

Adriana Olejniczak
Politechnika Poznańska
Wydział Technologii Chemicznej

Streszczenie rozprawy doktorskiej

„Projektowanie, synteza i właściwości farmakologiczne aktywnych soli organicznych zawierających jony występujące w przyrodzie”

Promotor rozprawy doktorskiej: dr hab. inż. Michał Niemczak, prof. PP

W ramach niniejszej pracy zaprojektowano, zsyntetyzowano i kompleksowo scharakteryzowano nowe grupy bioaktywnych układów jonowych, zawierających w swojej strukturze jony występujące w przyrodzie, oparte zarówno na pochodnych nikotynamidu, jak i lidokainy. Układy te obejmowały czwartorzędowe sole amoniowe (QASs) z przeciwjonami o zróżnicowanym charakterze strukturalnym (halogenek, salicylan, *p*-aminobenzoesan i nikotynian). Opracowane procedury syntezy charakteryzowały się wysoką wydajnością, a struktury otrzymanych związków potwierdzono metodami spektroskopowymi.

Nowe modyfikacje strukturalne nikotynamidu oraz lidokainy udowadniają możliwość szerokiego dostosowania kluczowych parametrów fizykochemicznych, takich jak lipofilowość, rozpuszczalność, zdolność agregacji oraz transport przez bariery biologiczne. W przypadku pochodnych lidokainy wartości współczynnika podziału oktanol–woda ($\log K_{ow}$) wahały się w szerokim zakresie od -1,70 do 2,08, przy czym długość łańcucha alkilowego konsekwentnie zwiększała lipofilowość związku, a rodzaj przeciwjonu znacząco modulował skalę tego efektu. Największy wzrost lipofilowości zaobserwowano w przypadku pochodnych salicylanowych (**SL2–SL3**), podczas gdy układy na bazie **PABA** zachowały bardziej zrównoważony profil hydrofilowo–lipofilowy. Podobne zależności wykazano również w przypadku szeregów homologicznych z kationem *N*-alkilnikotynamidu, gdzie odpowiedni dobór struktury anionu umożliwiał kontrolę transportu i właściwości biologicznych.

Badania aktywności biologicznej potwierdziły, że synteza układów o budowie jonowej nie tylko pozwala zachować aktywność farmakologiczną prekursorów, ale może również znacząco ją zwiększyć poprzez synergię kationów i anionów. W modelu hamowania denaturacji albuminy, wybrane pochodne lidokainy, a w szczególności te zawierające anion salicylanowy, osiągnęły aktywność przeciwzapalną przewyższającą działanie leku referencyjnego (diklofenaku sodowego), osiągając inhibicję sięgającą 59,1%. Wykazano również wyraźną zależność między strukturą a aktywnością, wskazującą, że optymalna aktywność biologiczna występuje w układach o pośredniej lipofilowości, podczas gdy nadmierne hydrofobowe wydłużanie łańcucha sprzyja agregacji i tym samym zmniejsza skuteczność związków.

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa syntetyzowanych układów jonowych była silnie zależna od długości łańcucha alkilowego i rodzaju anionu, ujawniając wyraźny związek między strukturą a aktywnością. Zarówno w serii pochodnych nikotynamidu z anionem nikotynianowym (**N1–N4**), *p*-aminobenzoesanowym (**P1–P4**), jak i salicylanowym (**S1–S7**), związki pozbawione długiego hydrofobowego łańcucha alkilowego wykazywały znikomą aktywność (wartości MIC typowo $\geq 1\,000 - 4\,096$ mg/L), podczas gdy wydłużenie łańcucha prowadziło do znaczącego wzrostu skuteczności. Wśród pochodnych nikotynamidu najwyższą aktywność uzyskano dla najbardziej lipofilowych pochodnych, **N4** i **P4**, które były szczególnie skuteczne wobec bakterii Gram-dodatnich. Dla *S. aureus* ich wartości MIC dochodziły do 3,9 mg/L, dla *B. subtilis* również do 3,9 mg/L (**N4**), a dla *M. luteus* do 15,6 mg/L. W przypadku bakterii Gram-ujemnych ich aktywność była niższa, ale nadal istotna – na przykład dla *M. catarrhalis* wartość MIC wyniosła 7,8 mg/L, a w przypadku *E. coli* 31,5 mg/L. W przypadku grzybów szczególnie istotną skuteczność wykazano wobec *C. neoformans*, gdzie wartość MIC dla **P4** osiągnęła poziom 3,9 mg/L, wyraźnie przewyższając związki referencyjne **[NA][NIK]** i **[NA][PABA]**, które pozostały praktycznie nieaktywne ($> 1\,000$ mg/L). Podobną tendencję zaobserwowano w serii salicylanów, gdzie najbardziej aktywny związek, **S7** (o najdłuższym łańcuchu alkilowym), wykazał bardzo wysoką skuteczność w zwalczaniu patogenów skórnych i oportunistycznych. Wartość MIC/MBC równe 0,5 mg/L uzyskano dla bakterii *S. aureus*, 4,0 mg/L dla *C. acnes*, 4,0 mg/L dla *S. epidermidis*, 16 mg/L dla *C. albicans* i 64 mg/L dla *P. aeruginosa*. Aktywność **S7** była zatem wielokrotnie wyższa niż aktywność samego kwasu salicylowego lub nikotynamidu, które wykazywały słabą lub zerową aktywność. Związek **S6** również wykazał znaczącą aktywność (np. MIC = 8 mg/L wobec *S. aureus*), ale istotnie niższą niż **S7**, co potwierdza kluczową rolę optymalnej hydrofobowości czwartorzędowej soli amoniowej pod kątem właściwości przeciwdrobnoustrojowych.

