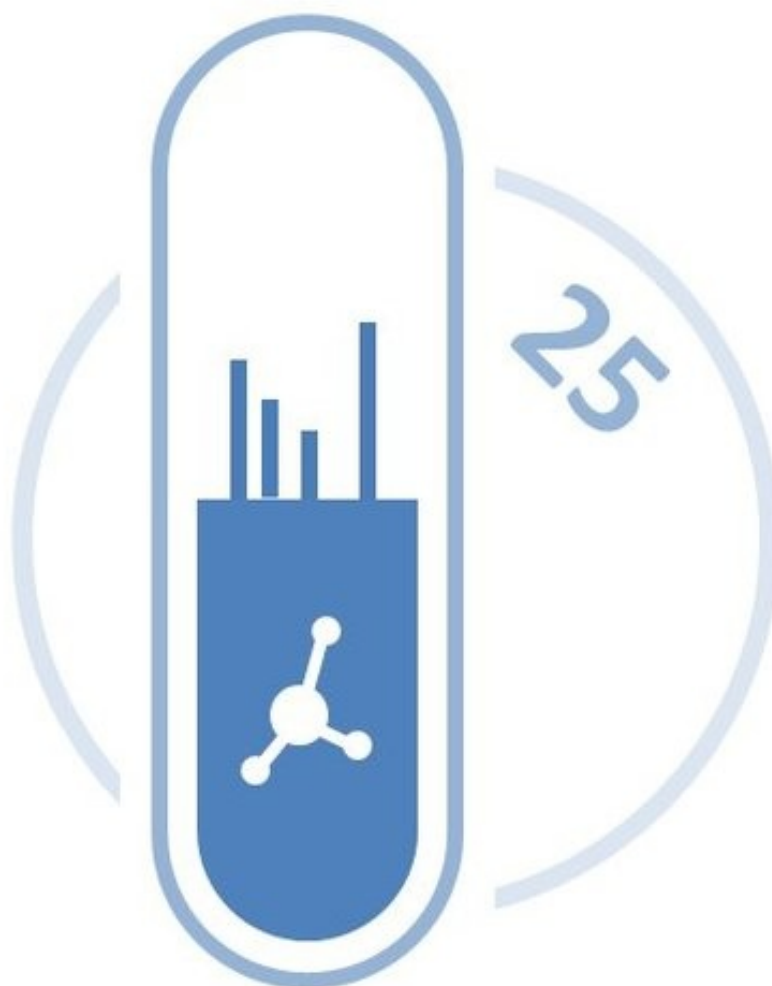




**XXV KONFERENCJA NAUKOWA WYDZIAŁU  
FARMACEUTYCZNEGO Z OML GDAŃSKIEGO  
UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO**



**PROGRAM I STRESZCZENIA  
GDAŃSK 07 – 08.12.2018**

**XXV**

Konferencja Naukowa  
Wydziału Farmaceutycznego z OML  
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

## **PROGRAM I STRESZCZENIA**

Gdańsk, 7-8 grudnia 2018

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

## **KOMITET NAUKOWY**

XXV Konferencji Naukowej Wydziału Farmaceutycznego z OML  
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

- dr hab. Arkadiusz Piotrowski, prof. GUMed
- prof. dr hab. Michał Markuszewski
- prof. dr hab. Jadwiga Renata Ochocka
- prof. dr hab. Tomasz Bączek
- prof. dr hab. Wojciech Kamysz
- dr hab. Paweł Wiczling, prof. GUMed

## **KOMITET ORGANIZACYJNY**

- dr Joanna Raczak-Gutknecht
- dr Piotr Madanecki
- dr Łukasz Kubik
- dr Karol Sikora
- mgr Marta Bauer

## Sponsorzy



Ministerstwo Nauki  
i Szkolnictwa Wyższego



# Program

## XXIV Konferencji Naukowej Wydziału Farmaceutycznego z OML Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

### PROGRAM RAMOWY:

#### 07.12.2018 (piątek)

13:30 – 14:00 – rejestracja uczestników

14:00 – 14:15 – powitanie

14.15 – 15.45 – wykłady zaproszonych gości, część pierwsza

- dr hab. Tomasz Grabowski, ZF Polpharma SA, “Analiza porównawcza farmakokinetyki ludzkich terapeutycznych przeciwciał monoklonalnych w fazie przedklinicznej: podanie podskórne – optymalizacja modelu”
- prof. Adriano Mollica, Uniwersytet ‘Gabriele d’Annunzio’, “Design, synthesis and biological evaluation of novel opioid peptides DPDPE and Biphalin analogues”

15.45 – 16.15 – przerwa (kawa i drobny poczęstunek)

16.05 – 17.35 – wykłady zaproszonych gości, część druga

- prof. Jan Dumański, Uniwersytet w Uppsali, Gdański Uniwersytet Medyczny, “Mosaic loss of chromosome Y in leukocytes of aging men matters!”
- dr n. farm. Urszula Piotrowska, Warszawski Uniwersytet Medyczny, “Wielkocząsteczkowe nośniki peptydów przeciwdrobnoustrojowych – synteza, badania strukturalne, fizykochemiczne i biologiczne”

od 17.45 – spotkanie integracyjne połączone z rozpoczęciem sesji plakatowej

#### 08.12.2018 (sobota)

9.00 – wykład otwierający, dr hab. Paweł Wiczling, prof. GUMed, “Pułapki myślenia w nauce”

9.30 – 11.00 – wystąpienia ustne uczestników konferencji

11.00 – 11.30 – przerwa (kawa i drobny poczęstunek)

11.30 – 13.00 – wystąpienia ustne uczestników konferencji

13.00 – 14.00 – przerwa obiadowa (poczęstunek zapewniony przez organizatorów)

14.00 – 15.00 – sesja plakatowa

15.00 – 16.40 – wystąpienia ustne uczestników konferencji

16.40 – 17.00 – podsumowanie i pożegnanie

## LOKALIZACJA

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej,  
Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk

- Audytorium Maximum
- hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- hol przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej GUMed

## SZCZEGÓŁOWY HARMONOGRAM KONFERENCJI

2018-12-07

13:30

- REJESTRACJA UCZESTNIKÓW

14:00

- POWITANIE

14:15

- WYKŁADY ZAPROSZONYCH GOŚCI
- Tomasz Grabowski, [Analiza porównawcza farmakokinetyki ludzkich terapeutycznych przeciwciał monoklonalnych w fazie przedklinicznej: podanie podskórne – optymalizacja modelu](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

15:00

- WYKŁADY ZAPROSZONYCH GOŚCI
- Adriano Mollica, [Design, synthesis and biological evaluation of novel opioid peptides DPDPE and Biphalin analogues](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

15:45

- PRZERWA (KAWA I DROBNY POCZĘSTUNEK)

16:05

- WYKŁADY ZAPROSZONYCH GOŚCI
- Jan Dumański, [Mosaic loss of chromosome Y in leukocytes of aging men matters!](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

16:50

- **WYKŁADY ZAPROSZONYCH GOŚCI**

- Urszula Helena Piotrowska, [Wielkocząsteczkowe nośniki peptydów przeciwdrobnoustrojowych - synteza, badania strukturalne, fizykochemiczne i biologiczne](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

17:45

- **SPOTKANIE INTEGRACYJNE**

2018-12-08

09:00

- **WYKŁAD OTWIERAJĄCY**

- Paweł Wiczling, [Pułapki myślenia w nauce](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

09:30

- **WYSTĄPIENIA USTNE UCZESTNIKÓW KONFERENCJI**

- Krzysztof Szafranski, Jarosław Sławiński, Anna Kawiak, Anna Kędzia, Ewa Kwapisz, [Wielokierunkowe badanie aktywność pochodnych pirydyno-3-sulfonamidu](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

09:40

- Dominika Krenczkowska, Krystyna Mojsiewicz-Pieńkowska, [Ocena barierowości skóry ludzkiej ex-vivo dla penetracji i przenikania niskocząsteczkowych siloksanów o strukturze cyklicznej](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

09:50

- Aneta Pogorzelska, Jarosław Sławiński, Anna Kawiak, [Nowe pochodne N-\(2-alkilotiobenzenosulfonylo\)guanidyny modyfikowane przez azotowe ugrupowania heterocykliczne jako związki potencjalnie pro-apoptotyczne wobec komórek nowotworowych](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

10:00

- Beata Żołnowska, Jarosław Sławiński, Anna Kawiak, Mariusz Belka, Tomasz Bączek, Jarosław Chojnacki, [Synteza nowych 2-alkilotio-N-\[imino\(heteroarylo\)metylo\]benzenosulfonamidów o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej i proapoptotycznej](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum



10:10

- Adrian Szewczyk, Magdalena Prokopowicz, [Mezoporowate materiały krzemionkowe w badaniach preformulacyjnych nad dwufunkcyjnym nośnikiem dla substancji leczniczych](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

10:20

- Justyna Sakowska, Maciej Zieliński, Magdalena Żalińska, Matylda Hennig, Dorota Iwaszkiewicz-Grześ, Mateusz Gliwiński, Natalia Marek-Trzonkowska, Anna Jaźwińska-Curyłło, Radosław Owczuk, Wojciech Młynarski, Przemysława Jarosz-Chobot, Artur Bossowski, Janusz Siebert, Małgorzata Myśliwiec, Piotr Trzonkowski, [Zmiany fenotypu limfocytów B pod wpływem zastosowanej terapii skojarzonej limfocytami T regulatorowymi i rituximabem u dzieci z cukrzycą typu 1](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

10:30

- Kamil Garbera, Wiesław Sawicki, [Metoda sporządzania tabletek z amorficznym ibuprofenem techniką impregnacji na gorąco.](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

10:40

- Karolina Milewska, Marzena Jamrógiewicz, [Ocena stabilności naproksenu](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

10:50

- Agnieszka Borsuk-De Moor, Paweł Wiczling, [Optymalizacja antybiotykoterapii: źródła niepewności w symulacjach Monte Carlo](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

11:00

- **PRZERWA (KAWA I DROBNY POCZĘSTUNEK)**

11:30

- **WYSTĄPIENIA USTNE UCZESTNIKÓW KONFERENCJI**
- Agata Janczy, Joanna Karbowska, Zdzisław Kochan, Sylwia Małgorzewicz, [Zmiany mikrobiomu jelitowego związane z nadciśnieniem u osób otyłych lub z nadwagą](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

11:40

- Katarzyna Kimel, Magdalena Zienkiewicz, Barbara Sparzak-Stefanowska, Mirosława Krauze-Baranowska, [Zastosowanie TLC w analizie alantoiny w \*Symphytum officinale\* L.](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

11:50

- Adrianna Skwira, Agnieszka Konopacka, Magdalena Prokopowicz, [Badanie uwalniania mleczanu cyprofloksacyny z kompozytów na bazie mezoporowatych materiałów krzemionkowych.](#)

Miejsce: Audytorium Maximum

12:00

- Mariusz Belka, Tomasz Bączek, [Zastosowanie sorbentów otrzymywanych techniką druku 3D w analizie farmaceutycznej](#)

Miejsce: Audytorium Maximum

12:10

- Łukasz Kubik, Paweł Wiczling, [Zastosowanie modelowania hierarchicznego w analizie izokratycznych danych chromatograficznych](#)

Miejsce: Audytorium Maximum

12:20

- Szymon Ulenberg, Tomasz Bączek, [Wyznaczanie wartości IC50 pochodnych arylopiperazyny przy pomocy systemu enzymatycznego CYPEXpress.](#)

Miejsce: Audytorium Maximum

12:30

- Szymon Dziomba, Krzesimir Ciura, Martyna Frańczuk, Michalina Zalewska, Bruna Correia, Paulina Sawicka, Marta Dawid, Krzysztof Waleron, Bartosz Wielgomas, [Kapilarna elektroforeza strefowa pęcherzyków błonowych Pectobacterium sp.](#)

Miejsce: Audytorium Maximum

12:40

- Maciej Jankowski, Dominika Kuleszo, Anna Stanisławska-Sachadyn, Irena Bałasz-Chmielewska, Aleksandra Żurowska, Beata Lipska-Ziętkiewicz, [Ocena częstości występowania wariantu c.1772G>T w genie NUP93 u pacjentów ze steroidoopornym zespołem nerczycowym.](#)

Miejsce: Audytorium Maximum

12:50

- Patrycja Krystyna Ogonowska, Damian Neubauer, Agnieszka Bernat-Wójtowska, Wojciech Kamysz, Joanna Nakonieczna, [Zastosowanie kombinacji inaktywacji fotodynamicznej i peptydów przeciwdrobnoustrojowych wobec wielolekoopornych szczepów Pseudomonas aeruginosa.](#)

Miejsce: Audytorium Maximum

13:00

- **PRZERWA OBIADOWA**

14:00

- **SESJA PLAKATOWA**
- Patrycja Garbacz, Marek Wesołowski, [Zastosowanie spektroskopii FTIR i Ramana oraz DSC w badaniu ko-kryształów](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Katarzyna Mironiuk, Agnieszka Mickiewicz, Zdzisław Kochan, [Wpływ diety semiwegetariańskiej o zwiększonej podaży NNKT na skład masy ciała i profil lipidowy pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Małgorzata Patejko, Wiktoria Struck-Lewicka, Michał J. Markuszewski, Danuta Siluk, [Opracowanie metody rozdzielania modyfikowanych nukleozydów i deoksynukleozydów za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Agnieszka Kuchta, Agnieszka Ćwiklińska, Monika Cackowska, Ewa Wieczorek, Barbara Kortas-Stempak, Anna Gliwińska, Alicja Dębska-Ślizień, Kamil Dąbkowski, Kornelia Sałaga-Zaleska, Ewa Król, Maciej Jankowski, [Jakościowe zmiany cząstek lipoprotein wysokiej gęstości \(HDL\) u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek leczonych zachowawczo](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Agnieszka Kamedulska, Paweł Wiczling, [ANALIZA STATYSTYCZNA W DUCHU „OTWARTEJ NAUKI” NA PRZYKŁADZIE MODELU HIERARCHICZNEGO DANYCH CHROMATOGRAFICZNYCH](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Patrycja Bąk, Magdalena Prokopowicz, Małgorzata Grembecka, [Optymalizacja metody Folina-Ciocalteu celem jej wykorzystania do określenia potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów \*Petroselinum crispum\*](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Joanna Jońca, Aneta Mazurowska, Agnieszka Chylewska, Katarzyna Turecka, Małgorzata Waleron, Krzysztof Waleron, [WYKORZYSTANIE POLIPIRYDYLOWEGO KOMPLEKSU RUTENU \(II\) W TESTACH FIZJOLOGICZNYCH, BIOCHEMICZNYCH I ADAPTACYJNYCH PECTOBACTERIUM SPP.](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Ewa Bartosińska, Julia Jacyna, Agnieszka Borsuk-De Moor, Michał Kaliszan, Karolina Kondej, Jerzy Jankau, Alicja Renkielska, Zbigniew Jankowski, Wiesław Janusz Kruszewski, Paweł Wiczling, Michał Jan Markuszewski, Danuta Siluk, [Opracowanie bioanalitycznych metod oznaczania tokoferoli i tokotrienoli w tkance tłuszczowej pochodzącej z gruczołu piersiowego kobiet](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Mirosława Krauze-Baranowska, Agata Wilczańska-Barska, Maria Łuczkiwicz, Adam

- Kokotkiewicz, Barbara Sparzak-Stefanowska, [Elicited with \*Pectobacterium carotovorum\* the flavone accumulation in hairy root culture of \*Scutellaria lateriflora\* grown in bioreactor](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Jelena Djokovic, Dorota Wątróbska-Świetlikowska, Sanela Savic, Jelena Mitrovic, Malgorzata Sznitowska, Snezana Savic, [PEG-ylated parenteral nanoemulsions: stability study of formulations selected by experimental design](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Martyna Kasela, Agnieszka Grzegorzczak, Urszula Kosikowska, Edyta Chwiejczak, Anna Malm, [Lekowrażliwość szczepów \*Staphylococcus aureus\* kolonizujących górne drogi oddechowe osób starszych i personelu domu pomocy społecznej](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Robert Kowalski, Agnieszka Ćwiklińska, Gabriela Bednarczuk, Aleksandra Fijałkowska, [Analiza wyników zewnętrznej oceny jakości oznaczania stężenia digoksyny w polskich laboratoriach uczestniczących w programie Labquality w roku 2017](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Ewa Maria Wieczorek, Agnieszka Ćwiklińska, Agnieszka Kuchta, Barbara Kortas-Stempak, Anna Gliwińska, Maciej Jankowski, [Wpływ lipoprotein wysokiej gęstości \(HDL\) i subpopulacji HDL na efektywność lipolizy lipoprotein bardzo niskiej gęstości \(VLDL\)](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Joanna Zielińska, Tomasz Bączek, [Stabilność i selektywność kanałów transbłonowych utworzonych z cząsteczek amfoterycyny B](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Joanna Raczak-Gutknecht, Teresa Frąckowiak, Antoni Nasal, Anita Kornicka, Franciszek Sączewski, Roman Kaliszan, Michał Jan Markuszewski, [BADANIE WŁAŚCIWOŚCI MYDRIATYCZNYCH NOWYCH ZWIĄZKÓW IMIDAZOLINOWYCH U SZCZURA](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Katarzyna Centkowska, [OCENA MOŻLIWOŚCI OTRZYMYWANIA LAMELEK ROZPADAJĄCYCH SIĘ W JAMIE USTNEJ Z INKORPOROWANYMI CZĄSTKAMI STAŁYMI](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Marta Czapiewska, Piotr Bilski, Aleksandra Kruszka, Andrzej Winnicki, Tomasz Gnatowski, Maciej Karolak, [Badanie przenikania timololu przez soczewki kontaktowe](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Magdalena Pyszka, Magdalena Okońska, Maciej Niedźwiecki, Elżbieta Adamkiewicz-Drożyńska, Lucyna Konieczna, Tomasz Bączek, [Analiza aminokwasów w próbkach kondensatów wydychanego powietrza u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną z wykorzystaniem techniki chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Anna Roszkowska, Ilona Klejbor, Natalia Miękus, Katarzyna Macur, Paulina Czaplewska, Lucyna Konieczna, Wiesław Cubała, Janusz Moryś, Tomasz Bączek, [Techniki mikroekstrakcji jako nowoczesne metody przygotowania próbki do analizy leków oraz związków endogennych z różnych matryc biologicznych](#)

- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Magdalena Okońska, Magdalena Pyszka, Lucyna Konieczna, Tomasz Bączek, [Zastosowanie różnych technik mikroekstrakcji do oznaczania neuroprzekazników w osoczu pacjentów chorych na przewlekłą niewydolność układu sercowo-naczyniowego.](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Dagmara Ziembicka, Małgorzata Szczesio, Izabela Korona-Główniak, Katarzyna Gobis, [Nowe pochodne 6-chloropirazyny o potencjalnej aktywności przeciwdrobnoustrojowej: synteza, charakterystyka i ocena aktywności](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Jacek Jasiołcki, Piotr Skowron, [Nadprodukcja i oczyszczanie rekombinantowych cholinoesteraz.](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Malwina Krause, Henryk Foks, Ewa Augustynowicz-Kopeć, Agnieszka Napiórkowska, Katarzyna Gobis, [Nowe hydrazonoamidowe pochodne pikolinonitrylu o aktywności przeciwgruźliczej](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Agata Woźniak, Aleksandra Rapacka- Zdończyk, Mariusz Grinholc, [Efekt synergistyczny inaktywacji fotodynamicznej połączonej z antybiotykoterapią- skuteczna metoda uwrażliwiania karbapenemoopornych szczepów \*Acinetobacter baumannii\*](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Karol Gzella, Anita Kornicka, Małgorzata Jarosiewicz, Katarzyna Garbacz, Maria Gdaniec, [Synteza i struktura nowych pochodnych 2-\(1H-indol-2-yl\)akrylonitrylu o potencjalnej aktywności biologicznej](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Justyna Brzezicha-Cirocka, Daria Błażejewicz, Joanna Brzezińska, Małgorzata Grembecka, [OCENA WYBRANYCH SUPLEMENTÓW DIETY ORAZ ZIELONEJ KAWY NA PODSTAWIE ICH POTENCJAŁU ANTYOKSYDACYJNEGO](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Natalia Treder, Alina Plenis, Olga Maliszewska, Piotr Kowalski, Ilona Olędzka, Natalia Miękus, Ewa Bień, Małgorzata Krawczyk, Elżbieta Adamkiewicz-Drożyńska, Tomasz Bączek, [Monitorowanie poziomu epirubicyny w wybranych płynach ustrojowych techniką LC-FL](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Alina Gębska, Katarzyna Garbacz, Maria Wierzbowska, Ewa Kwapisz, Mariola Krause, [AKTYWNOŚĆ ENZYMATYCZNA \*Candida albicans\* IZOLOWANYCH Z JAMY USTNEJ](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Aleksandra Czumaj, Adriana Mika, Michał Chmielewski, [Zmiany profilu kwasów tłuszczowych u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek leczonych nerkozastępczo a metabolizm lipidów](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Ilona Olędzka, Natalia Miękus-Purwin, Piotr Kowalski, Alina Plenis, Marta Rudnicka,

- Natalia Kossakowska, Tomasz Bączek, [Optymalizacja procedur ekstrakcji metanefryny, normetanefryny, MHPG, DHPG, VMA, HVA i DOPAC przed analizą separacyjną metodą elektroforezy kapilarnej](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Katarzyna Turecka, Agnieszka Chylewska, Anna Kawiak, Krzysztof Waleron, [Związki koordynacyjne Co\(III\) z diaminowymi ligandami chelatującymi wykazują znaczącą aktywność przeciw grzybom z rodzaju Candida uszkodzając błonę komórkową mitochondrium i retikulum endoplazmatycznego](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Anna Krawczyńska, Lucyna Konieczna, Tomasz Bączek, [Optymalizacja metody dyspersyjnej mikroekstrakcji ciecz-ciecz jako efektywnego narzędzia izolacji witamin rozpuszczalnych w tłuszczach z różnych matryc biologicznych z zastosowaniem techniki chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Magdalena Smoktunowicz, Joanna Jońca, Aneta Mazurowska, Michał May, Małgorzata Waleron, Krzysztof Waleron, [Identyfikacja i charakterystyka bakterii z rodzaju Pectobacterium spp. izolowanych z prób gleby, wody oraz ze zdrowych roślin](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Tomasz Wasilewski, Natalia Kaplińska, Weronika Jakubaszek, Wojciech Kamysz, [Ocena trzech technik osadzania peptydu odwzorowującego miejsce wiązania aldehydów w receptorze HarmOBP7 na złotej elektrodzie czujnika piezoelektrycznego.](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Aleksandra Chmielewska, Lucyna Konieczna, Tomasz Bączek, [Dwuetapowa procedura ekstrakcji ciecz-ciecz w połączeniu z fazą stacjonarną immobilizowaną albuminą surowicy ludzkiej w oznaczaniu enancjomerów cetyryzyny wraz z nipaginą M i P](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Marta Bauer, Damian Neubauer, Maciej Jaśkiewicz, Krzysztof Gołacki, Karol Sikora, Wojciech Kamysz, [Kierunki badań nad peptydami przeciwdrobnoustrojowymi](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Edyta Chwiejczak, Urszula Kosikowska, Martyna Kasela, [Tworzenie biofilmu przez drobnoustroje z rodziny Pasteurellaceae izolowane z górnych dróg oddechowych pacjentów z nowotworem płuca](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Tomasz Gnatowski, Bartosz Przyborowski, Danuta Partyka, Andrzej Marek Winnicki, Marta Czapiewska, Maciej Karolak, [Technologia otrzymywania tabletek z hydrokortyzonem z zastosowaniem druku 3D](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Paulina Goździk, [Udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w procesie zapalnym ze szczególnym uwzględnieniem działania przeciwzapalnego kwasów omega-3](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Lucyna Konieczna, Anna Krawczyńska, Janusz Siebert, Maria Skrzypkowska, Piotr Gutknecht, Magdalena Reiwer-Gostomska, Łukasz Kaska, Justyna Bigda, Maria Proczko-



