARX Bruker 300 MHz w DMSO-*d*₆, a widmo IR przy zastosowaniu spektrofotometru w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR) i przystawką ATR produkcji Thermo Scientific USA model Nicolet iS50. Wysokociśnieniowa przystawka ATR umożliwiła szybki pomiar próbki w postaci stałej.

Na podstawie użytych metod potwierdzono masę cząsteczkową, a także określono grupy funkcyjne i szkielety cząsteczek zawierających atomy wodoru badanych związków.

OCENA BEZPIECZEŃSTWA STOSOWANIA NIESTEROIDOWYCH LEKÓW PRZECIWZAPALNYCH U KOBIET W CIĄŻY

Katarzyna Karłowicz-Bodalska¹, Stanisław Han¹, Krystyna Głowacka²,

Anna Wiela –Hojewska²

¹Zakład Farmacji Przemysłowej, ²Katedra i Zakład Farmakologii Klinicznej Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) należą do najlepiej sprzedającej się grupy leków dostępnych bez recepty (OTC). Są powszechnie przepisywane kobietom ciężarnym w schorzeniach przebiegających z podwyższoną ciepłotą ciała, w stanach zapalnych i bólu. Również samoleczenie wzmacniane przez działania marketingowe i reklamę jest często praktykowane przez kobiety ciężarne, co powoduje, że dokładna konsumpcja leków w okresie prenatalnym i ciąży pozostaje nieznana. Czynniki potencjalnie przyczyniającymi się do tego trendu są schorzenia związane ze wzrostem wieku matki oraz rosnące stosowanie leków w populacji. Dane te potwierdzają badania statystyczne, dowodząc, że od 15-50 % kobiet przyjmujących leki z grupy NLPZ nie jest świadoma faktu, że jest w ciąży. Do najczęściej stosowanych w pierwszym trymestrze ciąży, leków z grupy NLPZ należą: ibuprofen, naproksen i aspiryna. Wg autorów ryzyko poronienia u kobiet stosujących NLPZ jest dwukrotnie większe w porównaniu do grupy nie przyjmującej ocenianych leków. Kilkakrotne zwiększenie ryzyka poronienia oraz wystąpienia wad rozwojowych u dziecka następuje, gdy leki te są stosowane dłużej niż tydzień oraz w okresie do 7 dni od zajścia w ciążę. Podawane ciężarnym leki z grupy NLPZ mogą przenikać przez łożysko, docierać do cyrkulacji płodu powodując niepożądane działania embrionalno-płodowe oraz noworodkowe co skutkuje nadciśnieniem płucnym i zaburzeniami czynności nerek u dziecka. Również leki te nie powinny być stosowane w III trymestrze ciąży ze względu na ich działanie tokolityczne, wydłużające czas trwania ciąży i porodu.

Lekarze i farmaceuci powinni rozważyć korzyści i potencjalne ryzyko występowania niepożądanych działań, związanych ze stosowaniem NLPZ zarówno u matki jak i u płodu. Konieczna jest edukacja pacjentów oraz informowanie o tym, że leki przeciwbólowe i przeciwgorączkowe powinny być stosowane u kobiet w ciąży tylko w przypadku bezwzględnej konieczności i przez możliwie najkrótszy czas.

PROJEKTOWANIE CENTRÓW METALICZNYCH UKŁADÓW BIOLOGICZNYCH - NA PRZYKŁADZIE ODZIAŁYWANIA HOMODETYCZNYCH CYKLOPEPTYDÓW Z JONAMI MIEDZI

Aleksandra Kotynia¹, Justyna Brasuń¹

¹Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Wrocławski Uniwersytet Medyczny, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław aleksandra.kotynia@umed.wroc.pl

Enzymy stanowią bardzo liczną grupę biomolekuł o dużej masie cząsteczkowej. Na ogół są to białka, których głównym zadaniem jest katalizowanie reakcji biochemicznych. Bezpośrednio w reakcjach enzymatycznych zaangażowany jest zwykle niewielki jego fragment zwany centrum aktywnym. Działanie wielu enzymów odbywa się za pomocą dwuwartościowych jonów metali, które znajdują się w ich centrach. Wiązanie jonów metali przejściowych, taki jak Cu, Zn, Fe, Co, Ni, Mn, w układach biologicznych odbywa się przede wszystkim przy udziale atomów z łańcuchów bocznych aminokwasów. Projektowanie „małych peptydów”, które są zdolne do wiązania jonów głównie poprzez łańcuchy boczne aminokwasów jest trudnym zadaniem ze względu na udział amidowych atomów azotu w procesie koordynacyjnym, które mogą również silnie oddziaływać z jonem metalu. Jednak konstrukcja takich peptydów jest ważna dla uzyskania biomimetycznych układów. Mając to na uwadze, od lat poszukuje się związków, które byłby w stanie realizować to trudne zadanie.

Badania oddziaływania jonów metali z peptydami opierają się na wykorzystaniu szeregu metod fizykochemicznych takich jak: spektroskopia (UV-Vis, NMR, CD), spektrometria mas, metody elektrochemiczne (potencjometria, woltamperometria). Jednoczesne zastosowanie kilku różnych metod analitycznych pozwala na dokładniejsze scharakteryzowanie powstających form kompleksowych w obrębie badanego układu. Natomiast opisanie jego właściwości fizykochemicznych jest często preludium do dalszych badań biologicznych i aktywności enzymatycznej.

Niniejsza praca przedstawia przegląd dotychczasowych doniesień naukowych dotyczących projektowania niskocząsteczkowych związków koordynacyjnych, które mogłyby naśladować działaniem niektóre enzymy, przede wszystkim dysmutazy ponadtlenkowe. Przedmiotem licznych wcześniejszych badań były peptydy liniowe jako ligandy względem jonów Cu(II), w których sekwencji znajdowała się jedna lub kilka reszt histydylowych. Interesującym nowatorskim podejściem jest wykorzystanie do tego celu cyklopeptydów, między innymi ze względu na ich znacznie większą odporność proteolityczną. Jak się okazało, ich specyficzna struktura wymusza tworzenie się bardziej stabilnych termodynamicznie form kompleksowych, w których to atomy łańcuchów bocznych aminokwasów zaangażowane są w koordynację jonów metalu.

ZASTOSOWANIE METOD SPEKTROSKOPOWYCH I MODELOWANIA MOLEKULARNEGO DO BADAŃ ODZIAŁYWAŃ NOWYCH POCHODNYCH PIRIDYNO-1,3(2H) DIONÓW Z ALBUMINĄ

Edward Krzyżak¹, Dominika Szkatuła², Aleksandra Marciniak¹

¹ Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Uniwersytet Medyczny Wrocław,
ul. Borowska 211a, 50-556 Wrocław

² Katedra i Zakład Chemii Leków, Uniwersytet Medyczny
Wrocław, ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław

Pochodne 1H-pirololo[3,4-c]pirydino-1,3(2H)-dionu są ważnymi związkami o stwierdzonym działaniu analgetycznym. Z biofarmaceutycznego punktu widzenia jedną z najważniejszych funkcji biologicznych albumin jest ich zdolność do przenoszenia leków. Oddziaływanie lek-albumina może doprowadzić do tworzenia kompleksu. Farmakologiczne działanie leku polega m.in. na wzajemnym oddziaływaniu właściwej cząsteczki związku i receptora. Cząsteczka leku związanego z białkiem jest farmakologicznie nieaktywna. Kompleks lek-białko jest zbyt duży, aby przejść przez błony biologiczne i dotrzeć do receptora znajdującego się w tkankach. Większość leków wiąże się z białkiem odwracalnie przy udziale wiązań wodorowych, oddziaływań hydrofobowych lub sił van der Waalsa, tworząc kompleks z którego stopniowo uwalniają się cząsteczki leku. Ważne jest więc określenie charakteru oddziaływań lek-albumina.

