

JUSTYNA GODYŃ Praca doktorska pt. Badanie właściwości biochemicznych i fizykochemicznych nowych ligandów wielofunkcyjnych o potencjalnym wpływie na procesy neurodegeneracyjne

STRESZCZENIE

Badania objęte niniejszą pracą stanowią element składowy projektu naukowego, opartego na poszukiwaniu związków bioaktywnych o charakterze ligandów wielofunkcyjnych, mogących potencjalnie wpływać na procesy neurodegeneracyjne. Związki wielocelowe łączą w swej strukturze przynajmniej dwa farmakofory, zdolne do oddziaływania z różnymi celami biologicznymi. Mogą one znaleźć potencjalne zastosowanie w terapii schorzeń o złożonej, wieloczynnikowej patogenezie, do których należy również choroba Alzheimera, związana z procesami neurodegeneracyjnymi w mózgu. Poszukiwanie związków bioaktywnych tego typu obejmuje, we wczesnym etapie, ich projektowanie, syntezę oraz badania aktywności biologicznej *in vitro* i *in vivo*, jak również badania właściwości fizykochemicznych, wpływających na losy potencjalnego leku w organizmie.

W ramach przedstawionej pracy, zbadano *in vitro* właściwości biochemiczne oraz fizykochemiczne blisko 120 oryginalnych związków bioaktywnych, zaprojektowanych jako ligandy wielofunkcyjne, o przewidywanej aktywności względem wybranych celów biologicznych. Wśród wytypowanych celów molekularnych znalazły się enzymy acetylocholinoesteraza, butyrylocholinoesteraza i beta-sekretaza, peptyd beta-amyloid i białko tau, powiązane na poziomie komórkowym z objawami oraz przyczynami choroby. W wyniku przeprowadzonych analiz własnych określono aktywność badanych związków w kierunku hamowania enzymów acetylo- i butyrylocholinoesterazy oraz beta-sekretazy. Dla najaktywniejszych pochodnych wyznaczono kinetykę reakcji enzymatycznej hamowania cholinoesteraz, zbadano również powinowactwo inhibitora do danego enzymu. Na podstawie uzyskanych wyników badań biochemicznych, znaleziono elementy strukturalne cząsteczki istotne dla jej aktywności biologicznej. Wytypowano strukturę wiodącą, przeznaczoną do dalszych modyfikacji i rozwoju.

W toku analizy właściwości fizykochemicznych, oszacowano lipofilowość 49 związków, o zbadanej wcześniej aktywności biologicznej. Badania lipofilowości oparto na technice micelarnej chromatografii elektrokinetycznej, będącej odmianą elektroforezy kapilarnej. Doświadczalnie wyznaczone wartości współczynnika podziału $\log P$ badanych związków były w większości przypadków optymalne dla ich penetracji przez błony biologiczne, w tym przez barierę krew-mózg, a zarazem niższe i korzystniejsze od obliczonych metodami *in silico*. Tym samym, potwierdzono zasadność przeprowadzania eksperymentalnych badań tego typu. Oszacowano również optymalne wartości $\log P$ dla aktywności biologicznej badanych pochodnych.

Ponadto, w ramach badań fizykochemicznych wczesnej fazy rozwoju nowych cząsteczek, podjęto próbę opracowania innowacyjnej metody badania ich przepuszczalności przez barierę krew-mózg. W tym celu użyto techniki elektrochromatografii kapilarnej, z zastosowaniem kapilary powleczonej od wewnątrz warstwą liposomów, uważanych za substytuty naturalnych błon biologicznych. W następstwie przeprowadzonej optymalizacji warunków analizy elektroforetycznej, zbadano czasy migracji w kapilarze dla 26 leków referencyjnych (o zróżnicowanej zdolności przenikania bariery krew-mózg). Na tej podstawie obliczono dla każdego z nich współczynnik retencji k , a następnie porównano wartości $\log k$ z referencyjnymi parametrami przepuszczalności. Otrzymane współczynniki korelacji były porównywalne do analogicznej zależności, uzyskanej dla danych z testu odniesienia. Zaplanowano rozszerzenie badań elektroforetycznych, z wykorzystaniem większej grupy związków badanych. Co istotne, już na wczesnym etapie rozwoju, nowa technika umożliwiła prawidłowe oszacowanie przepuszczalności przez błony dla większości badanych leków. Tym samym wykazano jej potencjał jako narzędzia do wczesnej, przesiewowej oceny przenikania cząsteczek przez barierę krew-mózg.

Przeprowadzone analizy stanowią ważny element optymalizacji nowych bioaktywnych ligandów wielofunkcyjnych w badaniach nad potencjalnym lekiem przeciwko chorobie Alzheimera.