- Stepaniak, Tomasz Bączek, [Szybkie i jednoczesne oznaczanie 36 aminokwasów w nieinwazyjnych i inwazyjnych próbkach biologicznych otrzymanych od pacjentów bariatrycznych za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Renata Wawrzyniak, Szymon Macioszek, Anna Kosnowska, Rafał Bartoszewski, Michał Jan Markuszewski, [Improving metabolome coverage with new sample preparation method](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Julia Jacyna, Michał J. Markuszewski, [BLADDER CANCER: EPIDEMIOLOGY, RISK FACTORS & METABOLOMIC ANALYSIS](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Mirosława Krauze-Baranowska, Sylwia Godlewska, Barbara Sparzak-Stefanowska, Loretta Poblócka-Olech, Katarzyna Kimel, [HPLC-DAD-ESI/MS analiza metabolitów wtórnych w gatunkach z rodzaju Arnica L.](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Kornelia Sałaga-Zaleska, Łukasz Kończak, Agnieszka Kuchta, Kamil Dąbkowski, Ewa Wieczorek, Agnieszka Ćwiklińska, Maciej Jankowski, [Analiza wpływu intensywnego wysiłku fizycznego na stan równowagi oksydacyjno-redukcyjnej i parametry uszkodzenia mięśni u kobiet poniżej 30 roku życia](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Piotr Kowalski, Ilona Ołędzka, Alina Plenis, Natalia Miękus, Tomasz Bączek, [Electrophoretic quantification of rapamycin in serum samples with using off-line and on-line preconcentration techniques](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Anita Bułakowska, Jarosław Sławiński, Rafał Hałasa, [Ocena aktywności przeciwbakteryjnej nowych pochodnych 4-chloro-2-merkaptobenzenosulfonamidu](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Karol Gzella, Anita Kornicka, Katarzyna Turecka, Maria Gdaniec, [Synteza, struktura i aktywność biologiczna nowych pochodnych \(Z\)-1-\[1-\(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl\)-2-fenylwinylo\]-1H-indolu](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Łukasz Tomorowicz, Jarosław Sławiński, Beata Żołnowska, Anna Kawiak, Marcin Cieślak, [Synteza i aktywność przeciwnowotworowa pochodnych 2-\(1,3,5-triazyn-2-ylometylotio\)-N-\(imidazolidyn-2-ylideno\)-5-metylobenzenosulfonamidu](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Franciszek Sączewski, Łukasz Balewski, Aleksandra Płoskońska, Weronika Łukowska, Martyna Korcz, Patrick Bednarski, Maria Gdaniec, [Synteza i struktura nowych pochodnych 6,7-dihydro-2H-imidazo\[2,1-c\]\[1,2,4\]triazolo-3\(5H\)-iminy o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym](#)  
Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
  - Piotr Kawczak, Tomasz Bączek, [Ocena aktywności biologicznej wyselekcjonowanej grupy leków psychotropowych z zastosowaniem kwantowo-chemicznych metod obliczeniowych ab initio oraz ilościowych zależności struktura-aktywność](#)

- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Anna Szczoczarz, Aleksandra Marchwińska, Konrad Boblewski, Artur Lehmann, Apolonia Rybczyńska, [Wpływ hamowania receptora wapniowego \(CaR\) na stężenie glukozy w krwi szczura w obecności blokady kanałów wapniowych.](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Wiktoria Struck-Lewicka, Charlotte Sandersen, Vincent Marolf, Karolina Długińska, Małgorzata Waszczuk-Jankowska, Małgorzata Patejko, Michał Jan Markuszewski, Danuta Siluk, [LC-ESI-MS/MS study of dexmedetomidine determination in dogs plasma](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Kinga Konkel, Kamila Butowska, Agnieszka Borowik, Dariusz Wyrzykowski, Jacek Piosik, [CHARAKTERYSTYKA BIOFIZYCZNA NANOCZĄSTEK SREBRA I ICH ODDZIAŁYWANIA Z MUTAGENEM AKRYDYNOWYM ICR-191](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Agnieszka Ćwiklińska, Robert Kowalski, Barbara Kortas-Stempak, Agnieszka Kuchta, Aleksandra Fijałkowska, Gabriela Bednarczuk, Maciej Jankowski, [Jakość badania osadu moczu w polskich laboratoriach na podstawie wyników programu zewnętrznej oceny jakości \(EQA\)](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Magdalena Kowalska, Iwona Kowalska, Adrian Kowalski, Wiktor Dróżdź, Alicja Nowaczyk, [Narkolepsja w świetle współczesnych koncepcji terapeutycznych.](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Maciej Karolak, Łukasz Kubik, Jerzy Błaszczyński, Barbara Bednarczyk-Cwynar, Danuta Partyka, Andrzej Marek Winnicki, Tomasz Gnatowski, Marta Czapiewska, [Ocena aktywności wybranych pochodnych kwasu oleanolowego jako promotorów penetracji progesteronu do sztucznych błon lipofilowych](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Magdalena Gruskiewicz, Wioletta Kaliszan, Marcin Płaczek, Katarzyna Lewicka, Anna Stiepanow-Trzeciak, Robert Kowalski, Sebastian Sobski, [Nowe wyzwania dla farmaceutów szpitalnych z Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Tomasz Stefaniak, Mike Scott, Rob Brenninkmeijer, Rob Janknegt, Teresa Frąckowiak, Anita Hogg, Joanna Raczak-Gutknecht, Frans van Andel, [Zastosowanie programu komputerowego STEPSelect do optymalizacji leczenia przeciwzakrzepowego heparynami drobnocząsteczkowymi w UCK GUMed](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Andrzej Marek Winnicki, Alicja Olejnik, Paweł Fiołek, Danuta Partyka, Marta Czapiewska, Tomasz Gnatowski, Maciej Karolak, Alicja Konieczna, [Badanie penetracji parabenów w naskórek](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Magdalena Kowalska, Łukasz Fijałkowski, Alicja Nowaczyk, [Analiza parametrów fizykochemicznych w celu oceny bezpieczeństwa stosowania wybranych pochodnych działających na układ nerwowy.](#)



- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Alicja Kotłowska, Joanna Sitek, Krzysztof Sworczak, Piotr Szefer, Małgorzata Grembecka, [Metabolomics as a tool for detecting selected diseases associated with hypercortisolemia](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Ewelina Kreft, Robert Kowalski, Barbara Kortas-Stempak, Agnieszka Ćwiklińska, Agnieszka Kuchta, Anna Gliwińska, Maciej Jankowski, [Aktywność układu purynergicznego – zależnego od diadenozyno 5',5''-P1,P4-tetrafosforanu \(Ap4A\) - w regulacji hemodynamiki nerek szczurów z doświadczalnie wywołaną cukrzycą: rola receptorów adenozyiny A1](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Bianka Jacyna, Barbara Mikolaszek, Krzysztof Cal, [Physical properties of hydrogel capsules made with natural polymers](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Bartosz Maciejewski, Małgorzata Sznitowska, [ZASTOSOWANIE POCHODNYCH CELULOZY I POCHODNYCH KWASU METAKRYLOWEGO W MODYFIKOWANYCH FOLIACH ŻELATYNOWYCH](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Ewelina Edyta Kolańska-Dams, Ewa Żekanowska, [Ciężka zagrażająca życiu hipokaliemia](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Eliza Wolska, Katarzyna Łukasz, Małgorzata Sznitowska, [JAK SKUTECZNIE LIOFILIZOWAĆ ZAWIESINY SLM? BADANIA WSTĘPNE FORMULACJI PLACEBO](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Piotr Migas, Natalia Stempka, Mirosława Krauze-Baranowska, [The use of 2DTLC along with HPLC-ESI-MS in the quantitative analysis of lutein-containing dietary supplements.](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Magdalena Kowalska, Łukasz Fijałkowski, Alicja Nowaczyk, [Ocena toksycznego działania grupy pochodnych N-\(arylopiperazynylopropylo\)pirolidyn-2-onu z wykorzystaniem metod obliczeniowych.](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Ewelina Edyta Kolańska-Dams, Ewa Żekanowska, [Potencjał regeneracyjny płytek krwi](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Urszula Kosikowska, Sylwia Andrzejczuk, Edyta Chwiejczak, Anna Malm, [Oporność komensalnych pałeczek Haemophilus parainfluenzae pochodzących z mikrobioty oddechowej na antybiotyki beta-laktamowe oznaczona w oparciu o zalecenia EUCAST i CLSI](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Ewelina Edyta Kolańska-Dams, Ewa Żekanowska, [Hemostatyczna funkcja płytek krwi](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed
- Damian Szczesny, Katarzyna Czapiewska, Aleksandra Radwańska, Anita Kornicka, Franciszek Sączewski, Antoni Nasal, [Ocena aktywności przeciwbólowej ligandów receptora I2-imidazolinowego](#)
- Miejsce: hol przy Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej GUMed

15:00

• **WYSTĄPIENIA USTNE UCZESTNIKÓW KONFERENCJI**

- Dagmara Anastazja Bazar, Dominika Krenczkowska, Krystyna Mojsiewicz-Pieńkowska, [Badanie interakcji siloksanów cyklicznych ze składnikami stratum corneum techniką DSC](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

15:10

- Aleksandra Pawelec, Bartosz Wielgomas, [Identyfikacja oraz oznaczenie ilościowe alergenów zapachowych w aromatach do e-papierosów](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

15:20

- Marcin Muża, Lucyna Konieczna, Magdalena Wujtewicz, Radosław Owczuk, Tomasz Bączek, [Kondensat wydychanego powietrza - technika poboru, profilowanie aminokwasów oraz możliwe implikacje kliniczne u pacjentów z ARDS.](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

15:30

- Monika Gappa, Paweł Koniecznyński, Marek Wesołowski, Agostinho de Almeida, Edgar Pinto, [Badania nad całkowitą zawartością pierwiastków śladowych w naparach z roślin leczniczych stosowanych w leczeniu cukrzycy](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

15:40

- Magdalena Buszewska-Forajta, Anna Stefaniak, Aleksandra Szybiak, Agnieszka Kowalewska, Dominik Rachoń, Michał Jan Markuszewski, [BADANIE ZMIAN W METABOLOMIE SUROWICY U KOBIET Z ZESPOŁEM POLICYSTYCZNYCH JAJNIKÓW](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

15:50

- Barbara Mikolaszek, Maja Szczepańska, Edyta Kozłowska, Małgorzata Sznitowska, [Adhezyjne plastry przezskórne z deksametazonem i worykonazolem – optymalizacja technologiczna formulacji](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

16:00

- Anna Klimowska, Bartosz Wielgomas, [Optymalizacja warunków derywatyzacji polarnych związków z wykorzystaniem reakcji silylacji](#)  
Miejsce: Audytorium Maximum

16:10

- Wojciech Rodzaj, Malwina Wileńska, Emila Dziewirska, Anna Klimowska, Joanna Jurewicz, Wojciech Hanke, Bartosz Wielgomas, [Ocena narażenia oraz poszukiwanie predyktorów ekspozycji na insektycydy z grupy pyretroidów w populacji młodych mężczyzn](#)

Miejsce: Audytorium Maximum

16:20

- Emilia Dagher-Wojtkowiak, Paweł Wiczling, Roman Kaliszan, Michał Markuszewski, [Czy warto stosować modele hierarchiczne do analizy danych omicznych ?](#)

Miejsce: Audytorium Maximum

16:30

- **PODSUMOWANIE I POŻEGNANIE**

# WYKŁADY PLENARNE

dr hab. Tomasz Grabowski, ZF Polpharma SA, **“Analiza porównawcza farmakokinetyki ludzkich terapeutycznych przeciwciał monoklonalnych w fazie przedklinicznej: podanie podskórne – optymalizacja modelu”**

prof. Adriano Mollica, Uniwersytet ‘Gabriele d’Annunzio’, **“Design, synthesis and biological evaluation of novel opioid peptides DPDPE and Biphalin analogues”**

prof. Jan Dumański, Uniwersytet w Uppsali, Gdański Uniwersytet Medyczny, **“Mosaic loss of chromosome Y in leukocytes of aging men matters!”**

dr n. farm. Urszula Piotrowska, Warszawski Uniwersytet Medyczny, **“Wielkocząsteczkowe nośniki peptydów przeciwdrobnoustrojowych – synteza, badania strukturalne, fizykochemiczne i biologiczne”**

dr hab. Paweł Wiczling, prof. GUMed, Gdański Uniwersytet Medyczny, **“Pułapki myślenia w nauce”**

# PREZENTACJE USTNE

## Wielokierunkowe badanie aktywność pochodnych pirydyno-3-sulfonamidu

Krzysztof Szafrąński <sup>1</sup>, Jarosław Sławiński <sup>1</sup>, Anna Kawiak <sup>2</sup>, Anna Kędzia <sup>3</sup>, Ewa Kwapisz <sup>3</sup>

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

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

<sup>3</sup> - Katedra Mikrobiologii Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Obok znanych od początku XX wieku pochodnych benzenosulfonamidu obiektem badań prowadzonych w naszym zespole są pochodne pirydyno-3-sulfonamidu, który występuje jako element farmakoformowy w wielu zatwierdzonych i będących w fazie badań związkach wykazujących m.in. działanie moczopędne, aktywność antagonistyczną wobec receptorów tromboksanowych, receptorów bombesynowych, czy kinazy PI3K $\gamma$ , a także aktywność przeciwnowotworową.

W toku przeprowadzonych badań otrzymaliśmy i określiliśmy aktywność biologiczną licznych serii pochodnych 4-podstawionego pirydyno-3-sulfonamidu.

Na drodze wieloetapowych reakcji wychodząc z 4-chloropirydyno-3-sulfonamidu otrzymano szereg pierwszorzędowych pirydyno-3-sulfonamidów zróżnicowanych w pozycji 4 m.in. podstawnikami pirazolowymi, triazolowymi piperazynowymi czy tioalkilowymi, oraz ich pochodne N-arylowe (drugorzędowe sulfonamidy), których strukturę potwierdzono przy użyciu metod spektroskopowych IR oraz NMR. Otrzymane związki zostały przebadane pod kątem spodziewanej aktywności biologicznej: przeciwnowotworowej, przeciwdrobnoustrojowej oraz inhibicyjnej wobec anhidrazy węglanowej. Badania biologiczne prowadzone były we współpracy z Katedrą Mikrobiologii Jamy Ustnej GUMed, Międzyuczelnianym wydziałem Biotechnologii UG-GUMed oraz Uniwersytetem we Florencji.

Zgodnie z przewidywaniami szereg pochodnych pierwszorzędowych wykazał aktywność inhibicyjną wobec anhidrazy węglanowej - enzymu katalizującego reakcję hydratacja dwutlenku węgla będącego interesującym celem molekularnym dla wielu schorzeń w tym nowotworów oraz zakażeń bakteryjnych [1,2]. Natomiast szeregi drugorzędowych pochodnych sulfonamidowych w zależności od sposobu funkcjonalizacji ugrupowania sulfonamidowego wykazał obiecującą aktywność przeciwgrzybiczą [3] oraz cytostatyczną.

Piśmiennictwo:

[1] Sławiński, J., Szafrąński, K., Vullo, D., & Supuran, C. T. *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2013). 69, 701–710.

[2] Monti, S. M., Meccariello, A., Ceruso, M., Szafrąński, K., Sławiński, J., & Supuran, C. T. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, (2018). 33(1), 255–259.

[3] Szafrąński, K., Sławiński, J., Kędzia, A., Kwapisz, E. *Molecules*, (2017). 22(11), 1926.

kontakt: k.szafranski@gumed.edu.pl, jaroslaw.slawinski@gumed.edu.pl, kawiak@biotech.ug.gda.pl, anak@gumed.edu.pl, ewa.kwapisz@gumed.edu.pl

## Ocena barierowości skóry ludzkiej ex-vivo dla penetracji i przenikania niskocząsteczkowych siloksanów o strukturze cyklicznej

Dominika Krenczkowska, Krystyna Mojsiewicz-Pieńkowska

Katedra i Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Cykliczne siloksany (silikony) to grupa związków krzemooorganicznych wysoko ceniona w wielu gałęziach przemysłu, w tym w przemyśle chemicznym, medycznym, farmaceutycznym oraz kosmetycznym. Dynamiczna produkcja cyklicznych siloksanów: oktametylocyklotetrasiloksanu D4, dekametylocyklopentasiloksanu D5 i dodekametylocykloheksasiloksanu D6 spowodowała znaczny wzrost ich stężenia w środowisku. Uważa się, że zarówno zanieczyszczenie środowiska, jak i stosowanie produktów do pielęgnacji ciała i kosmetyków zawierających cykliczne siloksany stanowią główne źródło narażenia człowieka na tę grupę związków. Ze względu na bezpieczeństwo stosowania siloksanów w preparatach na skórę, konieczna jest weryfikacja możliwości pokonywania przez nie bariery skórnej, jak również wytypowanie spośród tej grupy substancji bezpiecznych.

Celem badania była weryfikacja możliwości pokonania bariery skórnej przez siloksany D4, D5 oraz D6 (ATR-FTIR i GC-FID), ocena drogi dyfuzji do warstwy rogowej (stratum corneum SC) (mikroskopia fluorescencyjna, holograficzna DHM), określenie głębokości przenikania do głębszych warstw skóry: naskórka i skóry właściwej (ATR-FTIR), a także potencjalnej interakcji z lipidami i białkami SC (mikroskopia fluorescencyjna, ATR-FTIR) oraz analiza dawek skumulowanych w poszczególnych warstwach skóry oraz płynie akceptorowym (GC-FID).

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że skóra ludzka nie wykazuje barierowości w stosunku do D4, D5 i D6. Badane silikony penetrują warstwę rogową i przenikają do głębszych warstw skóry: naskórka i skóry właściwej. Analiza mikroskopowa wykazała, że siloksany penetrują poprzez transport transepidermalny przez macierz lipidową, a także przez kaniony (przestrzenie międzyklastrowe), które stanowiły szlak dyfuzji do stratum corneum. Powodują również zaburzenie struktury warstwy rogowej, która jest konsekwencją interakcji z białkami i lipidami SC. Analiza ilościowa (GC-FID) wykazała, że całkowite skumulowane dawki w warstwach skóry i płynie akceptorowym dla D4, D5 i D6 wynosiły: 42,50; 95,37 i 77,19  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/24\text{h}$ , odpowiednio. Należy jednak podkreślić, iż D4 i D5 wykazują największe ryzyko absorpcji do naczyń krwionośnych, ze względu na najwyższe stężenia oznaczone w płynie akceptorowym. D6 natomiast może być określony jako związek bezpieczniejszy pod względem wpływu na barierę skóry ludzkiej.

Piśmiennictwo:

1. Mojsiewicz-Pieńkowska, K., Jamrógiewicz, M., Szymkowska, K., Krenczkowska, D., 2016. Direct Human Contact with Siloxanes (Silicones) - Safety or Risk Part 1. Characteristics of Siloxanes (Silicones). *Front. Pharmacol.* 7, 132.
2. Biesterbos J. W. H., Beckmann G., van Wel L., Anzion R. B. M., von Goetz N., Dudzina T., Roeleveld N., Ragas A. M. J., Russel F. G. M., and Scheepers P. T. J. "Aggregate dermal exposure to cyclic siloxanes in personal care products: Implications for risk assessment," *Environ. Int.*, 2015, 74, 231–239.

kontakt: d.krenczkowska@gumed.edu.pl, kpienk@gumed.edu.pl

## **Nowe pochodne N-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)guanidyny modyfikowane przez azotowe ugrupowania heterocykliczne jako związki potencjalnie pro-apoptyczne wobec komórek nowotworowych**

Aneta Pogorzelska <sup>1</sup>, Jarosław Sławiński <sup>1</sup>, Anna Kawiak <sup>2</sup>

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

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

Kontynuując poszukiwania pochodnych benzenosulfonyloguanidyny o aktywności cytotoksycznej względem komórek nowotworowych [1-3], zaprojektowano i zsyntetyzowano serię pochodnych zmodyfikowanych przez wprowadzenie istotnych fragmentów farmakoforowych tj. pierścienia morfoliny, 4-metylopiperazyny oraz piperydyny. Zaplanowane N-(2-alkilotiobenzeno-sulfonylo)guanidyny otrzymano w wyniku reakcji soli potasowych N-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)cyjanamidu z aminopiperydyną, aminomorfoliną lub 1-amino-4-metylopiperazyną, w obecności kwasu 4-toluenosulfonowego jako odczynnika protonującego. Otrzymane związki przebadano w teście MTT pod kątem aktywności cytotoksycznej względem trzech linii komórkowych: raka okrężnicy HCT-116, raka szyjki macicy HeLa oraz raka piersi MCF-7. Najwyższą zdolność hamowania wzrostu komórek nowotworowych stwierdzono w serii związków zawierających w strukturze ugrupowanie 4-metylopiperazyny, które w większości przypadków wykazywały wartości IC<sub>50</sub> < 25 μM, przy czym najniższe IC<sub>50</sub> wykazano dla N-{4-chloro-5-metylo-2-[(4-trifluorometylofenylo)metylotio]benzenosulfonylo-N'-(4-metylopiperazyn-1-ylo)guanidyny (średnie IC<sub>50</sub> = 11,7 μM). Podkreślić należy, że niektóre z pochodnych N'-(4-metylopiperazyn-1-ylo)guanidyny wykazały znacząco niższą aktywność wobec nienowotworowej linii komórkowej keratynocytów ludzkich HaCaT. Interesujące wyniki uzyskano w grupie pochodnych zmodyfikowanych przez wprowadzenie pierścienia piperydyny, w przypadku których stwierdzono wysoką selektywność względem linii komórkowej HCT-116 (średnie IC<sub>50</sub> = 73 μM względem komórek HCT-116 w porównaniu ze średnim IC<sub>50</sub> = 127 μM, 151 μM i 95 μM wobec odpowiednio komórek HeLa, MCF-7 i HaCaT). Z kolei związki zawierające w strukturze ugrupowanie morfoliny nie wykazały zdolności hamowania wzrostu badanych linii komórkowych. Pogłębione badania biologiczne z wykorzystaniem cytometrii przepływowej wskazują, że pochodne N'-(4-metylopiperazyn-1-ylo)guanidyny promują wzrost populacji komórek późnoapoptycznych.

Piśmiennictwo:

[1] Pogorzelska A., Sławiński J., Żołnowska B. et al. Eur. J. Med. Chem. 2017, 138, 357-370.

[2] Żołnowska B., Sławiński J., Pogorzelska A. et al. Eur. J. Med. Chem. 2014, 71, 135-147.

[3] Brożewicz K., Sławiński J. Eur. J. Med. Chem. 2012, 55, 384-394.

kontakt: anetapogorzelska@gumed.edu.pl, jaroslaw@gumed.edu.pl, anna.kawiak@biotech.ug.edu.pl



## Synteza nowych 2-alkilotio-N-[imino(heteroarylo)metylo]benzenosulfonamidów o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej i proapoptotycznej

Beata Żołnowska<sup>1</sup>, Jarosław Sławiński<sup>1</sup>, Anna Kawiak<sup>2</sup>, Mariusz Belka<sup>3</sup>, Tomasz Bączek<sup>3</sup>, Jarosław Chojnacki<sup>4</sup>

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

<sup>2</sup> - Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed, Uniwersytet Gdański i Gdański Uniwersytet Medyczny

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

<sup>4</sup> - Katedra Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska

Chemioterapeutyki odgrywają kluczową rolę jako środki przeciwnowotworowe indukujące apoptozę lub stymulujące funkcje apoptotyczne wyspecyfikowanych białek. Apoptoza z kolei jest procesem zaprogramowanej śmierci komórki i umożliwia wyeliminowanie komórek uszkodzonych bądź funkcjonujących nieprawidłowo. Wobec wciąż nasilającej się tendencji wzrostu zachorowań na nowotwory poznanie nowych, syntetycznych i aktywnych związków indukujących apoptozę w komórkach nowotworowych wydaje się być koniecznością.