W toku niniejszych pracy otrzymano dwie pochodne 1H-pirololo[3,4-c]pirydino-1,3(2H)-dionu. Stosując metody spektroskopii fluorescencyjnej i spektroskopię dichroizmu kołowego zbadano interakcje analogów z albuminą. Stwierdzono tworzenie się kompleksów i wyznaczono stałe wiązania. Stosując markery ibuprofen i fenylobutazon, określono miejsca wiązania. Stwierdzono, że preferowane miejsca wiążące znajdują się w subdomenach IIA i IIIA. Metodami obliczeniowymi przeprowadzono dokowanie molekularne badanych związków do albuminy. Wyznaczono preferowane miejsca powstawania kompleksu, charakter oddziaływania i energię wiązania. Obliczenia wykazała dominującą rolę oddziaływań van der Waals i wiązań wodorowych w stabilizacji utworzonych kompleksów.

MIKROEKSTRAKCJA DO FAZY STACJONARNEJ- PRZYJAZNA ŚRODOWISKU METODA ANALIZY TOKSYKOLOGICZNEJ

Pola Piatkowska¹, Marta Ogorzałek¹, Izabela Raudner¹, Barbara Kupaj¹

¹Studenckie Koło Naukowe Toksykologiczne, Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Analiza toksykologiczno-sądowa to obszar analizy zajmujący się przede wszystkim identyfikacją i oznaczaniem śladowych ilości leków, substancji psychoaktywnych i innych ksenobiotyków oraz ich metabolitów w materiale biologicznym. Przygotowanie próbki do badania, stanowiące etap poprzedzający oznaczenie ilościowe, ma kluczowe znaczenie dla uzyskania miarodajnych wyników analitycznych, stąd też niezwykle ważny jest dobór odpowiedniej metody. Dominującymi metodami przygotowania próbki do badań i wyodrębnienia badanego związku chemicznego z materiału biologicznego są techniki ekstrakcyjne. Tradycyjnymi, starszymi metodami ekstrakcji jest ekstrakcja w układzie ciecz-ciecz (LLE, *liquid – liquid extraction*) i ekstrakcja do fazy stałej (SPE, *solid phase extraction*). Metody te są współcześnie stosowane, a ich wadą jest pomijanie aspektów ekologicznych, wymagają one bowiem - zwłaszcza LLE - użycia czystych, toksycznych rozpuszczalników organicznych.

W dobie rozwoju zielonej chemii analitycznej (GAC, *green analytical chemistry*) na popularności zyskują metody przygotowania próbki do analizy bez użycia rozpuszczalników, spośród których najbardziej znaną jest technika mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME, *solid phase microextraction*), będąca odmianą SPE w skali mikro. Oprócz wyeliminowania użycia toksycznych rozpuszczalników organicznych, SPME odznacza się wysoką czułością, uniwersalnością, wydajnością, opłacalnością, miniaturyzacją procesu ekstrakcji oraz możliwością pobierania próbek *in-situ* i *in-vivo*. Dzięki wysokiej czułości tej metody możliwe jest wykrywanie substancji przy niewielkich stężeniach i oznaczanie materiału biologicznego takiego jak ślina, pot czy włosy.

Technika SPME stanowi eko-przyjazną metodę, która oprócz uniwersalnego zastosowania (m.in. w analizie toksykologicznej) i minimalizacji ilości błędów na etapie przygotowania próbki, pozwala na ograniczenie negatywnego wpływu tego etapu na środowisko i zdrowie badaczy.

WOLTAMPEROMETRYCZNE OZNACZANIE KWASU FLUFENAMOWEGO PRZY UŻYCIU ELEKTRODY Z WĘGLA SZKLISTEGO MODYFIKOWANEJ WARSTWĄ POLI-N-ACETYLOANILINY

Anna Kwiecień¹, Adam Sroka¹, Irena Majerz¹

¹Katedra i Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Metody woltamperometryczne należą do podstawowych narzędzi w analizie farmaceutycznej i biomedycznej. Charakteryzują się one wysoką czułością, dokładnością oraz precyzją możliwą do uzyskania przy użyciu stosunkowo niedrogiej aparatury. Do innych zalet tej grupy metod elektroanalitycznych zaliczyć można niski poziom detekcji, szeroki zakres liniowości wskazań, możliwość stosowania w analizie specjalizacyjnej możliwość zastosowania w analizie bezpośredniej (bez uprzedniej ekstrakcji i oczyszczania materiału) oraz redukcja użycia i generacji niebezpiecznych substancji w trakcie analizy. Dzięki tym zaletom, metody elektroanalityczne znalazły swoje zastosowanie zarówno w badaniach podstawowych jak i w oznaczaniu substancji aktywnych w materiale biologicznym [1].

W metodach woltamperometrycznych rejestruje się zależności prądowo-napięciowe. Zastosowanie w analizie elektrod modyfikowanych chemicznie pozwala na uzyskanie lepszej precyzji i selektywności oznaczeń a co za tym idzie możliwością wykorzystania tych elektrod jako czujników selektywnych względem poszczególnych indywiduów chemicznych bądź specyficznych grup funkcyjnych.

Kwasy fenamowe są grupą Niesteroidowych Leków Przeciwzapalnych, pochodnych kwasu antranilinowego. Używane są w leczeniu bólu, gorączki, stanów zapalnych, zaburzeń miesiączkowania, ostrej dny moczanowej oraz migreny. Ich działanie polega na inhibicji cyklooksygenazy COX-1 i COX-2. Ze względu na niepożądane działania uboczne, farmakologiczne zastosowanie znalazły tylko cztery związki z tej grupy: kwas mefenamowy, kwas tolfenamowy, kwas meklofenamowy oraz kwas flufenamowy [2].

W prezentacji przedstawiono wyniki oznaczania kwasu flufenamowego z wykorzystaniem elektrod na bazie węgla szklanego modyfikowanego chemicznie filmem polimerowym (poli-N-acetyloanilina - PNAANI). Zaprezentowano metodę otrzymywania elektrody modyfikowanej chemicznie, badanie elektrochemicznego procesu utlenienia kwasu flufenamowego, wpływu pH oraz szybkości zmiany potencjału na odpowiedź elektrochemiczną układu oraz zastosowanie metody w analizie ilościowej kwasu flufenamowego w środowisku wodnym (krzywa kalibracyjna, zakres liniowości oraz limit detekcji).

[1] S.A. Ozkan, B. Uslu, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 130 (2016) 126–140.

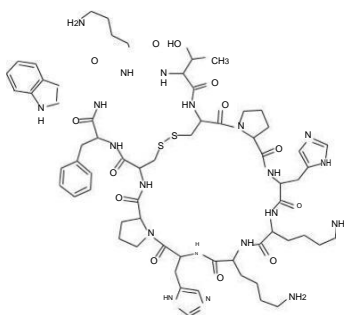
[2] Graham, G. G. (2016) Fenamates, in *Compendium of Inflammatory Diseases* (Parnham, M. J., Ed.), pp 477– 482, Springer Basel, Basel

ZASTOSOWANIE METOD SPEKTROSKOPOWYCH I MIARECZKOWANIA POTENCJOMETRYCZNEGO DO ANALIZY ODDZIAŁYWANIA BICYKLICZNEJ POCHODNEJ SOMATOSTATYNY Z JONAMI MIEDZI(II)

