

Synteza koniugatów parasoli molekularnych ze związkami o udowodnionej aktywności przeciwgrzybiczej

Jednym z najpoważniejszych problemów z jakimi napotyka się współczesna medycyna są grzybowe infekcje układowe. Pomimo gwałtownego rozwoju współczesnej medycyny, umożliwiającej szybkie diagnozowanie i leczenie schorzeń wywoływanych przez patogenne mikroorganizmy, ciągle obserwuje się tendencję wzrostową zachorowań na grzybice wewnętrzne, często prowadzące do śmierci pacjentów. Istnieje więc ciągła potrzeba poszukiwania nowych leków lub udoskonalania już istniejących, wykazujących skuteczność w walce z grzybowymi patogenami przy jednoczesnej niskiej toksyczności w stosunku do komórek ludzkich.

W ramach badań, opisanych w niniejszej rozprawie doktorskiej, zaprojektowano, otrzymano oraz scharakteryzowano połączenia tzw. parasoli molekularnych ze związkami o udowodnionej aktywności przeciwgrzybowej – FMDP i *cis*-pentacyny – będących inhibitorami enzymów grzybowych. Wspomniane cząsteczki aktywne wykazują dobre właściwości przeciwgrzybowe, jednak ze względu na swoją budowę chemiczną i polarny charakter, wykazują silnie ograniczoną zdolność do przenikania przez biwarstwę lipidową. Parasole molekularne stanowią grupę stosunkowo niedawno poznanych nanonośników, zdolnych do przenikania błon biologicznych na drodze dyfuzji prostej oraz zdolnych do transportu cząsteczek polarnych do wnętrza komórek. W efekcie badań eksperymentalnych otrzymano czternaście pochodnych – dziesięć połączeń parasoli molekularnych z cząsteczkami aktywnymi oraz cztery pochodne fluorescencyjne. W ramach pracy badawczej przetestowano możliwość tworzenia połączeń parasoli molekularnych z cząsteczkami transportowanymi połączonych za pośrednictwem różnych łączników. Zaproponowano także dwie alternatywne metody syntezy struktur parasolowych. Najprostsze otrzymane pochodne to bezpośrednie połączenia amidowe struktury nanonośnika z cząsteczką transportowaną. Pozostałe koniugaty zawierają w swojej strukturze labilny łącznik potencjalnie ulegający lizie w środowisku cytoplazmy patogennych komórek grzybowych. Jednymi z zastosowanych łączników są struktury dipeptydowe, w których cząsteczka ładunku połączona jest za pośrednictwem wiązania peptydowego, potencjalnie rozpoznawanego przez komórkowe amidazy. W innym podejściu zastosowano ideę tzw. układu 'trimethyl lock' labilnego w środowisku aktywności esteraz, w którym to cząsteczka ładunku tworzy wiązanie amidowe z jedną z grup karboksylowych wspomnianego układu. Podjęto także próbę syntezy koniugatów wyposażonych w łącznik *o*-ditiobenzoioloakrbamoiolowy, zawierający w swojej konstytucji wiązanie disulfidowe, redukowane przez komórkowy glutation.

Wszystkie końcowe oraz pośrednie struktury poddano analizie strukturalnej z wykorzystaniem technik spektroskopowych, m. in. spektroskopią ^1H NMR i ^{13}C NMR oraz spektrometrią mas. Ponadto, oznaczono ich czystość chemiczną przy pomocy wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Otrzymane pochodne przekazano do badań biologicznych mających na celu określenie aktywności przeciwgrzybowej, hemotoksyczności oraz cytotoxyczności.

Skwarecki Andrzej

Synthesis of molecular umbrella – based conjugates with anti-fungal agents exhibiting proven biological activity

Nowadays, one of the most serious problems in modern medicine are systemic mycoses. Despite the rapid development of medicine allowing effective diagnosis and treatment of diseases caused by pathogenic microorganisms, there still exist an upward trend in mycosis. Thus, there is a constant need to create new drugs and develop existing medicines toward increased anti-fungal activity and simultaneous low cytotoxicity against human cells.

As a part of the research described in this dissertation, the conjugates of molecular umbrellas with fungal enzymes inhibitors – FMDP and *cis*-pentacin - were designed, synthesised and characterised. The active molecules of FMDP and *cis*-pentacin exhibit very promising enzyme inhibitory properties, but in view of their chemical structure determining high hydrophilic properties also show highly reduced ability to cross the cell membrane. Molecular umbrellas are the relatively new class of nanocarriers able to penetrate the cell membrane and transport the cargo molecules by spontaneous diffusion. As a result of research work, fourteen conjugates were obtained – ten derivatives carrying biologically active cargo and four fluorescent conjugates. Moreover, the usage of three different linkers in the formation of conjugates was tested. Two alternative techniques of molecular umbrella formation were proposed. Conjugates, the simplest in their chemical structure are the direct connection between nanocarrier and cargo structures, attached by amide bonds. The rest of conjugates carry the specific linker mediated between nanocarrier and cargo structure. One of this linker is dipeptide structure in which the cargo molecule is connected to nanocarrier by a peptide bond. The other applied linker is 'trimethyl lock', that undergoes enzymatic cleavage proceeded by cell esterases. Finally, an attempt was made to synthesise conjugates carrying *o*-dithiocarbamate linker including disulphide bond in its structure and decomposes in cell media by glutathione molecules reductive activity.

All of the target conjugates were characterised in their chemical structure using spectroscopic techniques: ^1H NMR and ^{13}C NMR. The anti-fungal activity, hemotoxicity and cytotoxicity were evaluated.

Skwarecki Andrzej