Kontynuując badania nad poszukiwaniem nowych pochodnych 2-alkilotiobenzenosulfonamidu o aktywności przeciwnowotworowej otrzymano szereg hybryd molekularnych zawierających w swej strukturze fragmenty benzenosulfonamidu i układu heterocyklicznego: imidazolu, 1,2,4-triazolu, benzimidazolu i benzoksazolu. Aktywność przeciwnowotworową otrzymanych pochodnych 2-alkilotio-N-[imino(heteroarylo)metylo]benzenosulfonamidu oceniono *in vitro* na liniach ludzkich komórek nowotworowych raka piersi MCF-7, raka okrężnicy HCT-116 i raka szyjki macicy HeLa za pomocą testu MTT. Związki zawierające ugrupowanie 3-metylo-2-tio-1H-imidazolowe wykazały najwyższą aktywność cytotoksyczną i zarazem selektywność względem komórek HeLa (IC<sub>50</sub>: 6-7 μM). Natomiast pochodne 2-tio-1H-benz[d]imidazolu odznaczały się aktywnością w stosunku do komórek HCT-116 w zakresie IC<sub>50</sub>: 17-36 μM. Potencjał proapoptotyczny najbardziej aktywnych związków oceniono na podstawie: translokacji fosfatydyloseryny do zewnętrznej warstwy błony komórkowej, aktywacji kaspaz, fragmentacji DNA i analizy cyklu życiowego komórek nowotworowych. Wyniki przeprowadzonych testów pokazały, że badane związki promują fragmentację DNA w komórkach HeLa, indukują aktywację kaspaz i wzrost populacji komórek apoptotycznych. Badania aktywności przeciwnowotworowej pochodnych 2-alkilotio-N-[imino(3-metylo-2-tio-2,3-dihydro-1H-imidazol-1-yl)metylo]benzenosulfonamidu poszerzono o analizę stabilności metabolicznej *in vitro* z wykorzystaniem enzymów mikrosomalnych wątroby i NADPH.

kontakt: zolnowska@gumed.edu.pl, jaroslaw@gumed.edu.pl, anna.kawiak@biotech.ug.edu.pl, mariusz.belka@gumed.edu.pl, tbaczek@gumed.edu.pl, jaroslaw.chojnacki@pg.edu.pl

## **Mezoporowate materiały krzemionkowe w badaniach preformulacyjnych nad dwufunkcyjnym nośnikiem dla substancji leczniczych**

Adrian Szewczyk , Magdalena Prokopowicz

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

Zapalenie kości i stawów (osteomyelitis) spowodowane zakażeniem bakteryjnym, pojawia się najczęściej wtórnie, na skutek otwartego uszkodzenia kości, po zabiegu rekonstrukcji kości lub po wstawieniu implantu. Cenny uzupełnieniem klasycznej farmakoterapii okazują się implantowane do kości dwufunkcyjne nośniki antybiotyków, które uwalniają substancję leczniczą w sposób kontrolowany oraz przyspieszają regenerację tkanki kostnej. Wśród nich wymienić należy mezoporowate materiały krzemionkowe SBA-15. Niestety, ze względu na ich porowatość, niską gęstość nasypową oraz adhezyjność, materiały te nie nadają się do bezpośredniej obróbki w technologii farmaceutycznej.

Celem prezentowanego projektu jest ustalenie procedury otrzymania stałego nośnika leku w formie sferycznych granulatów (peletek) na bazie mezoporowatego materiału krzemionkowego SBA-15 z zaadsorbowaną cefazoliną - modelowym antybiotykiem stosowanym w leczeniu osteomyelitis. Zaproponowana procedura ma zapewnić w warunkach symulujących osocze ludzkie przedłużone uwalnianie antybiotyku oraz formowanie się na powierzchni nośnika warstwy węglanowego hydroksyapatytu o morfologii i składzie zbliżonym do naturalnego apatytu kostnego (tzw. potencjał mineralizacyjny). Mezoporowaty materiał krzemionkowy SBA-15 zsyntezowano metodą zol-żel. Do modyfikacji powierzchni materiału krzemionkowego metodą graftingu wykorzystano grupy 3-aminopropylowe. Adsorpcję cefazoliny przeprowadzono metodą adsorpcji ze stężonego roztworu. Peletyzację materiałów krzemionkowych z dodatkiem substancji pomocniczych o charakterze hydrofobowym przeprowadzono metodą granulacji, ekstruzji i sferonizacji w skali laboratoryjnej. Otrzymane peletki poddano analizie mikroskopowej (skaningowej, transmisyjnej, sił atomowych, stereoskopowej), termicznej (termograwimetria, skaningowa kalorymetria różnicowa), analizie spektrofotometrycznej w podczerwieni, rentgenografii strukturalnej, adsorpcji-desorpcji azotu. Peletki poddano farmakopealnym badaniom właściwości mechanicznych, dostępności farmaceutycznej oraz badaniu potencjału mineralizacyjnego.

Adsorpcja cefazoliny na materiale krzemionkowym SBA-15 o zmodyfikowanej grupami aminowymi powierzchni zachodziła zgodnie z modelem Langmuira i kinetyką pseudo-drugiego rzędu. Peletki na bazie mezoporowatych materiałów krzemionkowych SBA-15 charakteryzowały się zadawalającą ścieralnością i nie ulegały rozpadowi przez 60 dni. Peletki charakteryzowały się przedłużonym, siedmiodniowym uwalnianiem cefazoliny i wykazywały właściwości mineralizacyjne po dodatkowym prowadzeniu załączków apatytowych. Otrzymane wyniki badań mogą przyczynić się do wzrostu zainteresowania taką postacią leku obok cementów kostnych, granulek, kompozytów i bioszkieł stosowanych w chirurgii urazowo-ortopedycznej.

kontakt: [adrian\\_szewczyk@gumed.edu.pl](mailto:adrian_szewczyk@gumed.edu.pl), [magdalena.prokopowicz@gumed.edu.pl](mailto:magdalena.prokopowicz@gumed.edu.pl)

## Zmiany fenotypu limfocytów B pod wpływem zastosowanej terapii skojarzonej limfocytami T regulatorowymi i rituximabem u dzieci z cukrzycą typu 1

Justyna Sakowska<sup>1</sup>, Maciej Zieliński<sup>1</sup>, Magdalena Żalińska<sup>2</sup>, Matylda Hennig<sup>2</sup>, Dorota Iwaszkiewicz-Grześ<sup>1</sup>, Mateusz Gliwiński<sup>1</sup>, Natalia Marek-Trzonkowska<sup>3</sup>, Anna Jaźwińska-Curyłło<sup>4</sup>, Radosław Owczuk<sup>5</sup>, Wojciech Młynarski<sup>6</sup>, Przemysław Jarosz-Chobot<sup>7</sup>, Artur Bossowski<sup>8</sup>, Janusz Siebert<sup>3</sup>, Małgorzata Myśliwiec<sup>2</sup>, Piotr Trzonkowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Department of Clinical Immunology and Transplantology, Medical University of Gdańsk, Debinki 7, 80-210 Poland

<sup>2</sup> - Department of Pediatric Diabetology and Endocrinology, Medical University of Gdańsk, Debinki 7, 80-210 Poland

<sup>3</sup> - Department of Family Medicine, Laboratory of Immunoregulation and Cellular Therapies, Medical University of Gdańsk, Debinki 2, 80-210 Poland

<sup>4</sup> - Regional Center of Blood Donation and Treatment, Hoene-Wrońskiego 4 80-210 Gdańsk, Poland

<sup>5</sup> - Department of Anaesthesiology and Critical Care, Medical University of Gdańsk, Debinki 7, 80-210 Poland

<sup>6</sup> - Department of Paediatrics, Oncology, Haematology and Diabetology, Medical University of Lodz, Sporna 36/50, 91-738 Lodz Poland

<sup>7</sup> - Department of Paediatrics, Endocrinology and Diabetes, Medical University of Silesia, Poniatowskiego 15, 40-055 Katowice Poland

<sup>8</sup> - Department of Paediatrics, Endocrinology, Diabetology with Cardiology Division, Medical University of Białystok, Jana Kilińskiego 1, 15-089 Białystok Poland

**Wstęp:** Cukrzyca typu 1 to przewlekła choroba autoimmunologiczna, w przebiegu której następuje niszczenie wysp beta trzustki przez autoreaktywne limfocyty T pod wpływem aktywacji przez inne komórki układu immunologicznego, w tym limfocyty B. Dużym osiągnięciem w leczeniu chorób autoimmunologicznych jest wprowadzenie terapii komórkowej limfocytami T regulatorowymi oraz lekami biologicznymi np. przeciwciałami monoklonalnymi anti-CD20 (rituximabem), co ma wywołać supresyjne działanie na autoreaktywne komórki i zahamować progresję choroby. Przeprowadzone badanie miało na celu ocenę subpopulacji limfocytów B u pacjentów poddanych terapii komórkowej w ciągu roku oraz sprawdzić wpływ terapii rituximabem na ilość i fenotyp limfocytów B.

**Badani i metody:** Badaną grupę stanowiło 18 pacjentów z cukrzycą typu 1 leczonych terapią komórkową w postaci autoprzeszczepu komórek T regulatorowych, w połączeniu z rituximabem. Grupę kontrolną stanowiło 11 pacjentów chorujących na cukrzycę typu 1, leczonych standardowo bez zastosowania terapii komórkowej. Oznaczenie fenotypu limfocytów B wykonywano w momencie włączenia do badania i czterokrotnie w ciągu roku. Wykorzystując cytometrię przepływową, na podstawie barwienia 10 antygenów powierzchniowych, zidentyfikowano limfocyty B, komórki pamięci, strefy marginalnej, pamięci IgM i po przełączeniu klas przeciwciał, limfocyty przejściowe, komórki CD21low, młode limfocyty B, plazmablasty, limfocyty B1 i B2.

**Wyniki:** Zastosowanie leczenia rituximabem przyniosło spodziewany efekt deplecji limfocytów B na okres kilku miesięcy i ich odnowy z puli szpikowej. Po podaniu rituximabu nastąpił spadek ilości komórek pamięci, natomiast zwiększył się poziom młodych form limfocytów B, komórek przejściowych i CD5+. W grupach badanych po roku od wprowadzenia terapii zaobserwowano niższy poziom plazmablastów w porównaniu do grupy kontrolnej.

**Wnioski:** Uzyskane wyniki wskazują na zmniejszenie aktywności odpowiedzi humoralnej u pacjentów poddanych terapii komórkowej limfocytami Treg, szczególnie w połączeniu z rituximabem. Po repopulacji następuje odmłodzenie puli limfocytów B i wzrasta ilość komórek o właściwościach regulatorowych. Finansowano z grantu STRATEGMED1/233368/1/NCBR/2014 Narodowego Centrum Badań i Rozwoju

kontakt: justyna.sakowska@gumed.edu.pl, mzielinski@gumed.edu.pl, mzalinska@gumed.edu.pl, matylda.hennig@gumed.edu.pl, dorota.iwaszkiewicz-grzes@gumed.edu.pl, matt.gliwinski@gumed.edu.pl, natalia.marek-trzonkowska@gumed.edu.pl, ajc@krew.gda.pl, radoslaw.owczuk@gumed.edu.pl, wojciech.mlynarski@umed.lodz.pl, przemka1@tlen.pl, abossowski@hotmail.com, janusz.siebert@gumed.edu.pl, malgorzata.mysliwiec@gumed.edu.pl, ptrzon@gumed.edu.pl

## **Metoda sporządzania tabletek z amorficznym ibuprofenem techniką impregnacji na gorąco.**

Kamil Garbera <sup>1</sup>, Wiesław Sawicki <sup>2</sup>

<sup>1</sup> - Adamed Pharma S.A. Pieńków, ul. Mariana Adamkiewicza 6A 05-152 Czosnów

<sup>2</sup> - Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Chemii Fizycznej, ul. Hallera 107, Gdańsk 80-416

Głównym założeniem badań było wykorzystaniee techniki impregnacji na gorąco (Hot Melt Impregnation) jako sposobu amorfizacji ibuprofenu oraz wytworzenia tabletek na bazie otrzymanego półproduktu. Technika impregnacji na gorąco jest pochodną procesu ekstruzji na gorąco (Hot Melt Extrusion). Elementami różnicującymi te dwie techniki są przede wszystkim typy substancji pomocniczych użytych do procesów oraz postać fizyczna otrzymanego produktu. Technika impregnacji na gorąco wymaga zastosowania nieorganicznego nośnika porowatego (np. Neusilin US2), który podczas obróbki cieplnej i mechanicznej staje się podłożem dla substancji leczniczej. Uzyskany półprodukt ma postać proszku i nie wymaga dodatkowego rozdrobnienia. Na podstawie badań z użyciem proszkowego dyfraktometru rentgenowskiego wykazano amorficzne właściwości otrzymanych półproduktów. Analizy fizyczne otrzymanych impregnatów pozwoliły zaobserwować doskonałe właściwości mechaniczne (zsypywalność, indeks Carr'a, kął zsypu). Tabletki otrzymane poprzez tabletkowanie impregnatu charakteryzowały się lepszą dostępnością farmaceutyczną w porównaniu do rynkowego produktu leczniczego zawierającego ibuprofen. Prezentowana metoda posiada duży potencjał do komercjalizacji oraz zastosowania z innymi molekułami.

kontakt: kamil.garbera@adamed.com.pl, wsawicki@gumed.edu.pl

## Ocena stabilności naproksenu

Karolina Milewska , Marzena Jamrógiewicz

Katedra i Zakład Chemii Fizycznej Wydział Farmaceutyczny z OML Gdański Uniwersytet Medyczny

Jednym z kluczowych etapów oceny jakości substancji leczniczych oraz produktu leczniczego są badania stabilności. W przemyśle farmaceutycznym prowadzi się badania stresowe, przyspieszone oraz długotrwałe. Są one obostrzone przepisami, które wciąż ewoluują zgodnie z najnowszym stanem wiedzy. W celu zapewnienia pacjentom bezpieczeństwa stosowania preparatów konieczne jest ciągle prowadzenie badań fizykochemicznych, a także poznawanie nietypowych mechanizmów przemian zachodzących w substancjach leczniczych. Wynika to z faktu, iż zgodnie z najnowszymi trendami zapewnienia jakości farmaceutycznej kluczowym elementem badań stabilności jest ocena toksyczności wszystkich identyfikowalnych zanieczyszczeń. Stąd też wcześniej konieczne jest ich oznaczenie i zidentyfikowanie. Prezentowane wyniki są jedynie częścią projektu doktorskiego. Celem prezentacji jest ocena stabilności fizycznej oraz chemicznej wytypowanej do badań substancji z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych - naproksenu w formie wolnego kwasu oraz soli sodowej. Wybór substancji do badań uzasadniają istniejące doniesienia literaturowe dotyczące niestabilności naproksenu oraz jego toksycznych produktów degradacji, których powstawanie wciąż nie jest wyjaśnione. Biorąc pod uwagę dane statystyczne na temat znacznej częstości przyjmowania leków z naproksenem przez pacjentów, a także ze względu na liczne doniesienia o zagrożeniach ekologicznych wywoływanych przez zanieczyszczenie oraz degradację środowiska preparatami z naproksenem uznano temat kompleksowych badań stabilności naproksenu za priorytetowy.

Próbki badane są w warunkach podwyższonej temperatury, a także wilgotności i światła (z zakresu UV i widzialnego) w komorze Suntest CPS+, zatwierdzonej przez ICH do testów stabilności fotochemicznej. Do oceny zmian fizykochemicznych wykorzystywano głównie metodę spektroskopii w zakresie podczerwieni, FTIR oraz bliskiej podczerwieni, NIR, a także metodę różnicowej kalymetrii skaningowej, DSC. Uzyskane zmiany kalymetryczne próbek w postaci przesunięć pików topnienia oraz różnic w entalpii przemian dla próbek przed badaniami i po testach stabilności, a także przesunięcia i zaniki pasm spektroskopowych tych próbek, są potwierdzeniem zmian fizykochemicznych naproksenu zachodzących pod wpływem badanych czynników.

kontakt: km.karolinamilewska@gumed.edu.pl, majam@gumed.edu.pl

## **Optimalizacja antybiotykoterapii: źródła niepewności w symulacjach Monte Carlo**

Agnieszka Borsuk-De Moor , Paweł Wiczling

Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny

Optimalizacja farmakoterapii przeciwdrobnoustrojowej jest zagadnieniem skomplikowanym, wymagającym rozległej wiedzy nie tylko na temat charakterystyki leku oraz cech pacjenta, ale także na temat samego patogenu. Większość schematów dawkowania dla obecnie stosowanych antybiotyków została opracowana zgodnie z wytycznymi Europejskiej Agencji Leków na podstawie symulacji Monte Carlo. W wyniku symulacji otrzymujemy wielkość zwaną prawdopodobieństwem osiągnięcia celu (ang. probability of target attainment, PTA), która mówi o tym jakie jest prawdopodobieństwo osiągnięcia wybranego celu terapeutycznego w populacji pacjentów leczonych danym atybiotykiem w określonej dawce i przy danej lekowrażliwości szczepu bakteryjnego. Sama definicja wartości PTA sugeruje, że do jej wyliczenia niezbędny jest szereg założeń, a każde z nich obarczone jest niepewnością. Niepewność ta nie jest raportowana, a jej brak na prostych wykresach przedstawianych klinicystom może budować fałszywy obraz rzeczywistości. W prezentacji przedstawione zostaną źródła niepewności, które powinny zostać uwzględnione podczas konstruowania symulacji, a przede wszystkim podczas ich interpretacji i wyciągania wniosków, mających przełożenie na decyzje kliniczne.

kontakt: [agnieszkabe@gumed.edu.pl](mailto:agnieszkabe@gumed.edu.pl), [wiczling@gumed.edu.pl](mailto:wiczling@gumed.edu.pl)

## Zmiany mikrobiomu jelitowego związane z nadciśnieniem u osób otyłych lub z nadwagą

Agata Janczy<sup>1</sup>, Joanna Karbowska<sup>2</sup>, Zdzisław Kochan<sup>1</sup>, Sylwia Małgorzewicz<sup>3</sup>

<sup>1</sup> - Zakład Biochemii Żywności, Katedra Żywności Klinicznej, Wydział Nauk o Zdrowiu, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> - Katedra i Zakład Biochemii, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup> - Zakład Żywności Klinicznej i Dietetyki, Katedra Żywności Klinicznej, Wydział Nauk o Zdrowiu, Gdański Uniwersytet Medyczny

Mikrobiom jelitowy stał się w ostatnich latach przedmiotem intensywnych badań, których wyniki wskazują, że ma on duży wpływ na organizm człowieka. Zmiany składu gatunkowego bakterii występujących w jelitach obserwuje się w otyłości i cukrzycy typu 2, a od niedawna uważa się, że swoista dysbioza może również towarzyszyć schorzeniom układu sercowo-naczyniowego.

W celu poznania ewentualnych zmian składu mikrobiomu jelitowego u osób z nadciśnieniem analizie zostały poddane względne proporcje *Firmicutes* i *Bacteroidetes* w dwóch grupach badanych: z podwyższonym i prawidłowym ciśnieniem tętniczym.

Materiałem do badań były próbki kału pochodzące od 56 dorosłych osób (43 kobiet i 13 mężczyzn) o podwyższonej masie ciała (BMI > 25 kg/m<sup>2</sup>), z których 20 miało nadciśnienie tętnicze. W grupie osób z nadciśnieniem było 18 kobiet i 2 mężczyzn, w wieku od 27 do 64 lat, o masie ciała od 69,0 do 170,4 kg (BMI 27,6-56,4 kg/m<sup>2</sup>). Grupa badanych z prawidłowym ciśnieniem tętniczym składała się z 25 kobiet i 11 mężczyzn, w wieku od 18 do 66 lat i o masie ciała od 55,4 do 137,9 kg (BMI 24,9-49,6 kg/m<sup>2</sup>). W próbkach kału przeprowadzono pomiar ilości *Firmicutes* (*Enterococcus*, *Clostridium* i *Lactobacillus*) oraz *Bacteroidetes* (*Bacteroides*).

U osób z nadciśnieniem liczba *Clostridium* spp. była większa, natomiast liczba *Lactobacillus* spp. mniejsza niż u osób z normotensją (*Clostridium*: 4,63 x10<sup>5</sup> vs. 1,45 x10<sup>5</sup> CFU/g, *Lactobacillus*: 8,88 x10<sup>5</sup> vs. 29,94 x10<sup>5</sup> CFU/g). Nie było różnic w ilości *Enterococcus* spp. i *Bacteroides* spp. między badanymi grupami (*Enterococcus*: 8,22 x10<sup>6</sup> vs. 7,74 x10<sup>6</sup> CFU/g, *Bacteroides*: 1,82 x10<sup>9</sup> vs. 1,70 x10<sup>9</sup> CFU/g). Uzyskane wyniki wskazują, że nadciśnienie tętnicze u osób otyłych i osób z nadwagą jest związane ze zmianami mikrobiomu jelitowego, wśród których obniżenie ilości *Lactobacillus* spp. wydaje się szczególnie niekorzystne, ponieważ właśnie te bakterie wytwarzają peptydy hamujące aktywność konwertazy angiotensyny (ACE).

kontakt: janczy.agata@gumed.edu.pl, karbowska.joanna@gumed.edu.pl, zdzislaw.kochan@gumed.edu.pl, sylwia.malgorzewicz@gumed.edu.pl

## Zastosowanie TLC w analizie alantoiny w *Symphytum officinale* L.

Katarzyna Kimel, Magdalena Zienkiewicz, Barbara Sparzak-Stefanowska, Mirosława Krauze-Baranowska

Katedra i Zakład Farmakognozji Gdański Uniwersytet Medyczny

Żywokost lekarski (*Symphytum officinale* L.) (*Boraginaceae*) jest źródłem leczniczych surowców roślinnych – liście (*Symphyti folium*) i korzenia (*Symphyti radix*). Ich aktywność przeciwzapalna i stymulująca procesy regeneracyjne m. in. w obrębie stawów jest łączona z obecnością alantoiny – heterocyklicznej pochodnej mocznika [1]. Dane literaturowe wskazują na bardzo zróżnicowaną zawartość alantoiny w liściach, niekiedy niższą od zawartości w korzeniu [2].

Celem pracy była optymalizacja warunków TLC oznaczania jakościowego i ilościowego alantoiny w surowcach leczniczych z *Symphytum officinale*.

Oznaczenia alantoiny prowadzono w ekstraktach alkoholowych otrzymanych w wyniku ekstrakcji pod chłodnicą zwrotną w temp. 80°C (1g surowca/25 ml etanolu) – korzenie oraz w aparacie Soxhleta - liście. W optymalizacji warunków rozdzielania wykorzystano różne typy adsorbentów: płytki TLC Si60, HPTLC Si60 F254 i TLC Si60 RP W254 oraz kombinacje faz ruchomych metyloetyloketon-aceton-kwas mrówkowy-woda 40:2:1:6 (v/v/v/v), metanol-kwas mrówkowy-woda 70:6:30 (v/v/v), butanol-50% metanol 1:1, 1:5, 2:1, 3:1 (v/v), butanol-50% metanol-kwas mrówkowy (40:20:0.16 v/v/v), (40:20:0.1 v/v/v). Jako optymalny układ chromatograficzny zastosowano płytki TLC Si60 (analiza jakościowa) i TLC Si60F254 (analiza ilościowa) oraz fazę ruchomą butanol-50% metanol-kwas mrówkowy (40:20:0.16 v/v/v). W analizie jakościowej alantoinę wywoływano roztworem p-dimetyloaminobenzaldehydu w mieszaninie metanolu i 37% kwasu solnego (temp. 100°C, 5 min) (światło widzialne). Oznaczenia ilościowe prowadzono bez derywatywacji przy długości fali  $\lambda$ -190 nm z użyciem densytometru. Opracowana metoda TLC została zwalidowana.

Oznaczona zawartość alantoiny w korzeniach wynosiła od 0.35% do 2.11% - cztery spośród pięciu badanych surowców odpowiadały w tym zakresie normie farmakopealnej zawartości alantoiny (>0.7%). Natomiast w liściach alantoina występowała w ilościach poniżej limitu oznaczalności opracowanej metody TLC. Wyniki oznaczeń zawartości alantoiny w korzeniach otrzymane metodą TLC były zgodne z wynikami otrzymanymi metodą HPLC (kolumna HILIC Luna NH2 100A, faza ruchoma acetonitryl-woda 4:1 (v/v) UV  $\lambda$ -190 i 210 nm). Po raz pierwszy opracowano metodę ilościowego oznaczania alantoiny z użyciem TLC.