Aleksandra Marciniak¹, Weronika Witak¹, Justyna Brasuń¹

¹*Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław*

Somatostatyna (SST) to hormon peptydowy produkowany przez komórki neuronalne, neuroendokrynne, komórki układu odpornościowego i komórki nowotworowe. Reguluje ona wiele funkcji fizjologicznych, poprzez specyficzne komórki receptorów błonowych. 5 różnych receptorów somatostatynowych zostało zidentyfikowanych i sklasyfikowanych odpowiednio jako SSTR1-SSTR5. Natywna SST ma krótki okres półtrwania (około 3 minut), co uniemożliwia jej zastosowanie w medycynie. Dlatego też zsyntezowano jej analogi, które charakteryzują się wysokim powinowactwem do receptorów somatostatynowych i wykazują działanie zbliżone do natywnego peptydu. W ramach opisywanych badań analizowano nową bicykliczną pochodną SST, w której w obrębie jednego łańcucha peptydowego znajduje się charakterystyczny dla somatostatyny cykliczny fragment –CFWKTC-, odpowiedzialny za interakcje z receptorami, oraz fragment z dwiema resztami His zdolny do skoordynowania jonu metalu (Rys. 1). Dzięki tak skonstruowanej cząsteczce nie ma potrzeby wprowadzania organicznego chelatora i łącznika, jak to ma miejsce w przypadku używanych leków, a jon miedzi(II) łączy się bezpośrednio z cząsteczką peptydu. Jest to nowatorskie podejście do projektowania analogów SST. Zastosowanie metod spektroskopowych i miareczkowania potencjometrycznego pozwoliło ustalić sposób koordynacji jonu metalu przez analizowany peptyd bicykliczny i zidentyfikować atomy donorowe w powstających formach kompleksowych.



Rys. 1. Bicykliczny analog SST o sekwencji c(c(CFWKTC)PHKKHP).

FINANSOWANIE

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Projekt nr STM.D080.18.007.

KOMPLEKSY METALI Z POCHODNYMI POLIMYKSYNY B – NOWA PERSPEKTYWA TERAPII ANTYBIOTYKOOPORNYCH ZAKAŻEŃ

Aleksandra Mikołajczyk¹, Karolina Krzywoszyńska², Magdalena Rowińska-Żyrek³,
Agnieszka Matera-Witkiewicz¹

¹Pracownia Przesiewowych Testów Aktywności Biologicznej i Gromadzenia Materiału Biologicznego, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Borowska 211A, 50556 Wrocław ²Państwowa Medyczna Szkoła Zawodowa w Opolu, Katowicka 68, 45060 Opole ³Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski, ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław

Jednym z kluczowych problemów zdrowia publicznego i współczesnej medycyny jest ekspansja opornych na antybiotyki szczepów bakterii chorobotwórczych. Tempo narastania lekooporności w ostatnich latach jest przerażające, co stawia wiele strategicznych pytań charakterze klinicznym, epidemiologicznym, społeczno-ekonomicznym i politycznym [1].

Bezpieczeństwo pacjenta jest zagrożone ze względu na często nieskuteczną terapię i dodatkowe działania niepożądane antybiotyków oraz zwiększoną śmiertelność spowodowaną zakażeniami. Co więcej, brak jest antybiotyków w II i III fazie badań klinicznych, które mogłyby być skuteczne w leczeniu tych zakażeń. W odpowiedzi na te negatywne zjawiska pojawił się pomysł, aby **wspierać także badania dotyczące znanych już antybiotyków w kierunku ich modyfikacji**, ulepszania oraz nowych zastosowań [2,3].

W ramach projektu prowadzono badania z wykorzystaniem polimyksyny B, jako struktury wiodącej. Biorąc pod uwagę dwuetapowy mechanizm działania tego antybiotyku, zostały zaprojektowane dwa analogi (**S10**, **S11**). Dzięki zastosowaniu szerokiego spektrum metod badawczych [miareczkowanie potencjometryczne, UV-Vis, ESI-MS, CD- dla Cu(II), EPR- dla Cu(II)] określono sposób i siłę wiązania polimyksyny B oraz dwóch analogów z jonami Cu(II) i Zn(II). Dla badanych kompleksów oznaczono także MBC.

Wyniki wskazują, iż badane związki skutecznie wiążą jony Cu(II) i Zn(II), tworząc monomeryczne kompleksy. Analiza właściwości p/drobnoustrojowych z użyciem szczepów wzorcowych *P. aeruginosa* (PAW), *E. coli* (CEW) i *K. pneumoniae* (KPW) wykazała zadowalające wartości MBC dla połączenia polimyksyny B z jonami Zn(II) przeciwko wszystkim badanym szczepom. Pochodna S11 oraz jej kompleksy z jonami Cu(II) i Zn(II) wykazały również działanie przeciwko CEW. Związki S10 i S11 były nieaktywne w kierunku KPW oraz PAW. Związek S10 wykazał jedynie ograniczone działanie przeciwko PAW.

Badania cytotoksyczności dla układów wykazujących aktywność p/drobnoustrojową wykonano na liniach L929 oraz RPTEC w zakresie stężeń charakterystycznych dla polimyksyny B stosowanej w lekach ocznych oraz roztworze do iniekcji. Wyniki wykazały różną wartość cytotoksyczności dla badanych układów.

Podziękowania: Badania zostały przeprowadzone i sfinansowane w ramach projektu dla Młodych Naukowców „Wpływ wiązania jonów metali na chemiczne i biologiczne właściwości polimyksyny B jej nowych pochodnych; potencjalna nowa strategia odwracania lekooporności”STM.D250.16.040

[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

KONIECZNOŚĆ USTALENIA ZAKRESU REFERENCYJNEGO DLA METODY DENSYTOMETRYCZNEJ OCENY ILOŚCI BIAŁEK BŁONOWYCH WYKORZYSTYWANEJ DO DIAGNOSTYKI MEMBRANOPATII ERYTROCYTÓW

Adrianna Łoniewska-Lwowska¹, Katarzyna Koza¹, Jadwiga Fabijańska-Mitek¹, Lilla Pawlik-Sobecka²

¹*Zakład Immunoematologii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie*

²*Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
lilla.pawliksobecka@umed.wroc.pl*

Najczęściej występującym w populacji północnoeuropejskiej rodzajem wrodzonej niedokrwistości hemolitycznej jest sferocytoza wrodzona (hereditary spherocytosis, HS). Jej rozpowszechnienie określa się na 1:2000 urodzeń. Erytrocyty chorych charakteryzują się zmienionym kształtem, przyjmują formę sferocytów, wykazują obniżone zdolności reologiczne i skrócony czas przeżycia. Zmiany te wynikają z zaburzeń budowy i kompozycji białkowej błony komórkowej oraz cytoszkieletu krwinek czerwonych. Pierwotny defekt białkowy najczęściej dotyczy jednego lub kilku z następujących białek: spektryna α i β , ankiryne, białko pasma 3 (AE1), a także białko 4.2.

Diagnostyka tej choroby obejmuje badanie z wykorzystaniem cytometru przepływowego oraz barwnika fluorescencyjnego (tzw. test EMA) oraz ocenę oporności osmotycznej. Niestety przy pomocy tych metod diagnostyka HS o nietypowym obrazie nie daje jednoznacznych wyników.

W przypadku podejrzenia HS o nietypowym obrazie lub ciężkim przebiegu klinicznym wykonuje się półilościową analizę składu białkowego błony erytrocytów, która pozwala na jakościową i ilościową ocenę niedoborów białek w błonie. Na elektroforogramie widoczne są zmniejszone ilości białka, w stosunku do którego wystąpiła mutacja oraz białek od niego zależnych.

Przygotowanie materiału do analizy obejmuje izolację białek błonowych erytrocytów pacjenta oraz ich rozdzielanie za pomocą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym (SDS-PAGE). Po zakończeniu procesu rozdzielania elektroforetycznego, żel poddaje się wybarwieniu barwnikiem **Coomassie Brilliant Blue**. Ilościowa ocena obejmuje analizę densytometryczną uzyskanego obrazu. Określenie stopnia deficytu/-ów białek obejmuje porównanie wartości liczbowych dla białek: spektryny α i β , ankiryne, białka pasma 3 (AE1), oraz białka 4.2. w błonach erytrocytów pacjenta z próbką osoby zdrowej.