Badania rozpuszczalności w wodzie i PBS potwierdziły, że zarówno długość łańcucha alkilowego, jak i charakter przeciwjonu determinują profil właściwości fizykochemicznych otrzymanych związków. Bardziej polarne związki krótkołańcuchowe zachowały wysoką rozpuszczalność, podczas gdy pochodne długołańcuchowe, zwłaszcza pochodne salicylanowe, wykazywały szybki spadek rozpuszczalności wraz ze wzrostem hydrofobowości spowodowanym wydłużaniem łańcucha.

Badania dokowania molekularnego z COX-2 wykazały, że nowe pochodne mogą skutecznie oddziaływać z miejscem aktywnym enzymu odpowiedzialnego za procesy zapalne. Wszystkie ligandy zlokalizowane były w głównej kieszeni wiążącej, a energie wiązania (*Vina score*) dla kationów wahały się od -6,6 do -8,9 kcal·mol⁻¹. Bromek *N*-tetradecylolidokainy (**BL3**) wykazał najwyższe powinowactwo do enzymu, z uwagi na fakt, że jego struktura umożliwia pełne wykorzystanie oddziaływań hydrofobowych i kontakt ze wszystkimi kluczowymi resztami katalitycznymi (**R120**, **Y385**, **S530**). Wyniki te potwierdziły zależność między strukturą a aktywnością QASs i wykazały, że wydłużenie łańcucha alkilowego może zwiększyć ich potencjał przeciwzapalny poprzez lepsze dopasowanie do kanału enzymatycznego.

Dokowanie z kanałem sodowym NaV1.7 wykazało, że pomimo stosunkowo podobnych energii wiązania (od -4,8 do -6,8 kcal·mol⁻¹), potencjał znieczulający jest determinowany nie tylko przez samą energię wiązania, ale również przez charakter interakcji z kluczowymi resztami odpowiedzialnymi za blokowanie przewodzenia. Wybrane pochodne, szczególnie **SL1** i **PL1–PL3**, wykazywały interakcje z resztami **Y1215**, **D1677** i **E1628**, co sugeruje zachowanie lub potencjalne wzmocnienie miejscowych właściwości znieczulających. Wyniki te wskazują, że odpowiedni dobór par kation–anion umożliwia projektowanie związków łączących działanie znieczulające i przeciwzapalne.

Badania SKIN-PAMPA wykazały, że nowe pochodne nikotynamidu, jak i lidokainy można zaprojektować jako systemy o zróżnicowanych profilach transportu przezskórnego. Krótkołańcuchowy **SL1** wykazał skuteczną permeację przez modelową membranę (44,3% po 24 godzinach), co czyni go obiecującym kandydatem do systemów transdermalnych. **SL3** z kolei wykazał całkowitą retencję w membranie już po 6 godzinach (100%), co wskazuje na jego wyjątkowy potencjał jako lek miejscowy, natomiast **PL2** łączy umiarkowaną retencję ze znaczną permeacją (80,8%). Uzyskane wyniki jednoznacznie dowodzą, że długość łańcucha alkilowego i typ przeciwnonu są narzędziami do precyzyjnego modulowania stopnia przenikania leku przez barierę skórną.

Istotnym elementem pracy była także ocena bezpieczeństwa środowiskowego zsyntezowanych produktów. Badania ekotoksyczności wobec organizmów *Artemia franciscana* wykazały, że większość nowych pochodnych pozostaje względnie nieszkodliwe ($EC_{50} > 1\ 000$ mg/L), a nawet związki o nieznacznie wyższej toksyczności (**BL2**, **SL2**, **PL2**) pozostają w kategorii „Praktycznie nietoksycznych”. Wyniki te wskazują, że racjonalne projektowanie układów jonowych może prowadzić do poprawy właściwości farmaceutycznych bez istotnego zwiększania ryzyka środowiskowego.

Finalnie uzyskane wyniki potwierdzają, że projektowanie układów jonowych typu API-QAS stanowi skuteczną strategię racjonalnego modulowania ich właściwości farmaceutycznych i biologicznych. Zarówno w przypadku serii nikotynamidu, jak i lidokainy wykazano, że ukierunkowany dobór kationu i anionu umożliwił opracowanie nowej platformy przeznaczonej do rozwoju wielofunkcyjnych formuł farmaceutycznych, znajdujących zastosowanie w lekach doustnych, miejscowych oraz transdermalnych.

.....
data i podpis autora