Piśmiennictwo:

[1] R. Andres, R. Brenneisen, J. Clerc. Relating antiphlogistic efficacy of dermatics containing extracts of *Symphytum officinale* to chemical profiles. *Med* 55 (1989) 643-4.

[2] S. Foster. *Tyler's honest herbal: a sensible guide to the use of herbs and related remedies*: Routledge; 2012.

kontakt: kimkas@gumed.edu.pl, m.zienkiewicz@gumed.edu.pl, bsparzak@gumed.edu.pl, krauze@gumed.edu.pl



## **Badanie uwalniania mleczanu cyprofloksacyny z kompozytów na bazie mezoporowatych materiałów krzemionkowych.**

Adrianna Skwira <sup>1</sup>, Agnieszka Konopacka <sup>2</sup>, Magdalena Prokopowicz <sup>1</sup>

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

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

Tradycyjna terapia Osteomyelitis polega na chirurgicznym opracowaniu rany będącej przyczyną zakażenia bakteryjnego oraz stosowaniu antybiotykoterapii dożylną i/lub doustną nawet do 6 tygodni, co może prowadzić do zaburzeń składu i funkcji mikroflory jelitowej. Trudnościami w osiągnięciu całkowitej skuteczności leczenia jest niska biodostępność antybiotyków i zbyt niskie stężenie w słabo unaczynionej kości. W związku z tym najkorzystniejsze wydaje się być stosowanie bezpośrednio do miejsca chorobowo zmienionego materiałów kompozytowych o przeznaczeniu implantacyjnym, będących nośnikami substancji leczniczej o modyfikowanym, przedłużonym uwalnianiu.

Przeprowadzone badania miały na celu opracowanie optymalnego składu jakościowego i ilościowego potencjalnego nośnika substancji leczniczej do tkanki kostnej. Otrzymano 14, różniących się składem, kompozytów o postaci polimerowych filmów zbudowanych z polidimetylosiloksanu (PDMS) o różnych wartościach lepkości kinematycznej (25, 65, 150 cSt) i etylocelulozy (EC) oraz homogennie zawieszono w polimerowej matrycy mezoporowatego materiału krzemionkowego (MCM-41) z zaadsorbowanym mleczanem cyprofloksacyny (CP). Następnie, przeprowadzono badanie kinetyki uwalniania substancji leczniczej z otrzymanych kompozytów z wykorzystaniem spektrofotometrii UV-Vis. Dokonano oceny wpływu (i) lepkości PDMS, (ii) procentowej zawartości PDMS oraz (iii) obecności MCM w składzie kompozytów na kinetykę uwalniania CP. Jako kontrolę zastosowano MCM-41 z zaadsorbowanym CP. Na tej podstawie wytypowano kompozyty o potencjalnie najbardziej korzystnych profilach uwalniania i dokonano pomiaru stref zahamowania wzrostu bakterii szczepu wzorcowego (*S.aureus* ATCC 6538) na podłożu agarowym po 1, 3, 24, 48h inkubacji w celu sprawdzenia skuteczności przeciwdrobnoustrojowej dawki wyrzutowej.

Najniższym początkowym wyrzutem antybiotyku charakteryzowały się kompozyty zawierające w składzie PDMS o lepkości 150 cSt. Nie zaobserwowano znamienych różnic dla 1% i 2% zawartości PDMS tej samej lepkości, natomiast obecność MCM-41 we wszystkich formułacjach w sposób znaczący zmniejszała ilość uwolnionej substancji leczniczej w pierwszych dobach inkubacji. Test dyfuzji do podłoża stałego potwierdził różnice w szybkości uwalniania substancji leczniczej oraz wrażliwość bakterii szczepu wzorcowego *S.aureus* ATCC 6538 na stosowany antybiotyk.

kontakt: adaskwira@gumed.edu.pl, agakonopacka@gumed.edu.pl, magdalena.prokopowicz@gumed.edu.pl

## Zastosowanie sorbentów otrzymywanych techniką druku 3D w analizie farmaceutycznej

Mariusz Belka , Tomasz Bączek

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Różnorodne techniki drukowania 3D zyskują na znaczeniu w wielu dziedzinach nauki i poza nią. Jedną z najszerzej stosowanych technik jest osadzanie topionego materiału (ang. fused deposition modeling, FDM), polegające na kształtowaniu materiału (termoplastycznego tworzywa sztucznego) poprzez przeciskanie go przez rozgrzaną dyszę. Dysza kontroluje przepływ materiału i warstwa po warstwie tworzy trójwymiarowy obiekt, poprzez kontrolowaną komputerowo, zaprogramowaną sekwencję jej ruchów. Zespół Katedry Chemii Farmaceutycznej GUMed realizuje projekt zakładający wykorzystanie elementów drukowanych techniką FDM jako aktywnych chemicznie sorbentów umożliwiających ekstrakcję małocząsteczkowych analitów z matryc biologicznych. Dotychczasowe osiągnięcia dotyczą udowodnienia przydatności materiału LAYFOMM60 do ekstrakcji lipofilowych leków [1]. Opracowano również i oceniono parametry walidacyjne metody oznaczania endogennych substancji o budowie steroidowej w osoczu krwi ludzkiej. Opracowana metoda cechuje się parametrami wystarczającymi do oznaczania stężenia tych substancji w próbkach biologicznych [2]. Dalsze kierunki badań obejmują opracowanie systemu analitycznego umożliwiającego jednoczesną ekstrakcję 96 próbek, a także poszukiwanie nowych materiałów sorpcyjnych.

Piśmiennictwo:

[1] M. Belka, S. Ulenberg, T. Bączek; Fused deposition modeling enables the low-cost fabrication of porous, customized-shape sorbents for small-molecule extraction, *Analytical Chemistry*, (2017) 89, 4373-4376.

[2] L. Konieczna, M. Belka, M. Okońska, M. Pyszka, T. Bączek, New 3D-printed sorbent for extraction of steroids from human plasma preceding LC–MS analysis, *Journal of Chromatography A*, (2018) 1545, 1-11.

kontakt: mariusz.belka@gumed.edu.pl, tbaczek@gumed.edu.pl

## Zastosowanie modelowania hierarchicznego w analizie izokratycznych danych chromatograficznych

Łukasz Kubik , Paweł Wiczling

Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Gdański Uniwersytet Medyczny

Praca przedstawia wykorzystanie modelowania hierarchicznego do opisu danych chromatograficznych. Parametry modelu zostały prognozowane w oparciu o statystykę bayesowską – próbkowanie Monte Carlo wykorzystujące łańcuchy Markowa. Analizowane dane [Al-Haj et al., Anal. Chem., 74 (1999) 2976-2985] obejmowały czasy retencji zmierzone z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz, dla 58 związków chemicznych. Oznaczenia wykonano w warunkach izokratycznych dla metanolu i acetonitrylu jako fazy ruchomej. Do analizy statystycznej wykorzystano program Stan w połączeniu z programem Matlab.

Opracowano trzy modele o różnym stopniu skomplikowania: (1) model bez pulowania (oddzielny model dla każdego analitu), (2) model z pulowaniem (założono wspólny rozkład parametrów modelu dla wszystkich analitów) oraz model (3) z pulowaniem uwzględniający relacje pomiędzy deskryptorami strukturalnymi a parametrami modelu (równania QSRR). Własności predykcyjne opracowanych modeli porównano przy pomocy sprawdzianu krzyżowego (10-krotnej walidacji).

Zastosowanie modelowania hierarchicznego pozwoliło lepiej zrozumieć dane w porównaniu do klasycznych metod chemometrycznych. Z kolei zastosowanie statystyki bayesowskiej pozwoliło uwzględnić informację a priori (dostępną przed przeprowadzeniem doświadczeń) w postaci danych literaturowych. W pracy pokazano również przykład zastosowania zaproponowanych modeli do przewidywania retencji chromatograficznej analitów w acetonitrylu na podstawie różnej liczby pomiarów w metanolu i vice versa. Projekt finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki na podstawie decyzji nr 2015/18/E/ST4/00449 (konkurs Sonata Bis 5). Część obliczeń wykonano na komputerach Centrum Informatycznego Trójmiejskiej Akademickiej Sieci Komputerowej.

kontakt: lkubik@gumed.edu.pl, pawel.wiczling@gumed.edu.pl

## Wyznaczanie wartości IC50 pochodnych arylopiiperazyny przy pomocy systemu enzymatycznego CYPExpress.

Szymon Ulenberg, Tomasz Bączek

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Zaburzenia depresyjne są powszechną chorobą psychiczną, dotykającą ok. 151 milionów ludzi na całym świecie [1]. W Polsce dotyka ono około 7,4 % badanej populacji, co daje jej szóste miejsce wśród najczęstszych chorób przewlekłych [2]. Powoduje to ciągłe zapotrzebowanie na powstawanie nowych leków przeciwdepresyjnych, cechujących się większą skutecznością oraz bezpieczeństwem stosowania. Pochodne arylopiiperazyny (analogi buspironu – leku wykazującego działanie przeciwdepresyjne i przeciwłękowe) zwracają na siebie uwagę swoją potwierdzoną eksperymentalnie aktywnością wobec receptora 5-HT<sub>1A</sub>. Wraz ze wzrostem częstości występowania zaburzeń depresyjnych, rośnie ryzyko występowania u jednego pacjenta innych schorzeń. Prowadzi to do terapii wielolekowej, która z kolei wiąże się z ryzykiem interakcji między różnymi czynnikami terapeutycznymi. W dobie rosnącego wykorzystania badań w warunkach *in vitro*, mających na celu zmniejszenie kosztów badań kandydatów na leki, podjęto próbę wyznaczenia wartości IC<sub>50</sub> będącej stężeniem substratu powodującego przebieg reakcji enzymatycznej z połową prędkości maksymalnej. Wartość ta może służyć za ilościowy współczynnik charakteryzujący potencjał interakcji w terapii wielolekowej. Do próby wyznaczenia tej wartości w warunkach *in vitro* użyto systemu enzymatycznego CYPExpress, którego głównym zastosowaniem są badania metabolitów lub ich synteza i do tej pory był wykorzystywany jedynie do tego typu badań. W przedstawionym projekcie użyto systemu CYPExpress zawierającego izoformę CYP3A4, stanowiącego główny enzym odpowiedzialny za metabolizm arylopiiperazyn. Badanie przeprowadzono na 5 pochodnych arylopiiperazyny, dobierając je pod kątem aktywności farmakologicznej [3]. Zaprezentowana procedura pozwala na szybkie i precyzyjne wyznaczenie wartości IC<sub>50</sub>, co w konsekwencji pozwala na oszacowanie bezpieczeństwa użycia kandydatów na leki w przypadku potencjalnego ich użycia w połączeniu z innymi lekami metabolizowanymi przez izoformę CYP3A4.

### Piśmiennictwo:

1. Global Burden of Disease: 2004 Update (2008). Geneva, Switzerland: World Health Organization.
2. Stan Zdrowia i Ludności Polski w 2004 r. (2006). Warszawa: Główny Urząd Statystyczny.
3. Ulenberg S, Belka M, Król M, Herold F, Hewelt-Belka W, et al. (2015) Prediction of Overall In Vitro Microsomal Stability of Drug Candidates Based on Molecular Modeling and Support Vector Machines. Case Study of Novel Arylopiiperazines Derivatives. PLoS One 10: e0122772. Available: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0122772>.

kontakt: [szymon.ulenberg@gmail.com](mailto:szymon.ulenberg@gmail.com)

## Kapilarna elektroforeza strefowa pęcherzyków błonowych *Pectobacterium* sp.

Szymon Dziomba<sup>1</sup>, Krzesimir Ciura<sup>2</sup>, Martyna Frańczuk<sup>3</sup>, Michalina Zalewska<sup>3</sup>, Bruna Correia<sup>1</sup>, Paulina Sawicka<sup>1</sup>, Marta Dawid<sup>1</sup>, Krzysztof Waleron<sup>3</sup>, Bartosz Wielgomas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Katedra i Zakład Toksykologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> - Katedra i Zakład Chemii Fizycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup> - Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Uwalnianie do środowiska bytowania pęcherzyków błonowych przez bakterie jest jednym z istotnych mechanizmów adaptacyjnych. W zależności od ładunku przenieszonego przez pęcherzyki, a także składu jego błony zewnętrznej, struktury te mogą również brać udział w procesie komunikacji między komórkami, wymianie genów lekooporności, infekcji gospodarza, a także stanowić linię obrony mikroorganizmu przed np. fagami bakteryjnymi. Z tego względu na przestrzeni ostatnich lat pęcherzyki błonowe organizmów prokariotycznych, jak i eukariotycznych, stały się jednym z wiodących obiektów badań naukowców na całym świecie [1, 2].

Bakteryjne pęcherzyki błonowe są strukturami biologicznymi, których wielkość nie przekracza zwykle 100 nm. Analiza próbek zawierających tego typu struktury stanowi niemałe wyzwanie. Powszechnie stosowane podejście do tego zagadnienia polega na wykorzystaniu kilku technik analitycznych takich jak mikroskopia elektronowa, chromatografia w połączeniu ze spektrometrią mas (analiza lipidomiczna i proteomiczna) czy technik opartych na zjawisku dyfrakcji i rozpraszania światła. Wymaga to zarówno czasu, środków, jak i dostępu do zaawansowanej technologicznie aparatury.

Tematem prezentacji jest możliwość wykorzystania elektroforezy kapilarnej jako narzędzia do kontroli jakości próbek zawierających bakteryjne pęcherzyki błonowe wydzielane przez *Pectobacterium* sp. Według wstępnych wyników badań metoda ta pozwoli na względną analizę jakościową, jak i ilościową uzyskiwanych izolatów. Umożliwia także screening szczepów bakteryjnych pod kątem efektywności produkcji pęcherzyków błonowych, warunków prowadzenia hodowli i przygotowania izolatów, a także warunków ich przechowywania. Metoda jest szybka (całkowity czas trwania analizy nie przekracza 8 minut), cechuje się małym zużyciem próbki (minimalna objętość próbki użytej do badania to 5 ul), a także znikomym kosztem wykonywanych analiz.

Przeprowadzone badania wskazują na duży potencjał opracowanej metody jako rutynowego narzędzia w laboratoriach naukowych zajmujących się tematyką pęcherzyków błonowych.

Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki (2016/21/D/ST4/03727).

Piśmiennictwo:

[1] B. L. Deatherage, B. T. Cookson, *Infection and Immunity*, 2012, 80, 1948 - 1957.

[2] M. Rodrigues, J. Fan, C. Lyon, M. Wan, Y. Hu, *Theranostics*, 2018, 8, 2709 - 2721.

kontakt: szymon.dziomba@gumed.edu.pl, krzesimir.ciura@gumed.edu.pl, martyna.franczuk@gmail.com, michalina.zalewska@biotech.ug.edu.pl, correibruna95@gmail.com, p\_sawicka@gumed.edu.pl, dawidxmarta@gumed.edu.pl, krzysztof.waleron@gumed.edu.pl, bartek@gumed.edu.pl

## Ocena częstości występowania wariantu c.1772G>T w genie NUP93 u pacjentów ze steroidoopornym zespołem nerczycowym.

Maciej Jankowski<sup>1</sup>, Dominika Kuleszo<sup>1</sup>, Anna Stanisławska-Sachadyn<sup>2</sup>, Irena Bałasz-Chmielewska<sup>3</sup>, Aleksandra Żurowska<sup>3</sup>, Beata Lipska-Ziętkiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Pracownia Genetyki Klinicznej, Katedra i Zakład Biologii i Genetyki Medycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> - Katedra Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii, Politechnika Gdańska

<sup>3</sup> - Katedra i Klinika Pediatrii, Nefrologii i Nadciśnienia, Gdański Uniwersytet Medyczny

### Wstęp:

Zespół nerczycowy (ZN) jest chorobą kłębuszków nerkowych. Podstawową formą leczenia ZN jest steroidoterapia, jednakże u ok.10-15% pacjentów nie będzie odpowiedzi klinicznej nawet na wysokie dawki tej grupy leków (tzw. steroidooporny ZN; SOZN). U 25-30% pacjentów chorych na SOZN stwierdza się genetyczne podłoże schorzenia, najczęściej w genach NPHS2 i WT. W 2015r. odkryto związek pomiędzy mutacjami w genie NUP93, kodującym białko stanowiące istotny element strukturalny porów jądrowych, a glomerulopatią klinicznie przebiegającą jako SOZN. Większość pacjentów posiadała wariant c.1772G>T co najmniej na jednym allelu genu, sugerując istnienie efektu założyciela.

### Cel:

Oznaczenie częstości wariantu c.1772G>T w genie NUP93 w DNA pacjentów wyselekcjonowanych spośród chorych z międzynarodowego rejestru PodoNet z uwzględnieniem danych dotyczących pochodzenia etnicznego pacjentów.

### Materiał i metody:

Badanie przeprowadzono na reprezentatywnej grupie 315 pacjentów z Europy, Bliskiego Wschodu oraz Ameryki Południowej, u których nie stwierdzono obecności mutacji w genach NPHS2 oraz WT1. DNA pacjentów poddano analizie genotypów w locus c.1772 genu NUP93 za pomocą techniki ilościowego PCR z wykorzystaniem sond molekularnych w układzie FRET. Wszystkie wykryte homozygoty TT i heterozygoty GT, a także wybrane homozygoty GG zostały potwierdzone sekwencjonowaniem sangerowskim.

### Wyniki:

Częstość występowania wariantu T wynosiła 2,1% w tym dla krajów Europy Środkowej: Czechy 16,7%, Litwa 6,7%, Polska 3,7%. U 5 pacjentów stwierdzono obecność allelu T w układzie homozygotycznym (4 Polaków; 1 Litwin) co pozwala na postawienie rozpoznania dziedzicznego SOZN. Ponadto w badanej grupie stwierdzono obecność 3 heterozygot (2 Czechów; 1 Turek).

### Wnioski:

Uzyskane wyniki jak i dane literaturowe wskazują na istnienie potencjalnego efektu założyciela dla wariantu c.1772G>T w populacjach Europy Środkowej. Wskazane jest przeprowadzenie dalszych badań haplotypowych celem jego potwierdzenia i ew. oceny wieku powstania mutacji co umożliwi powiązanie zasięgu jej występowania do historycznych ruchów migracyjnych w tym terenie. Ponadto, należy rozważyć wprowadzenie badania genu NUP93 do rutynowego panelu badań diagnostycznych u pacjentów chorych na SOZN w tych populacjach.

kontakt: maciej\_jankowski@gumed.edu.pl, dominika.kuleszo@gumed.edu.pl, anna.stanislawaska@pg.edu.pl, irena.balasz-chmielewska@gumed.edu.pl, aleksandra.zurowska@gumed.edu.pl, beata.lipska-zietkiewicz@gumed.edu.pl

## Zastosowanie kombinacji inaktywacji fotodynamicznej i peptydów przeciwdrobnoustrojowych wobec wielolekoopornych szczepów *Pseudomonas aeruginosa*.

Patrycja Krystyna Ogonowska <sup>1</sup>, Damian Neubauer <sup>2</sup>, Agnieszka Bernat-Wójtowska <sup>3</sup>, Wojciech Kamysz <sup>2</sup>, Joanna Nakonieczna <sup>4</sup>

<sup>1</sup> - Zakład Diagnostyki Molekularnej, Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG&GUMed

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

<sup>3</sup> - 1. Zakład Diagnostyki Molekularnej, Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG&GUMed, Gdańsk 2. Zakład Embriologii Doświadczalnej, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Warszawa

<sup>4</sup> - Zakład Diagnostyki Molekularnej, Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG&GUMed, Gdańsk

*Pseudomonas aeruginosa* to gram-ujemna bakteria, należąca do grupy ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.). Jest oportunistycznym patogenem, będącym przyczyną wielu ciężkich zakażeń szpitalnych. Wywołuje wiele chorób m.in. zakażenia układu moczowego, zakażenia ran, czy sepsę. Z uwagi na oporność na wiele grup antybiotyków, leczenie jest ograniczone. W związku z tym, jako alternatywną metodę eradykacji wielolekoopornych szczepów *Pseudomonas aeruginosa* zaproponowano inaktywację fotodynamiczną (ang. Photodynamic Inactivation, PDI). Oparta jest na zastosowaniu światła o określonej długości fali i nietoksycznego związku chemicznego - fotouczulacza. W wyniku połączenia tych dwóch czynników dochodzi do powstania reaktywnych form tlenu, co skutkuje uszkodzeniem struktur komórkowych i śmiercią komórki. Z racji obecności u bakterii Gram-ujemnych dodatkowej struktury - zewnętrznej błony komórkowej, która utrudnia przenikanie fotouczulacza do wnętrza komórki bakteryjnej, do skutecznej eradykacji wymagane jest zastosowanie wyższej dawki światła i fotouczulacza, niż w przypadku bakterii Gram-dodatnich. Dlatego też do wzmocnienia efektu stosuje się kombinację metody inaktywacji fotodynamicznej oraz peptydów przeciwdrobnoustrojowych (ang. Antimicrobial Peptides, AMPs). W badaniach skupiono się na analizie 35 szczepów klinicznych *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych od pacjentów leczonych w Szpitalu Wojewódzkim w Koszalinie, Szpitalu Wojewódzkim w Gdańsku oraz Śląskim Uniwersytecie Medycznym w Katowicach. Do badań wykorzystano również szczep referencyjny *P. aeruginosa* ATCC® 10145. Minimalne stężenie hamujące wybranych antybiotyków określono za pomocą automatycznego analizatora bakteriologicznego VITEK® 2 Compact (bioMérieux, Francja). Eksperyment inaktywacji fotodynamicznej przeprowadzono w świetle zielonym ( $\lambda_{max}=514$  nm) z użyciem rózu bengalskiego (ang. Rose bengal, RB) oraz kombinacji rózu bengalskiego z peptydem przeciwdrobnoustrojowym: pexiganan (RB+PEX) i CAMEL (RB+CAM). Testowane dawki światła i stężenia badanych związków sprawdzano pod kątem ich cyto- i fototoksyczności względem ludzkich keratynocytów (HaCaT). W tym celu wykonano test MTT oraz zastosowano system xCELLigence. Udowodniono, iż kombinacja fotouczulacza z peptydem przeciwdrobnoustrojowym prowadzi do skutecznej eradykacji szczepów *Pseudomonas aeruginosa*. Ponadto ustalone warunki procesu inaktywacji fotodynamicznej nie powodują efektu cyto- i fototoksycznego względem ludzkich keratynocytów.

kontakt: patrycja.ogonowska@phdstud.ug.edu.pl, damian.neubauer@gumed.edu.pl, agnieszka.bernat@biotech.ug.edu.pl, wojciech.kamysz@gumed.edu.pl, joanna.nakonieczna@biotech.ug.edu.pl

## Badanie interakcji siloksanów cyklicznych ze składnikami stratum corneum techniką DSC

Dagmara Anastazja Bazar , Dominika Krenczkowska , Krystyna Mojsiewicz-Pieńkowska

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

Siloksany cykliczne są związkami powszechnie występującymi w formułacjach na skórę, zarówno leczniczych, jak i do pielęgnacji ciała oraz kosmetykach [1], dlatego niezbędna jest ocena ich bezpieczeństwa stosowania. Wiąże się to z możliwością wpływu na zmianę barierowości skóry, za którą odpowiada warstwa rogowa naskórka (łac. stratum corneum). Wiele ksenobiotyków skutecznie obniża barierowość skóry poprzez wpływ na podstawowe komponenty tej warstwy - białka i lipidy, co jest jednak zjawiskiem niekorzystnym. Zmiany, zarówno strukturalne jak i ilościowe białek oraz lipidów stratum corneum określane są mianem interakcji. Ze względu na fakt, iż jak dotąd brak jest dostępnych danych naukowych na temat bezpieczeństwa aplikacji siloksanów cyklicznych na skórę oraz możliwości oddziaływania tych związków ze składnikami stratum corneum, przeprowadzone badania można uznać za nowatorskie.