Ustalenie zakresu referencyjnego dla ilości białek w błonach erytrocytów u osób zdrowych pozwoli na właściwą interpretację uzyskanych **wyników. Obecnie gromadzone są wyniki oznaczeń w celu określenia zakresu referencyjnego dla populacji polskiej.**

MIKROEKSTRAKCJA DO FAZY STACJONARNEJ- PRZYJAZNA ŚRODOWISKU METODA ANALIZY TOKSYKOLOGICZNEJ

Pola Piatkowska¹, Marta Ogorzałek¹, Izabela Raudner¹, Barbara Kupaj¹

¹Studenckie Koło Naukowe Toksykologiczne, Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Analiza toksykologiczno-sądowa to obszar analizy zajmujący się przede wszystkim identyfikacją i oznaczaniem śladowych ilości leków, substancji psychoaktywnych i innych ksenobiotyków oraz ich metabolitów w materiale biologicznym. Przygotowanie próbki do badania, stanowiące etap poprzedzający oznaczenie ilościowe, ma kluczowe znaczenie dla uzyskania miarodajnych wyników analitycznych, stąd też niezwykle ważny jest dobór odpowiedniej metody. Dominującymi metodami przygotowania próbki do badań i wyodrębnienia badanego związku chemicznego z materiału biologicznego są techniki ekstrakcyjne. Tradycyjnymi, starszymi metodami ekstrakcji jest ekstrakcja w układzie ciecz-ciecz (LLE, *liquid – liquid extraction*) i ekstrakcja do fazy stałej (SPE, *solid phase extraction*). Metody te są współcześnie stosowane, a ich wadą jest pomijanie aspektów ekologicznych, wymagają one bowiem - zwłaszcza LLE - użycia czystych, toksycznych rozpuszczalników organicznych.

W dobie rozwoju zielonej chemii analitycznej (GAC, *green analytical chemistry*) na popularności zyskują metody przygotowania próbki do analizy bez użycia rozpuszczalników, spośród których najbardziej znaną jest technika mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME, *solid phase microextraction*), będąca odmianą SPE w skali mikro. Oprócz wyeliminowania użycia toksycznych rozpuszczalników organicznych, SPME odznacza się wysoką czułością, uniwersalnością, wydajnością, opłacalnością, miniaturyzacją procesu ekstrakcji oraz możliwością pobierania próbek *in-situ* i *in-vivo*. Dzięki wysokiej czułości tej metody możliwe jest wykrywanie substancji przy niewielkich stężeniach i oznaczanie materiału biologicznego takiego jak ślina, pot czy włosy.

Technika SPME stanowi eko-przyjazną metodę, która oprócz uniwersalnego zastosowania (m.in. w analizie toksykologicznej) i minimalizacji ilości błędów na etapie przygotowania próbki, pozwala na ograniczenie negatywnego wpływu tego etapu na środowisko i zdrowie badaczy.

ZASTOSOWANIE NOWYCH METOD ANALITYCZNYCH W BADANIACH FITOCHEMICZNYCH *HYPERICUM PERFORATUM*

Julia Piechaczek¹, Adam Kowalczyk²

¹Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Substancje roślinne są szeroko stosowaną grupą produktów leczniczych. Właściwości farmakologiczne preparatu roślinnego zależą od obecnych w nim składników fitochemicznych. W porównaniu do leków syntetycznych, preparaty roślinne ze względu na bardzo złożony skład chemiczny sprawiają trudności w uzyskaniu jednolitych produktów o powtarzalnej zawartości substancji aktywnych. Tak zróżnicowany skład chemiczny może być spowodowany m.in. czasem i miejscem zbioru, procesem suszenia lub pochodzeniem rośliny. Wymagania jakościowe wobec stosowanych preparatów roślinnych stale rosną, w związku z tym, zmianie powinny ulegać także zalecane metody badania ich jakości. Nowe metody analityczne są bardziej precyzyjne, ale wiążą się zazwyczaj z większymi kosztami wykorzystanej do tego celu aparatury. Przykładem może być ziele dziurawca zwyczajnego – *Hyperici herba*, który wchodzi w skład licznych preparatów o działaniu antydepresyjnym, spazmolitycznym czy żółciopędnym i żółciotwórczym. Farmakopea Polska XI przewiduje badanie tożsamości ziele dziurawca metodą wysokosprawnej chromatografii cienkowarstwowej oraz badanie spektrofotometryczne zawartości hiperycyny [1]. W prezentacji zostaną scharakteryzowane nowsze metody analityczne m.in. takie jak HPLC-DAD, UPLC-DAD czy LC-MS nie ujęte w standardowych badaniach ziele dziurawca, pozwalające jednak na bardziej wnikliwą analizę związków naturalnych odpowiedzialnych za szerokie spektrum działania farmakologicznego tej substancji roślinnej [2,3,4].

Bibliografia:

1. *Hyperici herba*. *Farmakopea Polska XI*. Rzeczpospolita Polska Minister Zdrowa, Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych. Warszawa 2017: 1641-1643.
2. Booker, A., Csupor, D., Agapouda, A., Heinrich, M., Hohmann, J., & Kiss, T. (2017). Quality control of *Hypericum perforatum* L. analytical challenges and recent progress. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(1), 15–37.
3. Barnes, J., Arnason, J. T., & Roufogalis, B. D. (2019). St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): botanical, chemical, pharmacological and clinical advances. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(1), 1–3.
4. Adam K.P., Becker, H. (Hrsg.). (2000). *Analytik biogener Arzneistoffe*. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges

SPEKTROSKOPIA W PODCZERWIENI W BADANIU ZMIAN STRUKTURALNYCH ALBUMINY OSOCZOWEJ Z WITAMINĄ B6

K. Wiglusz¹, **P. Plich**¹, R.J. Wiglusz²

¹Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Borowska 211 A, 50-566 Wrocław

²Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych, Polska Akademia Nauk, ul. Okólna 2, 50-422 Wrocław

Ludzka albumina osoczowa pełni istotne funkcje transportu i odwracalnego wiązania leków. Powstanie układów kompleksowych leku z białkiem jest zależne od jego powinowactwa, co warunkuje jego aktywność biologiczną, metabolizm i skuteczność działania. Dlatego badania nad interakcjami białko-lek ma ogromne znaczenie w farmakologii.

Podczas wiązania leku z białkami może dochodzić do zmian ich struktury, dlatego przydatną techniką do oceny struktury drugorzędowej białka jest spektroskopia w podczerwieni (FT-IR).

Zastosowanie techniki FT-IR zostało wykorzystane do badania oddziaływania pirydoksyny (witaminy B6) z ludzką albuminą osoczową. Witamina B6 jest niezbędnym czynnikiem w wielu reakcjach enzymatycznych związanych głównie z metabolizmem aminokwasów, tłuszczów, a także jest odpowiedzialna za prawidłowe funkcjonowanie układu nerwowego i wytwarzanie czerwonych krwinek. Witamina ta jest stosowana w leczeniu trądziku, oparzeń słonecznych, szorstkości i świądu skóry.

Widma FT-IR wykazały, że konformacja białek uległa zmianie w obecności witaminy B6. Oceniono również interakcje albuminy z lekiem przy obecności jonów magnezu. Suplementacja jonami magnezu jako ważnego makroelementu jest często wykorzystywana podczas niedoboru witaminy B6. Przeprowadzone badania wskazują na istniejącą zależność pomiędzy stężeniem jonów magnezu a zmianami konformacyjnymi białka. Pomiaru temperatury posłużyły do oceny stabilności białka i temperatury denaturacji, opierając się na analizie kształtu i zmian położenia pasma amidowego I przy 1640 cm^{-1} (odpowiadające głównie drganiom rozciągającym wiązania C=O białka).

Dodatkowo zastosowano procedurę modelowania molekularnego do określenia powinowactwa wiązania witaminy B6 do albuminy, które wskazały, że pirydoksyna wiąże się z miejscem I wiązania leków. Wykazano, że przy tworzeniu kompleksu witaminy B6 i albuminy, główną rolę odgrywają siły elektrostatyczne i wiązania wodorowe.

Badania zmian struktury II-go rzędowej albuminy pod wpływem pirydoksyny i dodatkowo przy obecności jonów magnezu wskazują na przydatność spektroskopii w podczerwieni w analizie zmian konformacyjnych białek.

WYKORZYSTANIE METOD OBLICZENIOWYCH DO ANALIZY STRUKTURY DIKUMAROLU

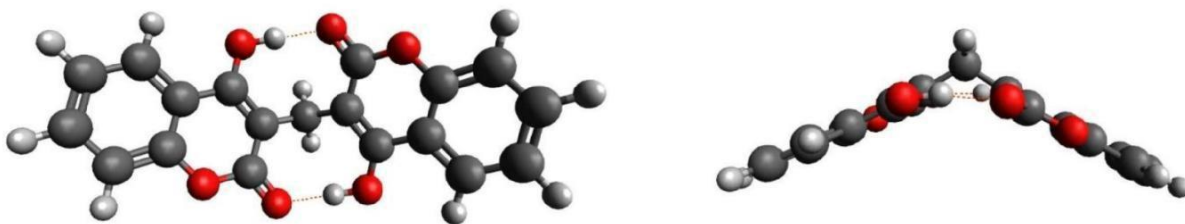
Małgorzata Polesiak¹, Irena Majerz¹

¹Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Katedra i Zakład Chemii Analitycznej, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław

Dikumarol to pochodna hydroksykumaryny, która może być otrzymywana ze zgniłego ziela nostrzyka. Ma właściwości przeciwzakrzepowe, w związku z czym często nazywany jest antywitaminą K. Interesującą cechą dikumarolu jest obecność dwóch wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych, które wymuszają wygięty kształt cząsteczki.

W związku z niepłaską budową cząsteczki dikumarolu interesujące jest zbadanie struktury i wiązań wodorowych w zależności od wzajemnego ułożenia dwóch części cząsteczki złożonych z pierścienia benzenowego i skumulowanego z nim pierścienia δ -laktonowego. Wykonano obliczenia energii zmieniającej się pod wpływem obrotu obu części dikumarolu względem centralnych wiązań C-C. Skan energii przeprowadzono dla odpowiedniego kąta torsyjnego zmieniającego się co 10° przy pełnej optymalizacji pozostałych elementów struktury.

Zmiana gęstości elektronowej i długości wiązań w pierścieniach dikumarolu podczas obrotu obu części cząsteczki wokół mostka $-\text{CH}_2-$ może ułatwić zrozumienie wpływu wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych na strukturę, inne oddziaływania wewnątrzcząsteczkowe i rozkład gęstości elektronowej cząsteczki dikumarolu a w dalszej konsekwencji pozwoli na zbadanie oddziaływań dikumarolu w układach o znaczeniu biologicznym.



[1] Irena Matławska, Farmakognozja, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, 2008, wyd. 3.

OGÓLNA ZAWARTOŚĆ FLAWONOIDÓW I AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA *IN VITRO* WYBRANYCH TAKSONÓW RODZAJU *THYMUS*

Martyna Przychodna¹, Dominika Kaput¹, Klara Seelbach¹, Sylwia Sopata¹, Natalia Stępień¹, Adam Kowalczyk²

¹ Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

² Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Rodzaj *Thymus* należący do rodziny *Lamiaceae* obejmuje ponad 300 gatunków roślin rosnących na obszarze Europy, Azji i północnej Afryki [1]. Najbardziej znanym gatunkiem z tego rodzaju jest tymianek pospolity - *Thymus vulgaris* L., którego ziele charakteryzuje się obecnością wielu związków biologicznie aktywnych takich jak olejek eteryczny, związki polifenolowe w tym flawonoidy i kawotanoidy czy związki triterpenowe [2]. Ziele tymianku znalazło szerokie zastosowanie w leczeniu m.in. jako *remedium expectorans*, *antisepeticum*, *spasmolyticum* i *digestivum* [3]. Jest także popularną przyprawą, dlatego hodowane są również liczne jego odmiany wykorzystywane do celów kulinarnych. Materiał do badań stanowiło ziele dziesięciu gatunków rodzaju *Thymus*, w tym ośmiu gatunków hodowlanych, które zebrano w okresie kwitnienia w roku 2018. Z materiału badawczego sporządzono napary wodne oraz wyciągi alkoholowe przy użyciu 50% wodnego roztworu metanolu. Wykonana analiza obejmowała ocenę ogólnej zawartości związków flawonoidowych w badanych taksonach metodą spektrofotometryczną w przeliczeniu na kwercetynę. Przeprowadzono także ocenę ich aktywności antyoksydacyjnej *in vitro* metodą oznaczania zdolności redukcji jonów Fe^{3+} oraz neutralizacji rodnika DPPH. Większość wyciągów alkoholowych w porównaniu do naparów wodnych charakteryzowała się zarówno wyższą ogólną zawartością flawonoidów jak i silniejszą aktywnością przeciwutleniającą.

Bibliografia:

1. Salehi B. et al., *Thymus* spp. plants - Food applications and phytopharmacy properties, *Trends in Food Science and Technology*, 2019, 85, 287-293.
2. Tohidi B., Rahimmalek M., Arzani, A. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran, *Food Chemistry*, 2017, 220, 153-161.
3. Salehi B. et al., Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses, *Phytotherapy Research*, 2018, 32 (9), 1688-1706.

Finasowanie: Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ST.D110.17.027

PRÓBY IDENTYFIKACJI GAZOWYCH PRODUKTÓW ROZKŁADU WYBRANYCH SUBSTANCJI LECZNICZYCH METODĄ SPEKTROSKOPII FTIR

Przemysław Skibiński¹, Patrycja Styś², Dariusz Sarzyński¹

¹Katedra i Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej,
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Magistrantka w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny
z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Opracowywana procedura analityczna bazuje na pomiarze gazowych produktów rozkładu temperaturowego wybranych substancji farmaceutycznych: paracetamolu, ibuprofenu, kwasu acetylosalicylowego, chlorowodoru efedryny, laktozy jednowodnej, kwasu cytrynowego oraz chlorowodoru oksytetracykliny z wykorzystaniem spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR)

Badane związki ogrzewano w próżniowym reaktorze kwarcowym, umieszczanym w piecu elektrycznym z regulacją temperatury z dokładnością do 1^oC. Próbki utrzymywano w warunkach wysokiej próżni do momentu usunięcia zaadsorbowanych na ich powierzchni gazów i wilgoci. Następnie, w oparciu o dane literaturowe uzyskane za pomocą pomiarów termogravimetrycznych (TG) oraz skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC), w kolejnych etapach prac temperaturę reaktora podwyższano do wartości podanych w literaturze jako: temperatura przemiany fazowej, temperatura ubytku mas lub temperatura kolejnych stopni rozkładu.

Gazowe produkty zbierano w kuwecie do pomiarów FTIR o drodze optycznej 10 cm i oknach z KBr. Wyjściowe widma użytych substancji wykonywano z wykorzystaniem przystawki ATR (Attenuated Total Reflectance) z kryształem diamentowym. Ciśnienie analitu określano z dokładnością do $1,3 \cdot 10^{-4}$ atm. Pomiar widm wykonywano w zakresie $400-4000 \text{ cm}^{-1}$ a ich interpretacji dokonywano z wykorzystaniem dostępnych baz danych.