Celem badań była weryfikacja interakcji zachodzących pomiędzy siloksanami cyklicznymi ze składnikami strukturalnymi stratum corneum (lipidami oraz białkami) przy użyciu techniki różnicowej kalorymetrii skaningowej DSC (ang. Differential Scanning Calorimetry). Badania testowe przeprowadzono na analitach: oktametylocyklotetrasiloksanie (D4), dekametylocyklopentasiloksanie (D5) oraz dodekametyloheksacyklosiloksanie (D6).

Występowanie interakcji pomiędzy D4, D5 i D6, a składnikami strukturalnymi stratum corneum (lipidami i białkiem - keratyną) potwierdzano na podstawie porównywania zmian zakresów temperaturowych endoterm ( $T_{subzero}$ , T1, T2, T3 oraz T4), temperatur w maksimum oraz entalpii przejść termicznych pomiędzy próbkami kontrolnymi (izolowane stratum corneum) a próbkami badanymi (izolowane stratum corneum po aplikacji siloksanów na skórę). Na krzywej DSC dla próbek kontrolnych zidentyfikowano pięć specyficznych przejść termicznych o średnich wartościach temperatur w maksimum:  $T_{subzero}$  ( $-5,65 \pm 2,16$ ), T1 ( $30,49 \pm 1,44$ ), T2 ( $69,87 \pm 1,11$ ), T3 ( $83,54 \pm 1,58$ ) oraz T4 ( $123,98 \pm 4,74$ ).

Na podstawie uzyskanych wyników i wnioskowania statystycznego potwierdzono, że cykliczne siloksany wpływają na zmianę charakterystycznego profilu termicznego stratum corneum, co dowodzi występowanie oddziaływań. Wykazano, że skutkiem interakcji siloksanów z lipidami lub kompleksem lipidowo-białkowym koperty korneocytów jest przesunięcie zakresów temperaturowych poszczególnych endoterm, jak również podwyższenie entalpii przejść termicznych.

Piśmiennictwo:

- [1] - A critical assessment of the environmental fate of linear and cyclic volatile methylsiloxanes using multimedia fugacity models. Dimitri Panagopoulos. Matthew MacLeod. Environ. Sci.: Processes Impacts, 2018, 20, 183
- [2] - The Lipid Organisation in Human Stratum Corneum and Model Systems. Joke A. Bouwstra, Gert S. Gooris. The Open Dermatology Journal, 2010, 4, 10-13

kontakt: dagmara.bazar@gumed.edu.pl, dominika.krenczkowska@gumed.edu.pl, kpienk@gumed.edu.pl



## **Identyfikacja oraz oznaczenie ilościowe alergenów zapachowych w aromatach do e-papierosów**

Aleksandra Pawelec , Bartosz Wielgomas

Gdański Uniwersytet Medyczny

Elektroniczne papierosy w ostatnich latach wciąż zyskują na popularności, chociaż na rynku dostępne są już od ponad dekady. Do dziś jednak nie udało się określić spójnej, mającej poparcie w badaniach naukowych opinii co do wpływu na zdrowie stosowania tych urządzeń [1], [2]. Elektroniczny papieros jest urządzeniem, którego zasada działania polega na podgrzewaniu specjalnego roztworu (tzw. e-liquid) i wytworzeniu aerozolu, który jest wdychany przez użytkownika. Tradycyjny e-liquid składa się z trzech podstawowych składników: bazy, czyli mieszaniny glikolu propylenowego i glicerolu w zmiennych proporcjach, nikotyny oraz aromatu, czyli mieszaniny kompozycji zapachowych i smakowych, nadających e-liquidowi przyjemny smak podczas „wapowania”. Obok komercyjnie dostępnych gotowych e-liquidów w sprzedaży znaleźć można pojedyncze składniki, dzięki czemu możliwe jest stworzenie przez użytkownika własnej mieszaniny dopasowanej do jego preferencji.

Aromaty, czyli kompozycje zapachowe i smakowe składają się ze związków organicznych (najczęściej aldehydów, alkoholi, estrów czy terpenów) pochodzenia syntetycznego lub naturalnego, występujących przeważnie w postaci wieloskładnikowych mieszanin. W przeciwieństwie do gotowych e-liquidów zawierających nikotynę, nie są objęte regulacjami prawnymi oraz nie podlegają żadnemu systemowi kontroli. W związku z tym nie ma obowiązku wyszczególniania na opakowaniu składu produktu. Substancje zapachowe stanowią jedną z najczęściej uczulających grup związków dodawanych do kosmetyków lub produktów spożywczych [3]. W aromatach służących do sporządzania e-liquidów substancje te występują w dużych stężeniach, mogą więc powodować wziewne lub kontaktowe reakcje alergiczne, czego użytkownik, w związku z brakiem wyszczególnionego składu na opakowaniu, może nie być świadomym.

Celem pracy była jakościowa i ilościowa analiza alergenów w aromatach do sporządzania e-liquidów. Analizy prowadzono z wykorzystaniem techniki chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID). Zanalizowano 41 aromatów o różnych smakach. Wyniki badań wskazują na występowanie w większości analizowanych aromatów substancji zapachowych w stężeniach wskazujących na możliwość wystąpienia u użytkowników reakcji uczulającej.

Piśmiennictwo:

[1] K. Kadimisetty et al., ACS Sensors 2 (2017) 670–678.

[2] L. Shahab et al., Ann. Intern. Med. 166 (2017) 390–400.

[3] T. Hamilton, G. C. et al., Skin Therapy Lett., vol. 16, no. 4 (2011) 1–4.

kontakt: [aleksandra.pawelec@gumed.edu.pl](mailto:aleksandra.pawelec@gumed.edu.pl), [bartosz.wielgomas@gumed.edu.pl](mailto:bartosz.wielgomas@gumed.edu.pl)

## **Kondensat wydychanego powietrza - technika poboru, profilowanie aminokwasów oraz możliwe implikacje kliniczne u pacjentów z ARDS.**

Marcin Muża <sup>1</sup>, Lucyna Konieczna <sup>2</sup>, Magdalena Wujtewicz <sup>3</sup>, Radosław Owczuk <sup>3</sup>, Tomasz Bączek <sup>2</sup>

<sup>1</sup> - SKN Chemii Farmaceutycznej GUMed

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

<sup>3</sup> - Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii GUMed

Zespół ostrej niewydolności oddechowej (ARDS) stanowi zagrożenie życia wymagające hospitalizacji w oddziale intensywnej terapii oraz wentylacji mechanicznej. U jego przyczyn leżą liczne choroby zarówno pierwotnie związane z układem oddechowym jak i takie, w których zajęcie płuc jest procesem wtórnym. ARDS zwykle ma przyczynę infekcyjną, choć istnieje wiele chorób niezakaźnych, które mogą stanowić przyczynę tego problemu klinicznego [1]. Z powyższych powodów chorzy leczeni z powodu ARDS nie są jednolitą grupą i stanowią poważny problem diagnostyczno – terapeutyczny. W ostatnich latach szeroko poszukuje się biomarkerów mających istotne znaczenie w rozpoznaniu, monitorowaniu leczenia i szacowaniu rokowania w ARDS [2]. W celu lepszego poznania patofizjologii tego zespołu oraz określenia możliwych implikacji klinicznych pobrano kondensaty wydychanego powietrza od pacjentów Kliniki Intensywnej Terapii GUMed, u których rozpoznano ARDS oraz od zdrowych ochotników w całkowicie nieinwazyjny sposób. Ochotnicy oddychali spokojnie przez ustnik połączony z plastikowym pojemnikiem schłodzonym przez kondensator do -10°C. Podobne warunki poboru uzyskano poprzez podłączenie chłodzonego pojemnika do obiegu respiratora, co czyni pobór próbki prawie całkowicie neutralnym dla pacjenta. Otrzymane próbki poddano profilowaniu stężeń aminokwasów poprzez upochodnienie i nastrzyk próbek na kolumnę LC/MS. Wyniki przedstawione w tej pracy stanowią element projektu realizowanego wspólnie przez Klinikę Intensywnej Terapii oraz Katedrę i Zakład Chemii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Piśmiennictwo:

1. McNicholas, B. A., Rooney, G. M., & Laffey, J. G. (2018). Lessons to learn from epidemiologic studies in ARDS. *Current Opinion in Critical Care*, 24(1), 41-48. doi:10.1097/MCC.0000000000000473
2. Metwaly, S. M., Cote, A., Donnelly, S. J., Banoei, M. M., Mourad, A. I., & Winston, B. W. (2018). Evolution of ARDS biomarkers: Will metabolomics be the answer? *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 315(4), L526-L534. doi:10.1152/ajplung.00074.2018

kontakt: Max1101@gumed.edu.pl, lucyna.konieczna@gumed.edu.pl, magdalena.wujtewicz@gumed.edu.pl, radoslaw.owczuk@gumed.edu.pl, tomasz.baczek@gumed.edu.pl

## **Badania nad całkowitą zawartością pierwiastków śladowych w naparach z roślin leczniczych stosowanych w leczeniu cukrzycy**

Monika Gappa <sup>1</sup>, Paweł Konieczny <sup>1</sup>, Marek Wesołowski <sup>1</sup>, Agostinho de Almeida <sup>2</sup>, Edgar Pinto <sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> - Department of Chemical Sciences, Laboratory of Applied Chemistry, University of Porto

Rośliny lecznicze są często stosowane jako wspomagające leczenie cukrzycy, będącej poważną chorobą cywilizacyjną. Jednakże w wielu przypadkach, wiedza na temat mechanizmu ich działania nie jest do końca poznana. Obok metabolitów wtórnych, ważną rolę w metabolizmie glukozy mogą odgrywać pierwiastki śladowe. Z tego powodu podjęto się analizy zawartości pierwiastków śladowych w naparach otrzymanych z 57 produktów roślinnych dostępnych na rynku farmaceutycznym, pochodzących od 26 różnych gatunków roślin leczniczych, w tym stosowanych w łagodzeniu objawów cukrzycy (19 produktów) oraz niestosowanych w tej chorobie, stanowiących grupę porównawczą (7 produktów). Poziom pierwiastków w naparach określono techniką ICP-MS. Otrzymane wyniki wskazują na znaczne zróżnicowanie stężeń pierwiastków śladowych wśród badanych próbek roślin leczniczych, zarówno między roślinami leczniczymi pochodzącymi od różnych gatunków botanicznych, jak i w obrębie tych samych gatunków, ale otrzymanych od różnych firm zielarskich.

Najwyższy poziom spośród badanych pierwiastków oznaczono w przypadku Mn (598.2 and 498.8 µg/g) w naparach z *Myrtilli folium*, następnie B, Zn, Cu i Cr. Analiza statystyczna wykazała istotne różnice ( $p < 0.05$ ) pomiędzy poziomami następujących pierwiastków w stosunku do grupy porównawczej: B, V, Mn, Se, As, Pb, Sc, Sr i Tb. Okazało się też, że jedynie stężenie Mn w naparach uzyskanych z roślin leczniczych stosowanych w cukrzycy było istotnie wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej. Podsumowując, najwyższe stężenia kilku wymienionych wyżej pierwiastków śladowych powiązanych z metabolizmem glukozy i niezbędnych dla organizmu ludzkiego zanotowane zostały w przypadku naparów z roślin leczniczych, co może wskazywać na rolę tych pierwiastków w działaniu przeciwcukrzycowym niektórych roślin.

kontakt: pawelkon@gumed.edu.pl, monikagappa@gumed.edu.pl, marwes@gumed.edu.pl, aalmeida@ff.up.pt, quimicaaplicada@ff.up.pt

## **Badanie zmian w metabolomie surowicy u kobiet z zespołem policystycznych jajników**

Magdalena Buszewska-Forajta <sup>1</sup>, Anna Stefaniak <sup>1</sup>, Aleksandra Szybiak <sup>2</sup>, Agnieszka Kowalewska <sup>3</sup>, Dominik Rachoń <sup>2</sup>, Michał Jan Markuszewski <sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Zakład Endokrynologii Klinicznej i Doświadczalnej, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Dębinki 7, 80-211 Gdańsk

<sup>3</sup> Indywidualna Specjalistyczna Praktyka Lekarska Agnieszka Kowalewska, ul. Parkowa 11, 81-549 Gdynia

Zespół policystycznych jajników (PCOS) stanowi bardzo poważny problem endokrynologiczny, który dotyczy ok. 10-15% kobiet w wieku reprodukcyjnym. Pomimo licznych badań, mechanizm powstawania PCOS nie został dotychczas dokładnie wyjaśniony, a terapia choroby skupia się głównie na leczeniu objawowym. Jako że PCOS jest obecnie jedną z głównych przyczyn niepłodności spowodowanej brakiem owulacji wśród młodych kobiet, niezbędne jest dokładne poznanie i zrozumienie patomechanizmu powstawania tej choroby, jak również opracowanie metod szybszej diagnostyki oraz skutecznej i specyficznej terapii. Celem przeprowadzonego badania było oznaczenie i porównanie profili metabolomicznych próbek surowicy krwi otrzymanych od 30 pacjentek, u których zdiagnozowano PCOS oraz od 30 zdrowych kobiet, które stanowiły grupę kontrolną. Analiza metabolomiczna została przeprowadzona z wykorzystaniem HPLC-TOF/MS oraz GC-QqQ/MS. Uzyskane dane poddano jednowymiarowej analizie statystycznej posługując się testem t-Studenta/U Manna-Whitney'a. Przeprowadzono również wielowymiarową analizę statystyczną, w ramach której zastosowano analizę głównych składowych (PCA) oraz metodę selekcji zmiennych istotnych (VIP) i metodę współczynnika selektywności (SR).

Zidentyfikowano 33 metabolity, które w sposób istotny statystycznie różnicowały badane grupy. Otrzymane związki obrazują zaburzenia, które mogą być związane z rozwojem zespołu policystycznych jajników, dotyczące metabolizmu aminokwasów, węglowodanów, hormonów steroidowych, lipidów, puryn, a także cyklu Krebsa.

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

kontakt: [anna.stefaniak@gumed.edu.pl](mailto:anna.stefaniak@gumed.edu.pl)

## Adhezyjne plastry przezskórne z deksametazonem i worykonazolem – optymalizacja technologiczna formulacji

Barbara Mikolaszek , Maja Szczepańska , Edyta Kozłowska , Małgorzata Sznitowska

Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej Gdański Uniwersytet Medyczny

Postać plastra, w przeciwieństwie do tradycyjnie stosowanych maści i kremów, zapewnia stały kontakt leku ze skórą i zwiększa współpracę pacjenta, dzięki mniejszej częstotliwości podania [1]. Forma plastra to najczęściej warstwa polimerowa o właściwościach adhezyjnych z rozproszoną substancją leczniczą, której opracowanie wymaga doboru polimerowej matrycy i substancji pomocniczych [2]. Podjęto badania nad formulacją matrycy dla dwóch modelowych substancji czynnych: deksametazonu lub worykonazolu (1% i 5%). Przedstawiony etap badań miał na celu określenie właściwości formulacji wpływających na adhezyjność plastrów.

Matryce plastrów sporządzono z PDMS (polidimetylosiloksan, MG 7-9850, Dow Corning, USA) lub kopolimeru metakrylanu metylu i akrylanu etylu (Evonic, Niemcy) z plastyfikatorem (cytrynian trietylu). Mieszanki polimerów sporządzono w mieszalniku planetarnym (Thinky ARE-250, Japonia), a następnie formowano w cienkie filmy metodą wylewania (200 mm - 500 mm). Strukturę wewnętrzną plastrów oceniano metodą mikroskopii fluorescencyjnej i skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), natomiast mikroskopia sił atomowych (AFM) posłużyła do szczegółowej analizy powierzchni plastrów. Właściwości adhezyjne oceniano testem przyczepności i odrywania pod kątem 90° (analyzer tekstury TA.XT Plus, UK). Optymalizację parametrów technologicznych i formulacyjnych (skład, grubość, lepkość) w celu uzyskania najlepszej adhezyjności plastrów przeprowadzono metodą planowania eksperymentów (DoE), korzystając z planu kompletnego (2<sup>3</sup>) [3].

Badania wykazały niezgodność worykonazolu z PDMS. Plastry poliakrylanowe i PDMS z deksametazonem charakteryzowały się homogenną strukturą i zadowalającą adhezyjnością. Obrazowanie AFM wykazało znaczne zróżnicowanie morfologiczne plastrów, które korelowało z adhezyjnością formulacji. Analiza metodą DoE wskazała korzystny wpływ wysokiej zawartości plastyfikatora na przylepność plastra, z niewielkim wpływem jego grubości. Zaobserwowane zależności będą stanowiły podstawę do dalszego rozwoju postaci plastra przezskórnego.

Piśmiennictwo:

[1] Folzer E. et al. Pharmazie. 69, 27-31 (2014)

[2] Strasinger C. et al. J Control Release. 233, 1-9 (2016) [3] Mikolaszek et al. Acta Pharm. Hung. 88, 113 (2018)

kontakt: bmiko@gumed.edu.pl, maja.szczepanska123@gmail.com, edyta\_kozlowska@gumed.edu.pl, msznito@gumed.edu.pl

## Optymalizacja warunków derywatywacji polarnych związków z wykorzystaniem reakcji sililacji

Anna Klimowska , Bartosz Wielgomas

Gdański Uniwersytet Medyczny

Chromatografia gazowa jest powszechnie wykorzystywaną techniką w analizie toksykologicznej, jednak cechuje ją kilka ograniczeń. Jednym z najistotniejszych jest lotność oznaczanego związku. Ograniczenie to będzie szczególnie ważne w przypadku polarnych związków, posiadających w swojej strukturze aktywny atom wodoru i charakteryzujących się niewystarczającą lotnością. Analiza tych związków z wykorzystaniem chromatografii gazowej zazwyczaj będzie wymagała przeprowadzenia upochadniania (derywatywacji). W procesie tym dochodzi do podstawienia aktywnego atomu wodoru niepolarną grupą i utworzenia pochodnej o pożądanymi właściwościami. Jedną z najczęściej wykorzystywanych reakcji upochadniania jest sililacja za pomocą odczynników wprowadzających ugrupowanie trimetylosililowe (TMS). Reakcję najczęściej przeprowadza się w podwyższonej temperaturze i bezwodnym środowisku, które zapobiega hydrolizie uzyskanych pochodnych.

Optymalizację procesu sililacji przeprowadzono dla 30 związków o strukturze fenoli i kwasów karboksylowych – metabolitów ksenobiotyków wydalanych z moczem ludzkim. Jako odczynniki upochadniające użyto N-metylo-N-(trimetylosililo)trifluoroacetamid (MSTFA) oraz N,O-bis(trimetylosililo)trifluoroacetamid (BSTFA). Ocenie poddano warunki procesu derywatywacji – czas trwania oraz temperaturę, a także stężenie odczynnika derywatywującego. Podjęto również próbę przeprowadzenia derywatywacji w dozowniku chromatografu gazowego (derywatywacja on-line). Dodatkowo sprawdzono trwałość uzyskanych pochodnych w różnych warunkach przechowywania – temperatura pokojowa, +4 °C oraz -20 °C.

Dla większości analizowanych związków uzyskano zbliżone sygnały zarówno w przypadku BSTFA, jak i MSTFA. Wyjątek stanowił bisfenol S oraz oksybenzon, dla których korzystniejszym odczynnikiem okazał się MSTFA. Ograniczenie jednak stanowiło zbyt niskie stężenie MSTFA, co było szczególnie zauważalne w przypadku kwasów, których pochodne trimetylosililowe ulegały rozkładowi w trakcie przechowywania. Podjęta próba derywatywacji on-line dała obiecujące wyniki. Wykorzystanie jej pozwala na nawet 50-krotne zredukowanie zużycia odczynnika derywatywującego. Pochodne TMS są tworzone w dozowniku chromatografu gazowego, dzięki czemu eliminuje się problem hydrolizy w trakcie przechowywania próbek przed analizą chromatograficzną.

kontakt: anna.klimowska@gumed.edu.pl, bartosz.wielgomas@gumed.edu.pl

## Ocena narażenia oraz poszukiwanie predyktorów ekspozycji na insektycydy z grupy pyretroidów w populacji młodych mężczyzn

Wojciech Rodzaj<sup>1</sup>, Malwina Wileńska<sup>2</sup>, Emila Dziewirska<sup>3</sup>, Anna Klimowska<sup>1</sup>, Joanna Jurewicz<sup>3</sup>, Wojciech Hanke<sup>3</sup>, Bartosz Wielgomas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Katedra i Zakład Toksykologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> - Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup> - Zakład Epidemiologii Środowiskowej, Instytut Medycyny Pracy w Łodzi im. J. Nofera

Pyretroidy to grupa syntetycznych insektycydów wywodzących się z pyretryn, naturalnie występujących u niektórych roślin z rodzaju *Chrysanthemum*. Mechanizm ich działania polega na zaburzeniu przewodzenia impulsów nerwowych. Są szeroko stosowane w rolnictwie, leśnictwie, ogrodnictwie, a także w preparatach do użytku domowego oraz weterynaryjnych. Mimo iż mają ugruntowaną pozycję jako insektycydy, ich działanie nie jest selektywne - wiele badań sugeruje, że pyretroidy posiadają aktywność endokrynną. W efekcie, intensywnie badane jest m. in. ich działanie na męski układ rozrodczy. Celem niniejszego badania jest ocena ekspozycji na pyretroidy w populacji młodych mężczyzn w oparciu o dwa pomiary stężenia metabolitów syntetycznych pyretroidów w moczu oraz poszukiwanie predyktorów tego narażenia. Do badania zrekrutowano mężczyzn w wieku 18-29 lat (n=242), od których uzyskano dwie próbki moczu oraz przeprowadzono wywiad ankietowy dotyczący podstawowych danych demograficznych oraz nawyków żywieniowych i stylu życia. W moczu oznaczono stężenia następujących metabolitów pyretroidów: kwas 3-fenoksybenzoesowy (3-PBA), kwas cis-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenylo)-2,2-dimetylocyklopropano-1-karboksylowy (BIF), kwas cis/trans-3-(2,2-dichlorowinylo)-2,2-dimetylocyklopropano-1-karboksylowy (cis/trans-DCCA) oraz kwas cis-(2,2-dibromowinylo)-2,2-dimetylocyklopropano-1-karboksylowy (DBCA) z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas. 3-PBA oraz trans-DCCA były wykrywane najczęściej, odpowiednio w 65 i 79% próbek. Średnia geometryczna i mediana stężeń 3-PBA wyniosła odpowiednio 0,234 i 0,209 ng/ml, zaś trans-DCCA – odpowiednio 0,294 i 0,300 ng/ml. Średnia geometryczna stężeń i wykrywalność 3-PBA są zbliżone do obserwowanych wcześniej w populacjach na terenie Polski. Z kolei stężenie trans-DCCA były wyższe niż w dotychczasowych badaniach.

kontakt: wojciech.rodzaj@gumed.edu.pl, malwina.wilenska@gumed.edu.pl, emila.dziewirska@imp.lodz.pl, anna.klimowska@gumed.edu.pl, joanna.jurewicz@imp.lodz.pl, wojciech.hanke@imp.lodz.pl, bartosz.wielgomas@gumed.edu.pl

## **Czy warto stosować modele hierarchiczne do analizy danych omicznych ?**

Emilia Dagher-Wojtkowiak , Paweł Wiczling , Roman Kaliszan , Michał Markuszewski

Zakład Biofarmacji i Farmakokinetyki Katedry Biofarmacji i Farmakodynamiki GUMed

Współczesne techniki analityczne pozwalają na oznaczenie stężeń/sygnałów dla dużej liczby związków w próbkach biologicznych. Otrzymane w ten sposób dane są trudne do analizy i interpretacji m.in. ze względu na swój rozmiar (więcej zmiennych niż obserwacji) czy obecność wartości brakujących. Co więcej korelacja między mierzonymi wielkościami oraz wysoki odsetek wyników fałszywie pozytywnych sprawiają że powtarzalność badań na niezależnym zbiorze danych jest zazwyczaj niezadowalająca. Biorąc pod uwagę powyższe ograniczenia oraz dużą zmienność charakterystyczną dla próbek biologicznych, dane te powinny być analizowane z wykorzystaniem bardziej zaawansowanych metod obliczeniowych tj. modele hierarchiczne. To podejście w przeciwieństwie to metod typu „black box” posiada szereg zalet gdyż opiera się o model dedykowany konkretnym danym.