ZASTOSOWANIE METOD ANALITYCZNYCH W BADANIU DOPOCHWOWYCH POSTACI LEKU

Michał Smoleński¹, Aneta Szyposz², Agnieszka Bodalska³, Dorota Haznar-Garbacz¹,
Katarzyna Małolepsza-Jarmołowska¹

¹Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem
Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²SKN Technologii Postaci Leku, Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Wydział
Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem
Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Opiekun Pracy: Dr hab. n. farm. Katarzyna Małolepsza-Jarmołowska

Układ rozrodczy kobiety ze względu na bogate unaczynienie wykorzystywany jest jako jedna z dróg podania leku. Zaletą tego typu rozwiązania jest pominięcie efektu pierwszego przejścia leku przez wątrobę i jelita. Korzystnym rezultatem tego rozwiązania jest zmniejszenie dawki stosowanego leku przy zachowaniu skuteczności terapii. Dopochwowo można aplikować leki działające ogólnie i w miejscu podania. Uwarunkowania anatomiczno-fizjologiczne pochwy u kobiet, takie jak: osobnicza i czasowa zmienność grubości nabłonka pochwy, zmienna ilość, skład i wartość odczynu wydzieliny pochwowej, zależna od faz cyklu menstruacyjnego, determinują wiele cech preparatów.

Badania nad nowymi postaciami leków dopochwowych wymagają przeanalizowania wielu zależności, w tym szeregu zmiennych: warunków fizyko-chemicznych środowiska, napięcia powierzchniowego, termowrażliwości, właściwości reologicznych, klirensu wydzieliny pochwowej. Odpowiednio dobrane metody analityczne mogą znacząco wpłynąć na dokładność pomiarów eksperymentalnych z przełożeniem na skuteczność i bezpieczeństwo zaprojektowanych leków.

Celem pracy jest analiza metod badania *in vitro* dopochwowych postaci leku o charakterze żeli i emulsji na podstawie dostępnego piśmiennictwa.

W zależności od rodzaju badanej postaci leku należy zastosować odpowiedni tryb postępowania doświadczalnego. Niezależnie od postaci wszystkie preparaty dopochwowe ze względu na specyfikę anatomiczno-fizjologiczną pochwy powinny być przebadane pod względem odczynu, lepkości, adhezji, dostępności farmaceutycznej substancji czynnej.

Z analizy metod badawczych w dostępnej literaturze wynika, że dla żeli przeprowadzane są badania: pH, osmolarności, tekstury, adhezyjności, lepkości, temperatury żelowania, uwalniania substancji czynnej i testy stabilności.

W pracach eksperymentalnych dotyczących właściwości emulsji wykorzystywane są: pomiar wielkości cząstek i potencjału zeta, badanie adhezyjności, przygotowywanie diagramów fazowych (badania preformulacyjne), badania uwalniania *in vitro* i pomiar lepkości.

Projektowanie techniką 3D i wykorzystywanie modelu pochwy do badań *in vitro*, umożliwia obserwację zmian zachodzących podczas aplikacji serii preparatów.

METODY ANALITYCZNE STOSOWANE W PRZEMYSŁE KOSMETYCZNYM

Aneta Starzec¹, Malwina Brożyna², Izabela Fecka¹

¹Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Każdego roku przemysł kosmetyczny wytwarza nowe środki kosmetyczne i produkty do pielęgnacji. Podstawowym problemem w produkcji kosmetyków jest zapewnienie bezpieczeństwa konsumentom oraz czystości mikrobiologicznej produktów. Bezpieczeństwo produktów kosmetycznych na rynku Unii Europejskiej zapewnia system obejmujący szereg elementów i uczestników rynku oraz instytucji. Ocenę wpływu na bezpieczeństwo zdrowia ludzi przygotowuje się z uwzględnieniem przepisów prawa, oceny ryzyka substancji chemicznych, dermatologii, fizjologii, toksykologii (w tym farmakologii i toksykokinetyki), chemii (w tym fizykochemii, chemii organicznej i nieorganicznej), kosmetologii, mikrobiologii, botaniki, biologii i wielu innych.

Każdy gotowy preparat oraz półprodukty kosmetyczne przechodzą szereg czynności i badań, w skład których wchodzi m. in. ocena zgodności z przepisami prawa, testy toksykologiczne, dermatologiczne, aplikacyjne, aparaturowe oraz mikrobiologiczne. Produkt kosmetyczny trafia do obrotu i Krajowego Systemu Informacji o Kosmetyku dopiero po skompletowaniu dokumentów i raportów oceniających bezpieczeństwo i skuteczność działania.

W niniejszej pracy zostaną przedstawione niektóre z metod analitycznych stosowane podczas produkcji środków kosmetycznych i produktów do pielęgnacji.

JAK SZYBKO ZAPOBIEGAĆ GROŹNYM ZATRUCIOM POKARMOWYM? WYKRYWANIA E. COLI O157: H7 PRZY UŻYCIU MIKROWAGI KWARCOWEJ

Katarzyna Synowiec¹, Karolina Szwed¹, Aleksandra Tomczak¹, Ewa Sawicka²

¹Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Każdego roku około 48 milionów ludzi cierpi na groźne zatrucia pokarmowe, z czego ponad 90 procent jest spowodowanych przez 15 patogenów E. coli, m.in. O157: H7. Objawy wywołane przez zakażenie E. coli O157: H7 obejmują ciężką, ostrą biegunkę krwotoczną, skurcze brzucha oraz zespół hemolityczno-mocznicy (HUS). Przebieg zatrucia u dzieci jest zazwyczaj dużo poważniejszy, objawy mają nasilony charakter i mogą być przyczyną groźnych konsekwencji zdrowotnych. Dlatego szybkie wykrywanie patogenów przenoszonych przez żywność ma kluczowe znaczenie dla zapewnienia bezpieczeństwa żywności.

Do wykrywania jest używana technika SELLEX, która wykorzystuje identyfikację tzw. aptamerów- jednoniciowych DNA (ssDNA) lub oligonukleotydów RNA, które są zdolne do specyficznego wiązania z wybranymi cząsteczkami (całymi komórkami, białkami, peptydami). W porównaniu z przeciwciałami, aptamery wykazują podobnie wysokie powinowactwa do odpowiednich cząsteczek, ich synteza chemiczna nie wymaga dużych nakładów finansowych, łatwo można je modyfikować oraz są termostabilne i nie immunogenne. Aptamery są zwykle wybierane przez systematyczną ewolucję ligandów przez wykładnicze wzbogacanie (SELEX). Badanie wykrywa aptamery specyficznie związane z Escherichia coli O157: H7 przy użyciu całej bakterii SELEX poprzez zbudowanie biosensora QCM (mikrowagi kwarcowej). QCM to oparty na masie biosensor piezoelektryczny, który umożliwia wykrycie zmiany masy do poziomu nanograma. Na podstawie efektu piezoelektrycznego przesunięcie częstotliwości oscylacji kwarcu jest proporcjonalne do zmiany masy osadzonej na powierzchni kwarcu. QCM jest wysoce odpowiedni do monitorowania interakcji molekularnych w czasie rzeczywistym na powierzchni kryształu.

W wykrywaniu obecności E. coli w żywności, aptamery ssDNA zostały wybrane po raz pierwszy techniką SELEX z całych bakterii przeciwko E. coli O157: H7 z wysokim powinowactwem i specyficznością. Wybrany aptamer został następnie zastosowany do opracowania aptasensora QCM do wykrywania E. coli O157: H7. Czas reakcji wynosił 50 minut, co pokazało potencjał wybranego aptameru do włączenia do różnych formatów biosensorów w celu szybkiego wykrywania i badania epidemii E. coli O157: H7.

Potencjalne zastosowanie skonstruowanego aptasensora QCM w szybkich badaniach przesiewowych patogenów przenoszonych przez żywność niesie za sobą możliwość zmniejszenia ryzyka zatrucia pokarmowych.

INNOWACYJNY, ZAUTOMATYZOWANY SYSTEM WYSZUKIWANIA NOWYCH, POTENCJALNYCH LEKÓW ROŚLINNYCH

Katarzyna Synowiec¹, **Karolina Szwed**¹, Aleksandra Tomczak¹, Ewa Sawicka²

¹Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Już od wieków surowce roślinne stanowiły źródło cennych środków leczniczych w walce z różnymi chorobami. Wydaje się, że w XXI w. wszystkie właściwości roślin zostały już odkryte. Jednakże naukowcy z RIKEN Center for Sustainable Resource Science (Centrum Nauki o Zrównoważonych Zasobach) w Japonii opracowali nowy obliczeniowy system spektrometrii mas do identyfikacji metabolomów. Metabolomy są to całe zestawy metabolitów dla różnych organizmów żywych. Gdy nowa metoda została przetestowana na wybranych tkankach z 12 gatunków roślin, była w stanie wykryć ponad 1000 metabolitów. Wśród nich znalazły się metabolity, których nigdy wcześniej nie znaleziono, w tym te z potencjałem antybiotykowym i przeciwnowotworowym.

Obliczeniowa spektrometria mas jest dziedziną badań, która koncentruje się na poszukiwaniu nieznanymi wcześniej metabolitów i przewidywaniu ich właściwości. W ramach projektu naukowców z RIKEN, opracowano bazy danych metabolomów i repozytoria, które ułatwiają globalną identyfikację metabolomów ludzi, roślin i mikrobiomów. System może szybko zidentyfikować dużą liczbę metabolitów roślinnych, w tym tych, które nie zostały wcześniej odkryte. Podczas gdy metody oparte na spektrometrii mas zidentyfikowały tylko około 100 metabolitów, nowy system jest w stanie znaleźć ponad 1000 tych substancji.

Nowa technika obliczeniowa opiera się na kilku nowych algorytmach, które porównują wyniki spektrometrii mas z roślin oznaczonych węglem 13 z tymi, które nie są nim oznaczone. Algorytmy mogą przewidywać wzór cząsteczkowy metabolitów i klasyfikować je według typu. Mogą również przewidzieć podstrukturę nieznanymi metabolitów i na podstawie podobieństw w strukturze powiązać je ze znanymi metabolitami, co może pomóc w przewidywaniu ich funkcji.

System jest w stanie scharakteryzować klasę antybiotyków (benzoksazynoidów) z ryżu i kukurydzy, a także klasę o właściwościach przeciwzapalnych i przeciwbakteryjnych (glikoalkaloidy) z cebuli, pomidora czy ziemniaka. Jest również w stanie zidentyfikować dwie klasy metabolitów przeciwnowotworowych, jedną (saponiny triterpenowe) w ziarnach soi i lukrecji, a drugą (alkaloid beta-karbolinowy) w roślinie z rodziny marzanowatych.

Oprócz ułatwienia badań przesiewowych metabolomów wyspecjalizowanych w roślinach, nowy proces przyspieszy odkrywanie produktów naturalnych, które mogą być stosowane w lekach, a także zwiększy ogólne zrozumienie fizjologii roślin.

WYKORZYSTANIE METOD OBLICZENIOWYCH W ANALIZIE STRUKTURY PRZESTRZENNEJ I ELEKTRONOWEJ SENNIDYNY

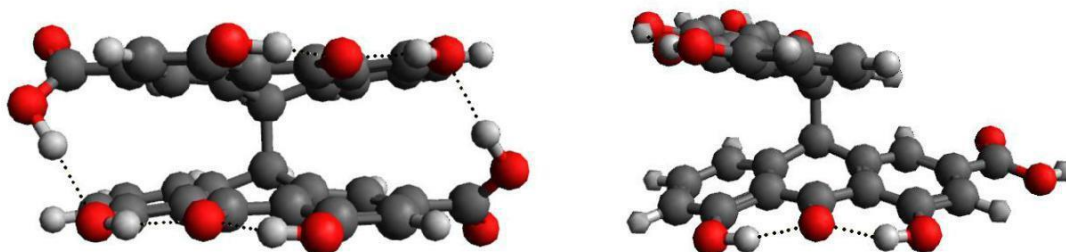
Sebastian Szymański¹, Irena Majerz¹

¹Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Katedra i Zakład Chemii Analitycznej, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław

Sennidyny należące do grupy związków dwuantronowych znajdują powszechne zastosowanie w leczeniu zaparcia oraz jako naturalny środek przeczyszczający. Źródłem sennidyny są rośliny gatunku *Senna alexandrina*¹ oraz *Senna angustifolia*². Liście tych gatunków zawierają sennidyny występujące głównie w postaci glikozydowej.

Formy aglikonowe sennidyn charakteryzują się strukturą podwójnego dwuhydroksyantronu. Ich płaszczyzny zdolne do obrotu wokół wspólnego wiązania pozwalają na występowanie sennidyny w formie czterech konformerów, oznaczanych odpowiednio jako sennidyna A-D.

Na podstawie obliczeń kwantowo-chemicznych zbadano możliwość występowania konformerów sennidyny w formie zdolnej do tworzenia wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych. Analiza konformacyjna, ustalenie struktury przestrzennej i elektronowej tych związków może stanowić pomoc w określeniu istotnych interakcji sennidyn w układach biologicznych.



[1]Melka, Bekri. Sennosides Determination of Ethiopian *Senna alexandrina* Mill Accessions. *Natural Products Chemistry & Research*. 05. (2017)

[2]UPADHYAY, ANUBHA & CHANDEL, YOGENDRA & Nayak, Preeti & Khan, Noor. Sennoside contents in *Senna (Cassia angustifolia Vahl.)* as influenced by date of leaf picking, packaging material and storage period. *Journal of Stored Products and Postharvest Research*. 2. 97 – 103 (2011).

ODDZIAŁYWANIE AKTYWNYCH PRZECIWNOWOTWOROWO KOMPLEKSÓW SREBRA(I) Z ALBUMINĄ LUDZKIEGO OSOCZA

Urszula Śliwińska-Hill¹, Marta Sobczak¹, Piotr Smoleński²

¹Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny, ul. Borowska 211,
50-566 Wrocław

²Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski, ul. F. Joliot-Curie 14, 50-
383 Wrocław

Białka osocza stanowią potencjalne nośniki leków, szczególnie cytostatyków, ze względu na zdolność akumulacji w komórkach nowotworowych. Udowodniono, że biomolekuły takie jak albuminy czy globuliny w znacznym stopniu kumulują się w tkankach nowotworowych ze względu na ich wzmożoną przepuszczalność naczyniową oraz wydłużony czas retencji wywołane drenażem limfatycznym. Wiązanie leków przez białka takie jak transferyny czy albuminy jest istotnym czynnikiem determinującym procesy farmakokinetyczne leku, jego wolną frakcję, dystrybucję i eliminację.

Albumina (HSA) jest głównym białkiem występującym w osoczu i stanowi ok. 60% części białkowej. Białko to wiąże i transportuje liczne endo- i egzogenne ligandy, takie jak kwasy tłuszczowe, aminokwasy, jony metali czy leki. Cząsteczka albuminy składa się z trzech α -helikalnych domen, z których każda dzieli się na dwie subdomeny. Badania strukturalne molekuly wykazały istnienie dwóch głównych miejsc wiążących ligandy – pierwsze miejsce w subdomenie IIA oraz drugie w subdomenie IIIA.