W pracy przedstawiono przykład zastosowania modelowania hierarchicznego dla danych dotyczących profilowania ekspresji mikro RNA w osoczu osób zdrowych i chorych na raka jajnika.

kontakt: emilia.dagher@gumed.edu.pl, wiczling@gumed.edu.pl, roman.kaliszan@gumed.edu.pl, markusz@gumed.edu.pl



# PREZENTACJE POSTEROWE

## **Optymalizacja metody Folina-Ciocalteu celem jej wykorzystania do określenia potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów *Petroselinum crispum***

Patrycja Bąk <sup>1</sup>, Magdalena Prokopowicz <sup>2</sup>, Małgorzata Grembecka <sup>1</sup>

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

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

W dzisiejszych czasach prowadzony tryb życia ułatwia powstawanie stresu oksydacyjnego, który w konsekwencji może przyczyniać się do rozwoju chorób cywilizacyjnych. Jednym ze sposobów zapobiegania tej sytuacji jest stosowanie produktów charakteryzujących się wysokim potencjałem antyoksydacyjnym. Definiuje się go jako zdolność do neutralizacji wolnych rodników. Metody służące do jego badania opierają się na mechanizmie HAT – przeniesienia wodoru lub SET – przeniesienia elektronu. Mechanizmem SET charakteryzuje się metoda z użyciem odczynnika Folina-Ciocalteu. Jest ona wykorzystywana do oznaczania potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów roślinnych, a także żywności, jednak jej wadą jest brak metody referencyjnej, z tego powodu wymaga optymalizacji przed przystąpieniem do pracy. Celem badań była optymalizacja metody oznaczania potencjału antyoksydacyjnego z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu i jej wykorzystania do oceny ekstraktów *Petroselinum crispum*. Na podstawie dokonanego przeglądu literatury ustalono szereg parametrów, w oparciu o które została przeprowadzona optymalizacja metody. Czynniki podlegającymi ocenie było: rozcieńczenie dodawanych odczynników, czas i temperatura inkubacji, czas pomiędzy dodawaniem poszczególnych odczynników, proporcje dodawanych odczynników oraz kolejność ich dodawania. Celem określenia najbardziej optymalnych parametrów metody uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Zoptymalizowana metoda Folina-Ciocalteu została wykorzystana do określenia potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów z rośliny *Petroselinum crispum*, uzyskanych różnymi metodami. Na podstawie wyników została wskazana najlepsza metoda do ekstrakcji związków polifenolowych.

kontakt: patrycja.bak@gumed.edu.pl, magdalena.prokopowicz@gumed.edu.pl, malgorzata.grembecka@gumed.edu.pl

## Zmiany profilu kwasów tłuszczowych u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek leczonych nerkozastępczo a metabolizm lipidów

Aleksandra Czumaj<sup>1</sup>, Adriana Mika<sup>2</sup>, Michał Chmielewski<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup> - Katedra Analizy Środowiska, Uniwersytet Gdański

<sup>3</sup> - Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

**Wstęp:** Kwasy tłuszczowe (KT) to nie tylko materiał zapasowy czy energetyczny, ale również związki wykazujące aktywność biologiczną mogące wpływać na metabolizm różnych tkanek. Znaczenie zmian profilu kwasów tłuszczowych i ich powiązanie z metabolizmem wydaje się szczególnie istotne w jednostkach chorobowych w których dobrze udokumentowano zaburzenia lipidowe. Jednym z takich schorzeń jest przewlekła choroba nerek (PChN). PChN to wieloobjawowy zespół chorobowy prowadzący do postępujących nieprawidłowości w budowie i funkcji tego narządu. W końcowym stadium pacjenci leczeni są nerkozastępczo. Jednak nadal niewiele wiadomo o zmianach w profilu KT na tym etapie choroby i ich konsekwencjach. Celem pracy było sprawdzenie jak zmiany profilu KT u pacjentów leczonych dializoterapią wpływają na metabolizm lipidów.

**Materiały i Metody:** W surowicy pacjentów leczonych nerkozastępczo oznaczono profil KT za pomocą metody GC-MS. Porównano go z grupą kontrolną u której nie stwierdzono żadnych nieprawidłowości w funkcjonowaniu nerek. Wytypowane kwasy tłuszczowe, których zawartość ulega zmianie u pacjentów leczonych nerkozastępczo, dodawane były do hodowli in vitro hepatocytów na okres 48h. Następnie z komórek izolowano RNA i oznaczono poziom ekspresji genów związanych z metabolizmem lipidów przy użyciu real-time PCR.

**Wyniki:** U pacjentów leczonych nerkozastępczo stwierdzono spadek zawartości kwasów wielonienasyconych n-6 (n-6 PUFA) i wzrost zawartości kwasów jednonienasyconych (MUFA) w surowicy. Suplementacja hepatocytów kwasami jednonienasyconymi powodowała wzrost ekspresji genów odpowiedzialnych za syntezę kwasów tłuszczowych i triacylogliceroli. Kwasy wielonienasycone n-6 wywierały efekt przeciwny.

**Wnioski:** Zmiany zawartości kwasów tłuszczowych w surowicy obserwowane u pacjentów poddawanych dializoterapii sprzyjają zwiększonej syntezie lipidów w wątrobie co po części może przyczyniać się do pogłębiania obserwowanych u pacjentów z PChN zmian w profilu lipidowym.

kontakt: aczumaj@gumed.edu.pl, adriana.mika@ug.edu.pl, michal.chmielewski@gumed.edu.pl

## Wykorzystanie polipirydylowego kompleksu rutenu (II) w testach fizjologicznych, biochemicznych i adaptacyjnych *Pectobacterium* spp.

Joanna Jońca<sup>1</sup>, Aneta Mazurowska<sup>1</sup>, Agnieszka Chylewska<sup>2</sup>, Katarzyna Turecka<sup>1</sup>, Małgorzata Waleron<sup>3</sup>, Krzysztof Waleron<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> - Katedra Chemii Bionieorganicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański

<sup>3</sup> - Zakład Ochrony i Biotechnologii Roślin, Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed

Bakterie z rodzaju *Pectobacterium* są patogenami wielu gatunków roślin jedno i dwuliściennych. Są czynnikiem etiologicznym czarnej nóżki oraz mokrej zgnilizny ziemniaka. Atakują ponadto wiele innych roślin uprawnych, np. banany, kukurydzę, buraki cukrowe, słoneczniki, kapustę i cebulę oraz rośliny kwiatowe z rodzin *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Begoniaceae* i *Cactaceae*. Szacuje się, że rocznie przyczyniają się do strat ekonomicznych sięgających od 20 do 100 milionów dolarów. Celem pracy było opracowanie metody pozwalającej na monitorowanie aktywności metabolicznej tej grupy bakterii w różnych warunkach środowiska z wykorzystaniem fluorescencyjnego sensora tlenowego [Ru(dpp(SO<sub>3</sub>Na)<sub>2</sub>)<sub>3</sub>]Cl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, którego fluorescencja ulega wygaszeniu w obecności tlenu cząsteczkowego.

W pierwszym etapie badań sprawdzono, czy sensor tlenowy wykazuje działanie toksyczne na bakterie. W tym celu monitorowano wzrost bakterii w pożywkach hodowlanych z różnym stężeniem sensora (od 0,24 mg/ml do 0,015 mg/ml). Dla stężeń sensora niższych od 0,06 mg/ml nie obserwowano zmian krzywej wzrostowej w porównaniu do kontroli. W związku z tym, do dalszych badań wykorzystano sensor w stężeniu 0,015 mg/ml. Następnie przeprowadzono optymalizację metody w celu jej uproszczenia. Badania wykazały, że test może być przeprowadzany równocześnie z pomiarem gęstości optycznej (OD) oraz metody wykorzystującej resazurynę. Szczepy bakteryjne testowane były pod względem przeżywalności w pożywkach o różnych stężeniach NaCl (4% i 7%), o różnych wartościach pH (5 oraz 10) oraz w warunkach ograniczonej dostępności wody. Prowadzone były również badania zdolności do wykorzystywania cukrów takich jak sacharoza, izomaltuloza, ksyloza i rafinoza jako jedyne źródło węgla. Badania wykazały, że metoda wykorzystująca sensory tlenowe oparte na fluoryzujących związkach kompleksowych rutenu jest tania i łatwa do przeprowadzenia, oraz jest niewrażliwa na zmiany pH i obecność reduktorów bądź utleniaczy. Ponadto, może być wykonywana jednocześnie z pomiarami OD, co pozwala na ocenę zarówno tempa wzrostu, jak i aktywności metabolicznej komórek bakteryjnych.

Finansowanie: NCN 2015/17/B/NZ9/01730

kontakt: jjonca@gumed.edu.pl, aneta.mazurowska@gumed.edu.pl, agnieszka.chylewska@ug.edu.pl, tureckak@gumed.edu.pl, malgorzata.waleron@biotech.ug.edu.pl, krzysztof.waleron@gumed.edu.pl

## **Wpływ hamowania receptora wapniowego (CaR) na stężenie glukozy w krwi szczura w obecności blokady kanałów wapniowych.**

Anna Szczoczarz , Aleksandra Marchwińska , Konrad Boblewski , Artur Lehmann , Apolonia Rybczyńska

Katedra i Zakład Patofizjologii Farmaceutycznej GUMed

Praca jest częścią cyklu badań, w których po raz pierwszy, w doświadczeniach in vivo, wykazano, że zmiany aktywności receptora wapniowego mogą wpływać na stężenie insuliny i glukozy w krwi szczurów. Przyjęta hipoteza zakłada, że w obserwowanych zjawiskach pośredniczy zmiana stężenia  $Ca^{2+}$  w komórkach  $\beta$  trzustki.

Celem przeprowadzonych doświadczeń było zbadanie wpływu antagonisty CaR, NPS 2143, na poziom glukozy i  $Ca^{2+}$  w krwi szczura, w obecności blokera kanału wapniowego - werapamilu. Doświadczenia prowadzono na samcach szczurów Wistar, głodzonych przez 14 godzin przed eksperymentem, znieczulanych inaktywną i.p. 100 mg/kg m.c. Zwierzęta podzielono na dwie grupy. Szczury z I grupy otrzymywały infuzję zawierającą werapamil w dawce 8  $\mu$ g/kg/min. Grupa II otrzymywała dodatkowo NPS2143 w dawce 2 mg/kg m.c.. Pomiarów stężenia glukozy i  $Ca^{2+}$  w krwi dokonywano w 0, 10, 40, 60, 120, 180 i 240 min. doświadczenia.

Poziomy glukozy przed podaniem werapamilu i NPS2143 wynosiły 86 mg/dL dla grupy I oraz 99 mg/dL dla grupy II. Podanie samego werapamilu spowodowało istotny przyrost stężenia glukozy do 93 mg/dL w 180 min i 102 mg/dL w 240 min. W grupie II nastąpił znamieny wzrost glukozy począwszy od 90 min. doświadczenia - 109 mg/dL i osiągnął wartość maksymalną w 240 min – 135 mg/dL. Podanie kalcyliotyka NPS 2143, w obecności werapamilu, spowodowało również znaczący wzrost stężenia  $Ca^{2+}$  we krwi z wartości początkowej - 1,34 mmol/L do wartości 1.44 mmol/L w 60 min. W grupie I stężenie  $Ca^{2+}$  utrzymywało się na stałym, niezmiennym poziomie.

W przeprowadzonych w tej pracy doświadczeniach wykazano, że w warunkach in vivo hamowanie aktywności receptora wapniowego (podanie NPS2143) dodatkowo nasila wzrost stężenia glukozy we krwi wywołany blokadą kanałów wapniowych (podanie werapamilu) u szczurów. Wyniki badań mogą mieć znaczenie w terapii pacjentów z cukrzycą, zespołem metabolicznym, nadciśnieniem.

kontakt: [szczota85@gumed.edu.pl](mailto:szczota85@gumed.edu.pl), [aleksandra.marchwinska@gumed.edu.pl](mailto:aleksandra.marchwinska@gumed.edu.pl), [kboblewski@gumed.edu.pl](mailto:kboblewski@gumed.edu.pl), [artur.lehmann@gumed.edu.pl](mailto:artur.lehmann@gumed.edu.pl), [apolonia.rybczynska@gumed.edu.pl](mailto:apolonia.rybczynska@gumed.edu.pl)

## **Analiza statystyczna w duchu „otwartej nauki” na przykładzie modelu hierarchicznego danych chromatograficznych**

Agnieszka Kamedulska , Paweł Wiczling

Zakład Biofarmacji i Farmakokinetyki, Wydział Farmaceutyczny z OML, Gdański Uniwersytet Medyczny

Analiza statystyczna danych często przeprowadzana jest w sposób uniemożliwiający jej odtworzenie przez osoby postronne, ze względu na brak dostępu do użytych danych i zastosowanego oprogramowania. Jest to szczególnie kłopotliwe w przypadku skomplikowanych i niestandardowych problemów. W myśl idei związanej z „otwartą nauką” od analizy statystycznej oczekuje się, żeby była ona przeprowadzona w sposób umożliwiający jej pełne odtworzenie i weryfikację przez osoby zainteresowane (np. recenzentów). Wymaga to udostępnienia zestawu danych oraz skryptu przedstawiającego krok po kroku wszystkie operacje wykonywane na danych.

W pracy przedstawiono taką „otwartą” analizę statystyczną na przykładzie modelu hierarchicznego w ujęciu bayesowskim. Model ten został użyty do opisu danych chromatograficznych obejmujących gradientowe czasy retencji dla 98 analitów otrzymanych w różnych pH fazy ruchomej. Jako platformę do analizy danych wykorzystano program R i pakiet Rstan. Są to narzędzia darmowe i ogólnodostępne, które umożliwiają w oparciu o załączenie użytych skryptów i danych pełną weryfikację wniosków oraz ich modyfikację przez wszystkie zainteresowane osoby. Projekt finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki (nr rej. 2015/18/E/ST4/00449)

kontakt: [agnieszka.kamedulska@gumed.edu.pl](mailto:agnieszka.kamedulska@gumed.edu.pl), [pawel.wiczling@gumed.edu.pl](mailto:pawel.wiczling@gumed.edu.pl)

## **Ocena aktywności biologicznej wyselekcjonowanej grupy leków psychotropowych z zastosowaniem kwantowo-chemicznych metod obliczeniowych ab initio oraz ilościowych zależności struktura-aktywność**

Piotr Kawczak, Tomasz Bączek

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Zestaw leków psychoaktywnych został przeanalizowany za pomocą metod ilościowych zależności struktura-aktywność (QSAR) – celem tego badania było wykazanie zarówno wspólnych, jak i różnicujących cech wyselekcjonowanych molekuł, zarówno fizykochemiczne, jak i farmakologiczne w oparciu o obliczenia kwantowo-chemiczne i wybrane dane dotyczące aktywności biologicznej. W trakcie badania zastosowano kwantowo-chemiczne metody obliczeniowe ab initio podczas procesu modelowania molekularnego oraz zaproponowano analizę głównych składowych (PCA), analizę czynnikową (FA) i regresję wieloraką (MLR) celem oceny chemometrycznej oraz wyprowadzenia równań modelowych – modelowe równania QSAR zostały stworzone w oparciu o wybrane istotne statystycznie deskryptory cząsteczkowe. Związek między strukturą, a aktywnością biologiczną pozwolił na klasyfikację w oparciu o właściwości psychoaktywne badanych cząsteczek chemicznych, natomiast zastosowane chemometryczne podejście umożliwiło pogrupowanie ze względu na cechy badanych struktur chemicznych odpowiedzialnych za ich aktywność farmakologiczną oraz posiadane właściwości fizykochemiczne [1].

Piśmiennictwo:

[1]. Kawczak, P.; Bober, L.; Bączek, T. Activity evaluation of some psychoactive drugs with the application of QSAR modeling methods. *Med. Chem. Res.* 2018; vol. 27, nr 10, s. 2279-2286.

kontakt: piotr.kawczak@gumed.edu.pl, tomasz.baczek@gumed.edu.pl

## Badanie właściwości mydriatycznych nowych związków imidazolinowych u szczura

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

<sup>1</sup> - Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki

<sup>2</sup> - Katedra Technologii Chemicznej Środków Leczniczych

Mimo wielu prowadzonych w ostatnich latach badań właściwości farmakologicznych pochodnych imidazolinowych, wiedza na temat receptorowych mechanizmów ich działania jest wciąż niepełna. Z uwagi na możliwość wiązania imidazolin z różnymi typami receptorów (np. alfa1/alfa2-adrenergiczne oraz ich podtypy, I1/I2-imidazolinowe), nie zawsze możliwe jest rozpoznanie, który z nich odpowiedzialny jest za określony efekt farmakologiczny [1-3]. Wiele związków z tej grupy wywołuje oprócz działania oczekiwanego (np. spadek ciśnienia krwi, skurcz/rozkurcz naczyń), także efekty niepożądane (np. senność, bradykardia). Dlatego wciąż poszukiwane są nowe pochodne o większej selektywności względem poszczególnych typów (podtypów) tych receptorów. Badania z wykorzystaniem modelu mydriazy według Kossa [4] dowodzą, że stymulacja receptorów typu alfa2 w mózgu wywołuje zależny od dawki efekt mydriatyczny u szczurów, a w efekcie tym nie są zaangażowane receptory imidazolinowe.

Celem pracy było zbadanie wpływu dwóch nowo syntezowanych związków imidazolinowych: AW30 i AW40 na szerokość źrenicy oka szczura.

Badane pochodne oraz związek modelowy – klonidynę podawano w skumulowanych dawkach szczurom szczepu Wistar w znieczuleniu uretanowym. Średnicę źrenicy oka mierzono za pomocą mikroskopu stereoskopowego. Do sporządzenia krzywych zależności dawka-efekt oraz obliczenia wartości ED<sub>50</sub> – logarytmu dawki (μg/kg) wywołującej połowę maksymalnego efektu mydriatycznego wykorzystano program GraphPadPrism (wersja 6.0). Określono również wartości maksymalnego efektu mydriatycznego, E<sub>max</sub>, (w mm).

Wartość E<sub>max</sub> dla związku AW30, uzyskana przy dawce 900 μg/kg, wyniosła 4,02±0,32 mm, zaś wartość ED<sub>50</sub> wyniosła 80,76±0,03 μg/kg (dla klonidyny E<sub>max</sub> = 4,01±0,2 mm, zaś ED<sub>50</sub> = 9,16 ± 0,05 μg/kg). Johimbina (1,5 mg/kg) znosiła efekty AW30, co świadczy o zaangażowaniu receptorów typu alfa2 w działaniu tego związku. Pochodna AW40 nie wywierała wpływu na szerokość źrenicy oka szczura.

Piśmiennictwo:

[1] B. Szabo, Pharmacol. Ther. 2002, 93, 1-35; [2] C. Dardonville, I. Rozas, Med. Res. Rev. 2004, 24, 639-661; [3] J. Raczak-Gutknecht et al., Dose-Response 2017, April-June, 1-9; [4] M.C. Koss, J. Pharmacol. Methods 1986, 15, 1–19

kontakt: jr gutknecht@gumed.edu.pl, teresafr@gumed.edu.pl, antonasa@gumed.edu.pl, roman.kaliszan@gumed.edu.pl, michal.markuszewski@gumed.edu.pl



## Synteza i aktywność przeciwnowotworowa pochodnych 2-(1,3,5-triazyn-2-ylometylio)-N-(imidazolidyn-2-ylideno)-5-metylobenzenosulfonamidu

Łukasz Tomorowicz <sup>1</sup>, Jarosław Sławiński <sup>1</sup>, Beata Żołnowska <sup>1</sup>, Anna Kawiak <sup>2</sup>, Marcin Cieślak <sup>3</sup>

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

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

<sup>3</sup> - Katedra Chemii Bioorganicznej, Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych, Polska Akademia Nauk

Przedstawiony projekt prezentuje syntezę serii pochodnych 2-(4-amino-1,3,5-triazyn-2-ylometylio)-N-(imidazolidyn-2-ylideno)benzenosulfonamidu będących strukturami hybrydowymi dwóch farmakoforowych ugrupowań tj. 2,4,6-tripodstawionej 1,3,5-triazyny [1] oraz 2-merkaptobenzenosulfonamidu (MBSA) [2-4] jako nowych niskocząsteczkowych związków o spodziewanej aktywności przeciwnowotworowej. Zamierzone związki uzyskano w wieloetapowej reakcji wychodząc z 3-metylio-1,1-dioksy-1,4,2-benzoditiazyny, przekształconej w N-podstawione 2-(etoksykarbonylometylio)benzenosulfonamidy, które następnie poddane cyklokondensacji z odpowiednimi chlorowodorkami biguanidów w środowisku MeONa/MeOH prowadziły do docelowych pochodnych 2-(4-amino-6-R-1,3,5-triazyn-2-ylometylio)-N-(imidazolidyn-2-ylideno)-4-chloro-5-metylobenzenosulfonamidu z dobrymi lub umiarkowanymi wydajnościami. Ich strukturę potwierdzono metodami spektroskopowymi (IR, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR), wysokorozdzielczą spektrometrią mas (HRMS) oraz metodą analizy elementarnej (C,H,N), a jednorodność metodą TLC na żelu krzemionkowym i/lub tlenku glinu.

Badania aktywności przeciwnowotworowej in vitro przeprowadzone z wykorzystaniem testu MTT wobec linii komórkowych: raka szyjki macicy (HeLa), okrężnicy (HCT-116) i nowotworu piersi (MCF-7) oraz nienowotworowej linii keratynocytów ludzkich HaCaT lub komórek ludzkiej linii śródbłonka żyły pępowinowej HUVEC potwierdziły oczekiwaną aktywność i selektywność wobec komórek nowotworowych. Najwyższą wrażliwość stwierdzono dla linii raka okrężnicy HCT-116 wobec związków 22, 34 i 62 (IC<sub>50</sub> = 6±0,1 μM). Aktywność cytotoksyczna pozostałych 20 spośród 57 testowanych związków mieściła się w przedziale IC<sub>50</sub>: 7-16 μM. Podkreślić należy również selektywność wybranych związków 62, 63, 64 i 80 (IC<sub>50</sub>: 6-11 μM), gdzie wskaźnik selektywności wyrażony jako stosunek IC<sub>50</sub> HaCaT / IC<sub>50</sub> HCT-116 zawierał się w przedziale 3,1 – 4,0 natomiast IC<sub>50</sub> HUVEC / IC<sub>50</sub> HCT-116 w przedziale 6,8 – 8,3.

Piśmiennictwo:

Liu B., Sum T., Zhou Z., Du L., Med. Chem. 2015; 5(3): 131-148. Sławiński J., Polish J. Chem. 2001;75:1309-1316  
Sławiński J., Polish J. Chem. 2002;76: 937-944. Sławiński J., Brzozowski Z., Eur. J. Med. Chem. 2006; 41: 1180-1189

kontakt: luktomora@gmail.com, jaroslaw@gumed.edu.pl, beata.zolnowska@gumed.edu.pl, anna.kawiak@biotech.ug.edu.pl, marcin@cbmm.lodz.pl

## LC-ESI-MS/MS study of dexmedetomidine determination in dogs plasma

Wiktoria Struck-Lewicka <sup>1</sup>, Charlotte Sandersen <sup>2</sup>, Vincent Marolf <sup>3</sup>, Karolina Długińska <sup>1</sup>, Małgorzata Waszczuk-Jankowska <sup>1</sup>, Małgorzata Patejko <sup>1</sup>, Michał Jan Markuszewski <sup>1</sup>, Danuta Siluk <sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Department of Biopharmaceutics and Pharmacodynamics, Medical University of Gdańsk

<sup>2</sup> - Department of Companion Animals and Horses, Faculty of Veterinary Medicine, Liège

<sup>3</sup> - Pôle des Animaux de Compagnie, Faculty of Veterinary Medicine, Liège

Dexmedetomidine is a highly selective  $\alpha_2$ -adrenergic agonist with analgesic and hypnotic actions when used intravenously. It has been also identified to prolong sensory blockade in humans. Despite the frequent use of dexmedetomidine in anesthesiology, in adult and pediatric patients, data on the concentration of this drug are limited in particular with regard to veterinary medicine.