W niniejszej pracy przedstawiona została analiza oddziaływania albuminy ludzkiego osocza z dwoma związkami koordynacyjnymi srebra(I) z ligandem fosfinowym: **(1)** - [Ag(tpy)(PTA)](NO₃) oraz **(2)** - [Ag(dione)(PTA=S)](NO₃), gdzie PTA - 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantan, PTA=S - 7-siarczek-1,3,5-triaza-7-fosfaadamantan, tpy - 2,2':6',2"-terpirydyna, dione - 1,10-fenatarolina-5,6-dion. Istotną zaletą omawianych kompleksów jest dobra rozpuszczalność w wodzie, a badania biologiczne na liniach komórkowych wykazały, znakomitą aktywność cytostatyczną i niską toksyczność w stosunku do komórek prawidłowych. Za pomocą spektroskopii absorpcyjnej, emisyjnej oraz dichroizmu kołowego badane były parametry addycyjne i termodynamiczne układu białko-kompleks, miejsca wiążące oraz wpływ związku srebra na drugorzędową strukturę białka. Analiza pokazuje, że związek **2** z umiarkowaną siłą wiąże się w jednym miejscu z białkiem i nie wpływa znacząco na jego drugorzędową strukturę. Proces ten jest spontaniczny i zdominowany przez oddziaływania jonowe i hydrofobowe. Co ciekawe, kompleks **1**, pomimo wysokiej aktywności biologicznej, w warunkach fizjologicznych po 24 godzinach nie wiąże się z albuminą ludzką. Może to być spowodowane jego wysoką stabilnością i niską aktywnością co skutkuje wolniejszym wiązaniem z białkami.

Przeprowadzone badania pokazują, że albumina może stanowić dobry nośnik potencjalnych leków przeciwnowotworowych opartych na związkach srebra(I), a utworzony addukt HSA-**2** może służyć w celach terapeutycznych jako rezerwuuar leku.

OGÓLNA ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH I WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNE WYBRANYCH TAKSONÓW RODZAJU *MENTHA*

Monika Tatarska¹, Adam Kowalczyk², Izabela Fecka², Agnieszka Bodalska², Elżbieta Piątkowska³, Małgorzata Stachura⁴

¹ Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

² Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

³ Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

⁴ Ogród Botaniczny Roślin Leczniczych przy Katedrze Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Mentha piperita jest jednym z najbardziej wykorzystywanych gatunków z rodziny *Lamiaceae* zarówno do celów leczniczych, kosmetycznych jak i spożywczych. Profil fitochemiczny liścia mięty pieprzowej obejmuje olejek eteryczny, którego głównym składnikiem jest mentol, flawonoidy w tym eriocytrynę, kawotanoidy i triterpeny [1]. Zakres zastosowania preparatów z liścia mięty pieprzowej obejmuje głównie zaburzenia pracy przewodu pokarmowego (*spasmolyticum, carminativum, stomachicum et digestivum, cholagogum et cholericum*) oraz zewnętrzne działanie miejscowo znieczulające, chłodzące i przeciwświądowe [2]. Mięta pieprzowa jest spontanicznym mieszańcem gatunkowym i coraz powszechniej pojawiają się liczne jej kultywary, które są tworzone i hodowane ze względu na specyficzne cechy organoleptyczne np. mięta czekoladowa, cytrynowa czy grejpfrutowa. Celem podjętej analizy było oznaczenie spektrofotometryczne ogólnej zawartości związków polifenolowych w naparach i wyciągach metanolowych z dziesięciu taksonów rodzaju *Mentha* z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a. Określono również ich właściwości antyoksydacyjne *in vitro* metodą oznaczania zdolności redukcji jonów Fe³⁺ oraz neutralizacji rodnika DPPH. Przetestowano także wpływ naparów z mięt metodą mikrorozcieńczeń w podłożu MHB (Mueller Hinton Bulion) na wzorcowe szczepy wrażliwe na antybiotyki: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecium* ATCC 19434, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047.

Bibliografia:

1. Seif Sahandi M. et al., Review on anatomical, phytochemical and pharmacological properties of peppermint (*Mentha piperita* L.), *Journal of Medicinal Plants*, 2018 17 (69), 16-33.

2. Silvia Cristina Cerini Trevisan et al., Properties of *Mentha piperita*: a brief review, *World Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 2017, 3(1), 309-313
Finasowanie: Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ST.D110.17.02

BADANIE INTERAKCJI POMIĘDZY LUDZKĄ ALBUMINĄ OSOCZOWĄ A MESYLANEM IMATYNYBU I FLUKONAZOLEM. CHARAKTERYSTYKA ZMIAN STRUKTURY DRUGORZĘDOWEJ BIAŁKA

K. Wiglusz¹, R.J. Wiglusz², I. Mucha¹

¹Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Borowska 211 A, 50-566 Wrocław

²Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych, Polska Akademia Nauk, ul. Okólna 2, 50-422 Wrocław

Mesyłan imatynibu należy do grupy leków przeciwnowotworowych stosowanych w leczeniu przewlekłej białaczki szpikowej, czy złośliwych guzów przewodu pokarmowego. Lek ten w znacznym stopniu (w 95%) jest wiązany przez białka osocza, w tym głównie m.in. przez ludzką albuminę osoczną. Podczas terapii przeciwnowotworowych z udziałem mesyłanu imatynibu dochodzi do zakażeń grzybiczych. Jednoczesne podawanie przeciwgrzybiczo działającego flukonazolu skutkuje zwiększeniem ilości frakcji wolnej leku, co zwiększa działanie leku przeciwnowotworowego. Związane to jest z farmakokinetyką leku. Flukonazol *in vivo* hamuje enzym CYP3A4, który jest głównym enzymem ludzkiego cytochromu P450, co spowalnia metabolizm mesyłanu imatynibu w stopniu, który ma znaczenie kliniczne. Dlatego nie bez znaczenia jest charakterystyka zmian strukturalnych albuminy jako białka transportującego, które jest wrażliwe na obecność dodatkowego liganda (flukonazolu) - posiadającego również powinowactwo do białek.

Dlatego podjęto badania mające określić wpływ flukonazolu na stabilność struktury II-go rzędowej białka, charakterystyki rozwijania oraz określenie mechanizmu denaturacji albuminy. Do badań wykorzystano technikę refleksyjną (odbiciową) pozwalającą otrzymać widma w podczerwieni poprzez pomiar promieniowania odbitego od próbki - technika ATR-FTIR (ang. Attenuated Total Reflection- Fourier Transform Infrared spectroscopy). Bazuje ona na analizie charakterystycznych pasm, z których największe znaczenie mają pasma amidowe I i II oraz w mniejszym stopniu pasmo amidowe III.

W wyniku przeprowadzonych badań określono, że zmiany konformacyjne albuminy indukowane poprzez wiązanie ligandów, są na poziomie 5% w stosunku do białka natywnego, co potwierdza również metoda dichroizmu kołowego. Również zauważono zmiany strukturalne podczas trwającego procesu agregacji białka. Zmiany temperatury w zakresie 25-90 °C układów z albuminą wpłynęły na procesy ponownego fałdowania białka, przy czym zauważalny jest wpływ flukonazolu na obserwowane wyniki eksperymentu.

Wsparciem w analizie interakcji albumina ludzka-flukonazol-mesyłan imatynibu było modelowanie molekularne przy wykorzystaniu programu FlexX-LeadIT, który wskazał na kilka prawdopodobnych miejsc wiążących mesyłan imatynibu w obecności flukonazolu w cząsteczce albuminy.

Przeprowadzone badania mogą dostarczyć ważnych informacji dotyczących wyjaśnienia wpływu stosowania flukonazolu podczas chemioterapii z wykorzystaniem mesyłanu imatynibu, na etapie wiązania i transportu leku.