The main goal of the present study was development of high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-QqQ/MS) method for quantitative dexmedetomidine determination in dogs plasma after two types of injections (perineural or intra venous).

Sample preparation method (0.25 ml of plasma) was performed with the use of solid phase extraction technique (SPE). For that purpose polymeric solid-phase extraction cartridges were applied (Bond Elut Plexa 30mg/1ml, Agilent Technologies Inc., USA). The chromatographic determination was carried out using Zorbax Eclipse Plus C18 (4.6×100mm; 3.5  $\mu$ m) column. The mobile phase was composed of 0.1% formic acid in water and 0.1% formic acid in methanol (20:80; v/v) in an isocratic mode and at a flow rate 0.5 ml/min. The total analysis time was 3 min. The mass spectrometry parameters were also optimized. The quantification was performed using multiple reaction monitoring mode in positive polarity at two values of collision energy (35 and 15 V) for both dexmedetomidine and detomidine chosen as internal standard. The developed method was validated in terms of selectivity, linearity, precision and accuracy. The linearity of the method ranged from 5 to 2500 pg/ml. Optimized and validated method was successfully applied to determination of dexmedetomidine in 200 dogs plasma samples.

The project was supported by the Young Scientists Medical University of Gdańsk grant (01-0368/08/530) funded by the Ministry of Science and Higher Education of Poland.

kontakt: wiktoria.struck@gumed.edu.pl, charlotte.sandersen@ulg.ac.be, vincent.marolf@uliege.be, karolina.dluginska@gumed.edu.pl, waska@gumed.edu.pl, malgorzata.patejko@gumed.edu.pl, markusz@gumed.edu.pl, danuta.siluk@gumed.edu.pl

## Charakterystyka biofizyczna nanocząstek srebra i ich oddziaływania z mutagenem akrydynowym ICR-191

Kinga Konkel <sup>1</sup>, Kamila Butowska <sup>1</sup>, Agnieszka Borowik <sup>1</sup>, Dariusz Wyrzykowski <sup>2</sup>, Jacek Piosik <sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

<sup>2</sup> - Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

W ostatnich latach, dzięki dynamicznemu rozwojowi, nanotechnologia zyskuje coraz to większe zainteresowanie świata nauki, a w szczególności medycyny. Do stosowanych w tej dziedzinie struktur należą fulereny, micelle, liposomy oraz dendrymery, a także nanocząstki metaliczne np. platyny, złota i srebra. Jednak jednymi z najczęściej używanych są nanocząstki srebra. Zastosowanie nanocząstek srebra do różnych celów terapeutycznych, takich jak diagnostyka chorób, terapie przeciwbakteryjne oraz przeciwnowotworowe, zawdzięczają swoim korzystnym właściwościom, m.in. szerokiej dostępności, stabilności, funkcjonalności oraz różnorodności mechanizmów działania, co odróżnia je od powszechnie znanego w farmakologii srebra jonowego. Obecnie nanocząstki srebra wykorzystywane są jako czynniki potęgujące efekt przeciwdrobnoustrojowy znanych leków o aktywności antybakteryjnej, a także jako optyczne biosensory stosowane w diagnostyce nowotworów głowy i szyi. Ciekawym zastosowaniem nanocząstek srebra zdaje się być ich użycie jako potencjalnych nośników leków przeciwnowotworowych. Metoda ta ułatwia transport, często niestabilnych związków, bezpośrednio do miejsca jego działania. Jednocześnie mogą one poprawiać parametry farmakokinetyczne samego leku przez np. wydłużanie jego czasu działania, a także zmniejszać jego toksyczność i wielkość koniecznej do podania dawki, w celu osiągnięcia efektu terapeutycznego. Pomimo szerokiej gamy możliwych zastosowań nanocząstek srebra, uprzednio niezbędne jest dogłębne poznanie mechanizmów ich oddziaływań z lekami oraz zrozumienie, w jaki sposób mogą one modulować ich aktywność. Prezentowana praca przedstawia wyniki badań biofizycznych (spektrofotometria UV-Vis, spektrofluorymetria, DLS, ITC, testy mutagenności) nanocząstek srebra i ich oddziaływań z modelowym mutagenem akrydynowym ICR-191.

Piśmiennictwo:

K. I. Wolska, K. Markowska, M. Wypij, P. Golińska, H. Dahm. Nanocząstki srebra, synteza i biologiczna aktywność, Kosmos, 2017, 66;(314), 125-138, J. Żwawiak, K. Sowa-Kasprzak, Nanocząstki w roli nośników substancji aktywnych, Farmacja Współczesna, 2014, 7:1-8.

kontakt: kingakonkel5@gmail.com, kamila.butowska@gmail.com, agnieszka.borowik@phdstud.ug.edu.pl, dariusz.wyrzykowski@ug.edu.pl, jacek.piosik@biotech.ug.edu.pl

## Ocena aktywności przeciwbólowej ligandów receptora I2-imidazolinowego

Damian Szczesny <sup>1</sup>, Katarzyna Czapiewska <sup>2</sup>, Aleksandra Radwańska <sup>2</sup>, Anita Kornicka <sup>4</sup>, Franciszek Sączewski <sup>4</sup>, Antoni Nasal <sup>2</sup>

<sup>1</sup> - 1. Trójmiejska Akademicka Zwierzętarnia Doświadczalna - Centrum Badawczo-Usługowe, ul. Dębinki 1, 80-211 Gdańsk 2. Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, al. gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk; Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> - Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Gdański Uniwersytet Medyczny, al. gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk

<sup>4</sup> - Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Gdański Uniwersytet Medyczny, al. gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk;

Receptory imidazolinowe stanowią klasę nieadrenergicznych miejsc wiążących ligandy, w których strukturze znajduje się pierścień imidazolinowy. Badania rozpoczęte przez Pascala Bousquet na przełomie lat 70 i 80 doprowadziły do wyodrębnienia trzech podtypów receptorów, oznaczonych jako I1, I2 oraz I3. Początkowe doniesienia traktowały przede wszystkim o udziale receptorów imidazolinowych typu I1 w regulacji ciśnienia tętniczego krwi. Z czasem zaczęto też zwracać uwagę na rolę pozostałych podtypów tych receptorów, m.in. w funkcjonowaniu ośrodkowego układu nerwowego, rozwoju chorób neurodegeneracyjnych oraz przewodzeniu i modulacji bólu [1].

Celem prezentowanych badań była ocena aktywności bólowej nowych pochodnych marsanidyny zsyntetyzowanych przez zespół śp. prof. Franciszka Sączewskiego. Doświadczenia przeprowadzone zostały na myszach szczepu BALB/c. Do oceny aktywności przeciwbólowej wykorzystany został test przeciągania, modelujący ból trzewny po podaniu substancji drażniącej. Ocenie poddano trzy związki: agmatynę, BU 224 oraz pochodną AW-40 w nieobecności lub po podaniu wybranego antagonisty receptorowego (johimbina, efaroksan, idazoksan).

Analiza częściowych wyników pozwala stwierdzić, że zarówno agmatyna, jak i pochodna AW-40 zmniejszają odpowiedź badanych zwierząt na bodziec bólowy a efekt ten może zostać zahamowany przez podanie antagonisty receptorowego.

Piśmiennictwo:

[1] J.-X. Li, Y. Zhang, and J. C. Winter, "Morphine-induced antinociception in the rat: Supra-additive interactions with imidazoline I 2 receptor ligands," *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 669, no. 1–3, pp. 59–65, 2011.

kontakt: damian.szczesny@gumed.edu.pl, czakata9@gumed.edu.pl, alex@gumed.edu.pl, anita.kornicka@gumed.edu.pl, franciszek.saczewski@gumed.edu.pl, antoni.nasal@gumed.edu.pl

## **Efekt synergistyczny inaktywacji fotodynamicznej połączonej z antybiotykoterapią- skuteczna metoda uwrażliwiania karbapenemoopornych szczepów *Acinetobacter baumannii***

Agata Woźniak , Aleksandra Rapacka- Zdończyk , Mariusz Grinholc

Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed, Uniwersytet Gdański

Wielolekooporne szczepy *Acinetobacter baumannii* stanowią obecnie jedno z największych zagrożeń dla życia i zdrowia ludzkiego, a w szczególności izolaty odporne na antybiotyki beta-laktamowe z grupy karbapenemów (meropenem, imipenem). Niepokojącym faktem jest to, iż częstotliwość występowania karbapenemoopornych szczepów *A. baumannii* jest alarmująco wysoka i wynosi ona 70% w Chile, 92% w Korei, a nawet dochodzi do 100% w Portugalii. Istniejąca oporność na karbapenemy również przyczynia się do oporności drobnoustrojów na inne chemioterapeutyki beta - laktamowe. Wciąż narastająca lekooporność mikroorganizmów na karbapenemy, fluorochinolony oraz inne grupy antybiotyków zmusza klinicystów, mikrobiologów i badaczy do poszukiwania nowych alternatywnych metod zwalczania opornych drobnoustrojów. Niespecyficznym działającym a zarazem skutecznym narzędziem uwrażliwiania czy też eradykacji wielolekoopornych drobnoustrojów Gram – dodatnich oraz Gram – ujemnych jest inaktywacja fotodynamiczna (aPDI, ang. Photodynamic inactivation). Metoda ta opiera się na wykorzystaniu światła widzialnego, nietoksycznych związków fotouczulających oraz tlenu. Z kolei inaktywacja fotodynamiczna wykorzystująca światło niebieskie (aBL, ang. Antimicrobial blue light inactivation) oprócz tlenu angażuje do swego działania obecne w komórkach bakteryjnych porfiryny, które pełnią rolę fotouczulacza. Przedmiotem badań były dwa izolaty kliniczne *A. baumannii* odporne na karbapenemy, które zostały poddane działaniu sub - letalnych dawek aPDI/ aBL oraz antybiotyków reprezentujących wszystkie mechanizmy działania. Oszacowanie wpływu aplikowanych dawek światła na zmiany wrażliwości na antybiotyki przeprowadzono zgodnie z zastosowaniem rekomendowanych metod do testowania synergii (metoda dyfuzyjno - krążkowa, e - testy, test szachownicy, efekt post - antybiotykowy). Efekt synergistyczny powstały na skutek zastosowania światła niebieskiego (aBL) wykazano w obecności antybiotyków: doksycyliny, imipenemu oraz ampicyliny – sulbaktamu. Ponadto, użycie światła zielonego (aPDI) wykazało największy efekt synergistyczny dla antybiotyków: doksycyliny oraz kolistyny. W celu zbadania mechanizmu powstałego efektu zastosowano do badań 3'-(p-aminofenylo) fluoresceinę (aPF), która służy do detekcji reaktywnych form tlenu (RFT). Przeprowadzona analiza z użyciem aPF wykazała, iż zwiększona obecność RFT była zaobserwowana gdy antybiotyki takie jak doksycylina, kolistyna były poddane działaniu aBL/ aPDI w porównaniu do prób traktowanych jedynie światłem (aPDI/ aBL). Zaobserwowana obecność zwiększonego stężenia RFT może tłumaczyć efekt synergistyczny pomiędzy zastosowanymi antybiotykami, a inaktywacją fotodynamiczną.

kontakt: agata.wozniak@phdstud.ug.edu.pl, a.rapacka-zdonczyk@biotech.ug.edu.pl, mariusz.grinholc@biotech.ug.edu.pl

## Techniki mikroekstrakcji jako nowoczesne metody przygotowania próbki do analizy leków oraz związków endogennych z różnych matryc biologicznych

Anna Roszkowska<sup>1</sup>, Ilona Klejbor<sup>2</sup>, Natalia Miękus<sup>3</sup>, Katarzyna Macur<sup>4</sup>, Paulina Czaplewska<sup>4</sup>, Lucyna Konieczna<sup>1</sup>, Wiesław Cubala<sup>5</sup>, Janusz Moryś<sup>2</sup>, Tomasz Bączek<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> - Zakład Anatomii i Neurobiologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup> - 1. Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny 2. Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, Uniwersytet Gdański

<sup>4</sup> - Zespół Laboratoriów Specjalistycznych Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Uniwersytet Gdański

<sup>5</sup> - Klinika Psychiatrii Dorosłych, Gdański Uniwersytet Medyczny

Nowoczesne techniki ekstrakcji związków egzogennych (np. leków) oraz endogennych (np. białek) dążą do skrócenia czasu analizy, ograniczenia zużycia toksycznych związków organicznych i zmniejszenia ilości materiału do badań. Jedną z nowoczesnych technik ekstrakcji białek jest mikroekstrakcja w barocyklerze (ang. pressure cycling technology, PCT). Główną zaletą PCT jest znaczne skrócenie czasu niezbędnego do proteolitycznego trawienia białek. Do technik mikroekstrakcji małowcząsteczkowych związków endogennych i leków należą m.in. mikroekstrakcja do fazy stałej (ang. solid-phase microextraction, SPME) oraz dyspersyjna mikroekstrakcja ciecz-ciecz (ang. dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME). Technika SPME znajduje szerokie zastosowanie w analizach farmaceutycznych i metabolomicznych z różnych matryc biologicznych [1]. W SPME anality adsorbowane są na biokompatybilnym włóknie pokrytym odpowiednim sorbentem, a następnie wyłukiwane są przy użyciu mieszaniny rozpuszczalników bądź też pod wpływem wysokiej temperatury. Technika DLLME polega na wstrzyknięciu odpowiedniej mieszaniny dwóch rozpuszczalników: ekstrahenta i dyspergenta do próbki biologicznej zawierającej badane związki endogenne. Rozpuszczalnik ekstrahujący ulega dyspersji do postaci drobnych kropelek wzbogaconych w anality, osadzających się na dnie próbki [2]. Dodatkową zaletą każdej z wymienionych techniki jest możliwość łączenia z metodami instrumentalnymi. Celem badań było opracowanie metody mikroekstrakcji białek oraz leków z różnych matryc biologicznych w połączeniu z chromatografią cieczową sprzężoną ze spektrometrem mas (ang. liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry, LC-MS/MS). Zoptymalizowana metoda PCT umożliwia szybką ekstrakcję i identyfikację szeregu białek obecnych w mózgu szczura. Natomiast zoptymalizowana technika SPME i DLLME pozwala na oznaczenie nawet śladowych ilości leków w różnych matrycach biologicznych, w tym w ślinie.

### Piśmiennictwo:

1. A. Roszkowska et al, Equilibrium ex vivo calibration of homogenized tissue for in vivo SPME quantitation of doxorubicin in lung tissue. *Talanta* 2018, 183, 304–310.
2. L. Konieczna et al, Hydrophilic interaction chromatography combined with dispersive liquid-liquid microextraction as a preconcentration tool for the simultaneous determination of the panel of underivatized neurotransmitters in human urine samples. *J. Chromatogr. A* 2016, 1431, 111–121.

kontakt: anna.roszkowska@gumed.edu.pl, klejbor@gumed.edu.pl, mieksun@gumed.edu.pl, kasiamacur@gumed.edu.pl, pczaplewska@gmail.com, lkon@gumed.edu.pl, wieslaw.cubala@gumed.edu.pl, janusz.morys@gumed.edu.pl, tbaczek@gumed.edu.pl

## **Electrophoretic quantification of rapamycin in serum samples with using off-line and on-line preconcentration techniques**

Piotr Kowalski <sup>1</sup>, Ilona Olędzka <sup>1</sup>, Alina Plenis <sup>1</sup>, Natalia Miękus <sup>2</sup>, Tomasz Bączek <sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej GUMed

<sup>2</sup> - 1. Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej GUMed 2. Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka UG

Relative interest of rapamycin has increased since it has been shown to inhibit successful re-stenosis of veins after being used as an antiproliferative drug to stents placed within the blood vessels of the patients. The creation of stents that enable the secretion of drugs is a huge advance in cardiology and is a hope for patients with coronary artery disease.

To enrich trace amounts of rapamycin in serum samples we adopted an off-line sample preconcentration procedure based on the SPME C18-sorbent (after simple deproteinization with acetonitrile and zinc sulphate) and a unique procedure of combined sweeping and field amplified sample injection (FASI) technique called as sequential stacking featuring sweeping (on-line method). Our tests were based on the SPME methodology have been described in the literature [1]. Moreover, the electrokinetic injection with pressure filling (a simultaneous electrokinetic and hydrodynamic injection, SEHI) was used to obtain a signal amplification effect. The samples were determined by micellar electrokinetic capillary chromatography (MEKC) using a 10 mM borax and 40 mM SDS as a separation buffer and with DAD at 284 nm. It allowed to obtain a signal amplification for rapamycin at the level 6.6 and to an electrokinetic injection of over 30 times - in relation to the traditional hydrodynamic injection. In conclusion, due to the application of the signal amplification method for rapamycin samples, subjected to the SPME procedure, a detection limit of 33 ng/mL was obtained in the developed method, while the limit of quantification of 100 ng/mL was estimated. The developed MEKC method supported by elaborated techniques based on the SPME, FASI-sweeping method for the determination of rapamycin in serum samples could be useful tool in biomedical and clinical practice.

### Reference

[1] Olędzka, I., Kowalski, P., Plenis, A, Miękus, N., Grabow, N., Eickner, T., Bączek, T., Electrophoresis, 2018, (DOI) - 10.1002/elps.201800081

kontakt: piotr.kowalski@gumed.edu.pl, ilona@gumed.edu.pl, aplenis@gumed.edu.pl, miekusn@gmail.com, tbaczek@gumed.edu.pl

## Nadprodukcja i oczyszczanie rekombinantowych cholinoesteraz.

Jacek Jasiecki <sup>1</sup>, Piotr Skowron <sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> - Katedra Biotechnologii Molekularnej, Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański

Butyrylocholinoesteraza (BCHE; E.C. 3.1.1.8), hydrolaza serynowa obecna w prawie wszystkich tkankach ssaków, stanowi pierwszą linię obrony człowieka i zwierząt przed związkami toksycznymi pochodzenia naturalnego (np. alkaloidy roślinne) lub wytworzonymi przez człowieka (np. pestycydy fosforoorganiczne, broń chemiczna). W 2010 roku BCHE została dopuszczona do użytku przez FDA jako terapeutyk w przypadku zatrucia powyższymi substancjami. BCHE wychytując związki toksyczne obecne w osoczu albo je hydrolizuje albo trwale wiąże zapobiegając dotarciu ich do acetylocholinoesterazy obecnej w obwodowych połączeniach nerwowych lub centralnym układzie nerwowym. Doświadczenia na modelach zwierzęcych, którym podano dożylnie BCHE, wykazały, że BCHE stanowi pełną ochronę na dawkę 5 x LD50 czynnika bojowego. 1 mol ludzkiej BCHE wiąże 1 mol związków fosforoorganicznych, a dawka 200 mg tego białka jest w stanie zapobiec efektom zatrucia człowieka o wadze 70 kg somanem w ilości 2 x LD50. W ramach naszego projektu opracowaliśmy technologię produkcji rekombinantowej BCHE w mikroorganizmach uzyskując dużą wydajność nadprodukcji i opracowaliśmy metodę oczyszczania tego enzymu. Produkcja enzymu w mikroorganizmach jest znacznie tańsza niż pozyskiwanie ich z osocza zwierząt lub ludzi, powtarzalna technologicznie, nie stwarza zagrożenia w postaci możliwych infekcji (bakterie, wirusy, priony), daje znacznie czystszy produkt (homogenne białko) oraz nie niesie problemów etycznych. Ponadto technologia ta umożliwia uzyskanie dowolnych ilości enzymu w krótkim czasie.

kontakt: [jjasiecki@gumed.edu.pl](mailto:jjasiecki@gumed.edu.pl), [piotr.skowron@ug.edu.pl](mailto:piotr.skowron@ug.edu.pl)



## Nowe hydrazonoamidowe pochodne pikolinonitrylu o aktywności przeciwgruźliczej

Malwina Krause <sup>1</sup>, Henryk Foks <sup>1</sup>, Ewa Augustynowicz-Kopeć <sup>2</sup>, Agnieszka Napiórkowska <sup>2</sup>, Katarzyna Gobis <sup>1</sup>

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

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

Antybiotykooporność stanowi poważny problem dotyczący nasze społeczeństwo. Obserwuje się wzrost szczepów opornych wśród bakterii takich jak *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, a także *Mycobacterium tuberculosis*[1, 2]. Szczególnie niebezpiecznym przypadkiem jest wielolekooporność prątków gruźlicy wobec leków pierwszego oraz drugiego rzutu. Pojawienie się i narastanie lekooporności wielokrotnie uniemożliwia leczenie i w efekcie prowadzi do śmierci. W obliczu tych faktów zasadne jest poszukiwanie nowych, skuteczniejszych i bezpieczniejszych leków przeciwgruźliczych. Celem przeprowadzonych badań było zaprojektowanie, synteza oraz ocena aktywności przeciwprątkowej pochodnych 4-chloropikolinonitrylu o strukturze hydrazonoamidowej. Przeprowadzone przez nasz zespół badania wykazały, iż cykloalkiloaminoamidy pochodne pikolinonitrylu wykazują bardzo dobrą aktywność przeciwgruźliczą (MIC 0,4-25 µg/ml). To skłoniło nas do otrzymania pochodnych hydrazonamidowych w celu sprawdzenia, czy obecność grupy tioamidowej jest istotna dla występowania aktywności tuberkulostatycznej.

W pierwszym etapie syntez 4-chloropikolinonitryl podstawiono w pozycji 4 tiofenolem, fenolem, pirolidyną, morfoliną oraz fenylopiperazyną. Następnie 4-podstawiony pikolinonitryl przeprowadzono w obecności metanolu i katalitycznej ilości DBU w odpowiednie metyloiminoestry. Kolejnym etapem syntez było przeprowadzenie metyloiminoestry w odpowiednie amidrazony w obecności hydrazyny. W celu otrzymania produktów końcowych otrzymane amidrazony poddano reakcji z heterocyklicznymi metyloketonami w obecności kwasu octowego. W wyniku przeprowadzonych syntez otrzymano 16 nowych związków dotychczas nieopisanych w literaturze.

Struktury wszystkich związków zostały potwierdzone przy pomocy spektroskopii w podczerwieni, magnetycznego rezonansu jądrowego oraz analizy elementarnej. Otrzymane związki zostały przebadane pod kątem aktywności tuberkulostatycznej wobec 2 szczepów *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv oraz Spec. 210.

Piśmiennictwo:

[1] Miotto, P, Zhang, Y, Cirillo, DM, Yam, WC. *Respirology*. 2018;1–16. <https://doi.org/10.1111/resp.13393>

[2] Khameneh, B, Diab, R, Ghazvini, K, Fazly Bazzaz, BS. *Microbial Pathogenesis*. 2016 (95), 32-42.

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.02.009>

kontakt: malwinakrause@gumed.edu.pl, hfoks@gumed.edu.pl, e.kopec@igichp.edu.pl, a.napiorkowska@igichp.edu.pl, kgobis@gumed.edu.pl

## Nowe pochodne 6-chloropirazyny o potencjalnej aktywności przeciwdrobnoustrojowej: synteza, charakterystyka i ocena aktywności

Dagmara Ziembicka<sup>1</sup>, Małgorzata Szczesio<sup>2</sup>, Izabela Korona-Główniak<sup>3</sup>, Katarzyna Gobis<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> - Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej, Politechnika Łódzka

<sup>3</sup> - Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Gruźlica to jedna z pierwszych chorób zakaźnych o zidentyfikowanym patogenie bakteryjnym, którym są prątki *M. Tuberculosis* [1]. Pojawienie się szczepów opornych oraz konieczność stosowania w terapii równocześnie aż 4 leków przeciwprątkowych stworzyło pilne zapotrzebowanie na skuteczniejsze i jednocześnie bezpieczniejsze leki przeciwgruźlicze. Intensyfikacja poszukiwań nowych leków jest jednym z filarów programu utworzonego przez Światową Organizację Zdrowia „The End TB Strategy”, mającego na celu położenie kresu globalnej epidemii gruźlicy do 2035 roku [2]. Kierunek badań, a więc synteza nowych pochodnych 6-chloropirazyny, aktywnych wobec bakteryjnych szczepów patogennych, uwarunkowana była dotychczasowymi badaniami prowadzonymi w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej, wykazującymi szereg substancji o aktywności przeciwbakteryjnej, w tym również przeciwgruźliczej, w grupie dipodstawionych pochodnych pirazyny [3,4]. Badania nad tą grupą związków zdeterminowane były obecnością pierścienia pirazyny zawartego w strukturze izoniazydu – jednego z najskuteczniejszych, obecnie stosowanych leków przeciwgruźliczych.

Pirazononitryl podstawiony w położeniu C-6 atomem chloru był substratem wyjściowym do syntezy serii 20 nowych pochodnych tiosemikarbazydowych. Metyloiminoester, po przekształceniu z nitrylu, poddany reakcji kondensacji z odpowiednią cykloalkilamino-1-karbotiohydrazyną utworzył pochodne cykloalkilamino-1-karbotiohydrazynowe. W kolejnym etapie syntez atom chloru w pozycji 6 pierścienia pirazynowego podstawiono piperolidyną, morfoliną, piperidyną oraz ugrupowaniem fenoksylovym. Dla tych związków kondensacje z odpowiednią cykloalkilamino-1-karbotiohydrazyną przeprowadzone zostały bezpośrednio z nitryli.

Struktury wszystkich związków zostały potwierdzone przy pomocy spektroskopii w podczerwieni oraz protonowego rezonansu magnetycznego. Otrzymane pochodne zostały przebadane pod kątem aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Związki wykazały bardzo dobrą aktywność wobec niektórych szczepów bakterii gram dodatnich oraz szczepów grzybiczych, z wartością MIC na poziomie zbliżonym, odpowiednio do wankomycyny i cyprofloksycyny oraz flukonazolu, będących lekami referencyjnymi.

Piśmiennictwo:

[1] M. A. Forrellad, L. I. Klepp, A. Gioffré, J. S. y García, H. R. Morbidoni, M. de la Paz Santangelo, A. A. Cataldi, F. Bigi, Virulence factors of the Mycobacterium tuberculosis complex, Virulence 4, 2013, s. 3-66

[2] [http://www.who.int/tb/strategy/End\\_TB\\_Strategy.pdf?ua=1](http://www.who.int/tb/strategy/End_TB_Strategy.pdf?ua=1)

[3] K. Gobis, H. Foks, M. Krause, E. Augustynowicz-Kopec et al., 8th Polish-German Symposium on Pharmaceutical Sciences, Kiel, 29th-30th May 2015, abs. PC-02

[4] M. Krause, K. Gobis, H. Foks et al., Frontiers in Medicinal Chemistry, Bonn, March 13-16, 2016, abs. s. 99

kontakt: dagmara.ziembicka@gumed.edu.pl, malgorzata.szczesio@p.lodz.pl, izabela.korona-glowniak@umlub.pl, katarzyna.gobis@gumed.edu.pl

## Ocena aktywności przeciwbakteryjnej nowych pochodnych 4-chloro-2-merkaptobenzenosulfonamidu

Anita Bułakowska <sup>1</sup>, Jarosław Sławiński <sup>1</sup>, Rafał Hałasa <sup>2</sup>

<sup>1</sup> - Katedra i Zakład Chemii Organicznej GUMed

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

Arylo/heteroarylosulfonamidy stanowią ważną klasę związków o różnych kierunkach aktywności biologicznej. Liczba doniesień literaturowych o aktywności przeciwbakteryjnej sulfonamidów systematycznie wzrasta, przynosząc szereg interesujących danych o zróżnicowanych strukturach i mechanizmach ich działania farmakologicznego. Prezentowane badania włączają się w nurt poszukiwań nowych cząsteczek hybrydowych tworzonych w wyniku kombinacji różnych farmakoforów o interesujących profilach biologicznych. Szczególną uwagę skierowano na ich aktywność przeciwbakteryjną. Nowe związki zaprojektowano i otrzymano w oparciu o budowę farmakoforowego ugrupowania 4-chlorobenzenosulfonamidu funkcjonalizowanego w pozycji 2 oraz strukturę chalkonu. Uwzględniając wcześniejsze wyniki badań własnych oraz dostępne dane literaturowe podjęto syntezę pochodnych N-[[4-chloro-5-metylo-2-(fenylo)metyl]fenylosulfonylo]cynamamidu 21a-g. W kolejnych etapach, kierując się obiecującymi wynikami prac badawczych dotyczących związków, które posiadają w swojej strukturze farmakoforowe ugrupowania, takie jak: 1-naftylometyloliolowe oraz 6-chloropiperonyliolowe, zaprojektowano i zsyntetyzowano nowe pochodne N-(4-chloro-2-arylometylo-5-metylofenylosulfonylo)cynamamidu 22a-g – 23a-h.

Spodziewaną aktywność przeciwbakteryjną 22 otrzymanych związków potwierdzono w testach *in vitro* wobec bakterii Gram-dodatnich: *S. ureus*, *S. epimermidis*, *E. hirae*, *E. faecalis* i *B. subtilis*. Wartości MIC dla większości testowanych pochodnych zawierały się w zakresie od 1 do 4 µg/ml. W kolejnym etapie zbadano również aktywność mikrobiologiczną wybranych związków względem szczepów klinicznych MRSA, CNS oraz MRSE.

Piśmiennictwo:

Sławiński J., Żołnowska B., Pirska D., Kędzia A., Kwapisz E., J. Enz. Inhib. Med. Chem., (2013) 28, 41-51. Sahu P.K., Iyers P.S., Gaikwad M.B., Talreja S.C., Pardesi K.R., Chopade B. A., Int. J. Microbiol. (2012) 2012, 490647-490656.

kontakt: anita.bulakowska@gumed.edu.pl, jaroslaw.slawinski@gumed.edu.pl, rafal.halasa@gumed.edu.pl

## Monitorowanie poziomu epirubicyny w wybranych płynach ustrojowych techniką LC-FL

Natalia Treder<sup>1</sup>, Alina Plenis<sup>1</sup>, Olga Maliszewska<sup>1</sup>, Piotr Kowalski<sup>1</sup>, Ilona Olędzka<sup>1</sup>, Natalia Miękus<sup>2</sup>, Ewa Bień<sup>3</sup>, Małgorzata Krawczyk<sup>3</sup>, Elżbieta Adamkiewicz-Drożyńska<sup>3</sup>, Tomasz Bączek<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> - 1. Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, 2. Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, Uniwersytet Gdański

<sup>3</sup> - Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

**Wstęp.** Epirubicyna jest antybiotykiem antracyklinowym szeroko stosowanym w leczeniu nowotworów. Lek ten można stosować w mono- lub wieloterapii, przy czym jej zastosowanie jest ograniczone ze względu na ryzyko wielu działań niepożądanych. Koniecznym jest zatem monitorowanie poziomów stężenia tego leku w próbkach biologicznych [1,2].

Celem pracy było opracowanie prostej i dokładnej metody oznaczania epirubicyny w ludzkim osoczu i moczu techniką chromatografii cieczowej (LC), która będzie mogła być zastosowana w badaniach klinicznych oraz w terapii monitorowania leku.

**Metodyka.** Ekstrakcję epirubicyny i daunorubicyny (I.S.) wykonano w układzie ciecz-ciecz (LLE) oraz ciecz-ciało stałe (SPE). Analizę chromatograficzną przeprowadzono przy użyciu kolumny Synergi Hydro-RP, a związki monitorowano za pomocą detektora fluorescencyjnego (FL). Opracowana metoda została poddana procedurze walidacji zgodnie z wymaganiami GLP.

**Wyniki i dyskusja.** Na podstawie przeprowadzonych badań opracowano szybką i czułą metodykę oznaczania epirubicyny w ludzkim osoczu i moczu techniką LC-FL. Wśród przetestowanych procedur ekstrakcji najbardziej wydajna okazała się SPE z użyciem kolumnienek Supel Select HLB. W trakcie optymalizacji warunków analizy chromatograficznej najbardziej efektywne rozdzielanie uzyskano w warunkach opisanych powyżej. Metoda została poddana procesowi walidacji. Uzyskane dane wykazały liniowość metody w zakresie stężeń 1-10000 ng/ml dla próbek moczu oraz 1-1500 ng/ml dla próbek osocza. W obu materiałach biologicznych, granica wykrywalności wynosiła 0,5 ng/ml, zaś oznaczalności – 1 ng/ml. Wydajność ekstrakcji epirubicyny z moczu osiągnięto na poziomie 98,86%, natomiast w osoczu 93,46%. Opracowana metoda oznaczania epirubicyny techniką LC-FL została zastosowana w praktyce klinicznej do wyznaczenia profilu leku w próbkach moczu i osocza pacjenta poddanego chemioterapii. **Wnioski.** Opracowana metoda oznaczania epirubicyny w osoczu i moczu ludzkim techniką FL jest prosta, czuła, dokładna i precyzyjna. Jej użyteczność została potwierdzona w praktyce klinicznej do monitorowania epirubicyny u pacjenta leczonego onkologicznie. Powyższa metodologia może być użytecznym narzędziem w monitorowaniu leku oraz do badań farmakokinetycznych i biomedycznych.

### Piśmiennictwo

[1] Plenis, A., Frolow, A., Rekowska, N., Olędzka, I., Kowalski, P., Bień, E., Krawczyk, A.M., Adamkiewicz-Drożyńska, E., Bączek, T. *Chromatographia* 2016, 79, 861-873. [2] Maliszewska, O., Plenis, A., Olędzka, I., Kowalski, P., Miękus, N., Bień, E., Krawczyk, M.A., Adamkiewicz-Drożyńska, E., Bączek, T., *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2018, 158, 376-385.

kontakt: dulce6@gumed.edu.pl, aplenis@gumed.edu.pl, olga.maliszewska@gumed.edu.pl, piotr.kowalski@gumed.edu.pl, ilona@gumed.edu.pl, miekusn@gmail.com, ewa.bien@gumed.edu.pl, mkrawczyk@gumed.edu.pl, elzbieta.adamkiewicz-drozynska@gumed.edu.pl, tbaczek@gumed.edu.pl

## Ocena wybranych suplementów diety oraz zielonej kawy na podstawie ich potencjału antyoksydacyjnego

Justyna Brzezicha-Cirocka, Daria Błażejowicz, Joanna Brzezińska, Małgorzata Grembecka

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

W wyniku zwiększającej się popularności zdrowego stylu życia oraz dbałości o sylwetkę, coraz częściej konsumenci sięgają po suplementy diety, które są stosowane celem wspomagania procesu odchudzania. Najczęściej są to suplementy termogeniczne, które stymulują spalanie tkanki tłuszczowej. Obecny rynek oferuje wiele form takich produktów posiadających w swoim składzie wyciągi z zielonej kawy, są to m.in. tabletki, kapsułki, czyste ekstrakty oraz naturalna kawa zielona. Produkt ten stał się na tyle ceniony, że jest zaliczany do kategorii „super foods” (nieprzetworzona żywność bogatoskładnikowa). Celem badań była optymalizacja procesu ekstrakcji, określenie potencjału antyoksydacyjnego badanych próbek oraz porównanie suplementów diety z zieloną kawą

Materiał badawczy stanowiło 5 produktów zielonej kawy oraz 14 suplementów diety zakupionych w aptekach. Oznaczenia całkowitej zawartości polifenoli dokonano metodą spektrofotometryczną z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu. Otrzymane dane pomiarowe pozwoliły na określenie całkowitej zawartości polifenoli w badanych próbkach [mg GAE/g].

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że zawartość substancji przeciwutleniających w badanych suplementach diety jest zróżnicowana. Najwyższy potencjał antyoksydacyjny w przeliczeniu na kapsułkę/tabletkę lub łyżeczkę (5 g) odnotowano dla produktu „Ekstrakt z zielonej kawy”, „Zielonej kawy” oraz suplementu „BeSlim Zielona kawa”. Optymalizacja procesu ekstrakcji z uwzględnieniem zastosowanego rozpuszczalnika, techniki ekstrakcji, temperatury oraz czasu inkubacji próbek, pozwoliła na wytypowanie najlepszych warunków przeprowadzenia badań.

Wiele badań sugeruje korzystny wpływ zielonej kawy lub suplementów na bazie zielonej kawy na zdrowie człowieka. Jednakże stosowanie naparu z zielonej kawy lub suplementów w celu szybkiej redukcji masy ciała, może być niewystarczające bez odpowiednio dobranej diety oraz aktywności fizycznej.

kontakt: justyna.brzezicha-cirocka@gumed.edu.pl

## Aktywność enzymatyczna *Candida albicans* izolowanych z jamy ustnej

Alina Gębska , Katarzyna Garbacz , Maria Wierzbowska , Ewa Kwapisz , Mariola Krause

Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

### WSTĘP

*Candida albicans* jest najczęstszym grzybem drożdżopodobym kolonizującym jamę ustną zarówno zdrowych osób jak i ze stanami zapalnymi błony śluzowej. Spośród szeregu czynników umożliwiających ten proces za istotne uważa się zewnątrzkomórkowe enzymy, proteiny i fosfolipazy, które odgrywają zasadniczą rolę w adhezji, wnikaniu i destrukcji tkanek gospodarza.

### CEL

Określenie aktywności enzymatycznej, proteiny i fosfolipaz wśród izolatów *C. albicans* pochodzących z jamy ustnej.

### MATERIAŁY I METODY

Sto izolatów *C. albicans* uzyskanych z wymazów z jamy ustnej poddano testowi na wytwarzanie proteiny i fosfolipaz oraz określono stopień ich aktywności enzymatycznej. Fosfolipazy wykrywano na podłożu malt agar z 2% emulsją jajeczną (EY), proteiny na podłożu z surowicą bydlęcą (BSA) o pH 3,5. Zawiesinę każdego szczepu (po 10µl, 0.5 McFarlanda) inokulowano 3-krotnie na podłożach, inkubując przez 7 dni w 37°C. Mierzono wielkość kolonii oraz strefę precypitacji z kolonią [mm], przyjmując średnią wartość z trzech pomiarów. Współczynniki aktywności enzymatycznej fosfolipaz i proteazy (Pz) kwalifikowano do odpowiednich klas: Pz=1(-) - brak aktywności, Pz 0.90-0.99/(+) – niska aktywność, Pz 0.80-0.89/(++) – średnia, Pz 0.70-0.79/(+++) - wysoka i Pz <0.69 (++++) - bardzo wysoka aktywność enzymatyczna.

### WYNIKI

Badane izolaty *C. albicans* częściej wytwarzały proteiny niż fosfolipazy (57% i 37%, odpowiednio). Wśród izolatów fosfolipazo-dodatnich, dominowały szczepy o bardzo wysokiej aktywności enzymatycznej Pz(<0.69) 68%, wśród proteino-dodatnich występował niski odsetek takich szczepów (<1%) (różnice znamienne statystycznie, p<0.05). Badane *C. albicans* wydzielaly częściej proteiny o zróżnicowanej aktywności 17% (+), 20% (++) , 16% (+++).

### WNIOSKI

*Candida albicans* izolowane z jamy ustnej wykazują aktywność zarówno proteiny jak i fosfolipaz, jednak te drugie cechuje bardzo wysoki stopień aktywności enzymatycznej, co być może ma związek z infekcjami jamy ustnej.

## Synteza i struktura nowych pochodnych 6,7-dihydro-2H-imidazo[2,1-c][1,2,4]triazolo-3(5H)-iminy o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym

Franciszek Sączewski <sup>1</sup>, Łukasz Balewski <sup>1</sup>, Aleksandra Płoskońska <sup>1</sup>, Weronika Łukowska <sup>1</sup>, Martyna Korcz <sup>1</sup>, Patrick Bednarski <sup>2</sup>, Maria Gdaniec <sup>3</sup>

<sup>1</sup> - Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

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

<sup>3</sup> - Zakład Krystalografii, Wydział Chemii Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Stosowane współcześnie leki przeciwnowotworowe stanowią grupę związków chemicznych zróżnicowaną pod względem struktury. Niepełna skuteczność, nabyta oporność komórek rakowych skłania do poszukiwania nowych, selektywnie działających chemioterapeutyków, odznaczających się wysoką skutecznością i znikomą toksycznością względem komórek zdrowych.

Skondensowane pochodne imidazo-triazolu stanowią ważną grupę związków heterocyklicznych z uwagi na ich zróżnicowaną aktywność biologiczną i szereg potencjalnych zastosowań terapeutycznych. W literaturze z zakresu chemii medycznej można odnaleźć wiele przykładów potwierdzających ich aktywność antyproliferacyjną, działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze i przeciwwirusowe. Rosnące zainteresowanie pochodnymi imidazo-triazolu jest zatem uzasadnione i stanowi istotną przesłankę do poszukiwania w tej grupie związków heterocyklicznych potencjalnych leków przeciwnowotworowych. Prezentowana praca wpisuje się w nurt prowadzonych w Katedrze i Zakładzie Technologii Chemicznej Środków Leczniczych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego badań nad syntezą i strukturą azotowych związków heterocyklicznych o działaniu hamującym wzrost komórek nowotworowych. Otrzymane w reakcji N-cyjano-N-arylohydrazyn z 2-chloro-4,5-dihydro-1H-imidazolem pochodne 6,7-dihydro-2H-imidazo[2,1-c][1,2,4]triazolo-3(5H)-iminy stanowią nowy chemotyp w procesie projektowania potencjalnych leków przeciwnowotworowych. Obecne w strukturze pochodnych imidazo[2,1-c][1,2,4]triazolu ugrupowanie iminowe umożliwiło ich funkcjonalizację do pochodnych amidowych i sulfonamidowych. Z kolei w reakcjach z izocyjanianami i izotiocyjanianami aryłowymi otrzymano odpowiednie moczniki i tiomoczniki. Struktura nowych pochodnych 6,7-dihydro-2H-imidazo[2,1-c][1,2,4]triazolo-3(5H)-iminy została potwierdzona w oparciu o spektroskopię IR, widma magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) oraz badania rentgenograficzne. Ocena aktywności cytotoksycznej otrzymanych związków względem linii komórkowych nowotworów ludzkich prowadzona jest we współpracy z Zakładem Chemii Medycznej i Farmaceutycznej Uniwersytetu w Greifswaldzie (Niemcy).

kontakt: saczew@gumed.edu.pl, lukasz.balewski@gumed.edu.pl, a.ploskonska@gmail.com, cucurbitapepo@gumed.edu.pl, martyna.korcz@wp.pl, bednarsk@uni-greifswald.de, magdan@amu.edu.pl

## Zastosowanie różnych technik mikroekstrakcji do oznaczania neuroprzekaźników w osoczu pacjentów chorych na przewlekłą niewydolność układu sercowo-naczyniowego.

Magdalena Okońska , Magdalena Pyszka , Lucyna Konieczna , Tomasz Bączek

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Zgodnie z danymi WHO, choroby sercowo-naczyniowe są jedną z głównych przyczyn zgonów na całym świecie. Ten fakt uświadamia nam potrzebę wczesnego wykrywania tych schorzeń. W praktyce klinicznej stosuje się biomarkery chorób sercowo-naczyniowych takie jak: mioglobina, markery zawałów mięśnia sercowego (peptydy natriuretyczne: BNP, NT-proBNP) i wskaźniki stanów zapalnych, homocysteina i mieloperoksydaza. Nie są one jednak w pełni specyficzne i wystarczające. Stąd podjęto próbę jednoczesnego oznaczenia szesnastu polarnych związków małowcząsteczkowych - amin biogennych, ich prekursorów i metabolitów jako potencjalnych biomarkerów tych chorób.

Opracowano nowe, szybkie i bardzo czułe metody izolacji amin biogennych ze złożonej matrycy biologicznej-osocza krwi ludzkiej. Zastosowano dyspersyjną mikroekstrakcję ciecz-ciecz (DLLME) i miktorekstrakcję do fazy stałej (SPME). W celu identyfikacji związków o małej masie cząsteczkowej zastosowano chromatografię cieczową sprzężoną z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) z wykorzystaniem chromatografii oddziaływań hydrofilowych (HILIC).

Zwalidowaną metodę wykorzystano do równoczesnego oznaczenia panelu neuroprzekaźników w próbkach osocza, uzyskanych od ludzi z chorobami układu sercowo-naczyniowego oraz od zdrowych ochotników. Zastosowanie dyspersyjnej mikroekstrakcji ciecz-ciecz pozwoliło na znaczne zmniejszenie ilości zużytych rozpuszczalników, co jest zgodne z zasadami zielonej chemii. Wykorzystanie metody mikroekstrakcji do fazy stałej pozwoliło na wykonanie 96 ekstraktacji równocześnie. Wcześniej opisana metoda z użyciem kolumny HILIC została rozszerzona o równoczesną identyfikację różnych metabolitów i prekursorów amin biogennych, poszerzając w ten sposób wiedzę o podstawowych procesach biologicznych w różnych warunkach.

Wykazano statystycznie istotne różnice w poziomach trzech neuroprzekaźników (kwas homowanilinowy, kwas wanilinomigdałowy, tryptofan) pomiędzy osobami chorymi, a grupą kontrolną. Opracowana strategia analityczna może w przyszłości posłużyć jako metoda diagnostyczna chorób układu sercowo-naczyniowego.

Piśmiennictwo

L. Konieczna, A. Roszkowska, T. Stachowicz-Stencel, A. Synakiewicz, T. Bączek. JCB (2017) 1074-1075.

10.1016/j.jchromb.2017.12.031

L. Konieczna, A. Roszkowska, A. Synakiewicz, T. Stachowicz-Stencel, E. Drozyska, T. Bączek. Talanta (2015) 150.

10.1016/j.talanta.2015.12.056

L. Konieczna, A. Roszkowska, M. Niedzwiecki, T. Bączek. JCA (2015) 1431. 10.1016/j.chroma.2015.12.062

kontakt: okonskamagda@gumed.edu.pl, pyszkamagdalena@gumed.edu.pl, lkon@gumed.edu.pl, tbaczek@gumed.edu.pl



## **Analiza aminokwasów w próbkach kondensatów wydychanego powietrza u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną z wykorzystaniem techniki chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas**

Magdalena Pyszka <sup>1</sup>, Magdalena Okońska <sup>1</sup>, Maciej Niedźwiecki <sup>2</sup>, Elżbieta Adamkiewicz-Drożyńska <sup>2</sup>, Lucyna Konieczna <sup>1</sup>, Tomasz Bączek <sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> - Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Dębinki 7, 80-211 Gdańsk

Białaczki, czyli choroby onkohematyczne są jedną z najczęstszych przyczyn śmierci wśród dzieci. Szacuje się, że u pacjentów pediatrycznych stanowią one 20% wszystkich chorób nowotworowych. Wśród białaczek aż 80% stanowi ostra białaczka limfoblastyczna (ALL). Jest to choroba bardzo trudna do zdiagnozowania, a towarzyszące jej objawy są często charakterystyczne dla powszechnych chorób wieku dziecięcego. Ponadto leczenie ostrej białaczki limfoblastycznej opiera się na stosowaniu silnych leków cytostatycznych, które wpływają na rozwój i zniszczenie organizmu młodego pacjenta.

Wciąż poszukuje się nowych biomarkerów, które pozwoliłyby na diagnozę choroby, w dalszym etapie ocenę skuteczności leczenia i oszacowanie rokowania. Pobieranie kondensatów wydychanego powietrza (EBC) pozwala na niespotykane w diagnostyce białaczek połączenie narządowej swoistości z całkowitą nieinwazyjnością. Analiza aminokwasów w EBC u dzieci z ALL może umożliwić szybszą diagnozę (markery diagnostyczne) oraz monitorowanie terapii poprzez identyfikację możliwych markerów terapeutycznych. Opracowano prostą i szybką procedurę przygotowania próbek EBC opartą na ich zagęszczeniu poprzez odparowanie w warunkach próżniowych. Do oznaczania związków polarnych o małej masie cząsteczkowej, jakimi są aminokwasy, zastosowano chromatografię cieczową połączoną ze spektrometrią mas (LC-MS/MS) z wykorzystaniem chromatografii oddziaływań hydrofilowych (HILIC). Do oznaczania całych profili aminokwasowych w próbkach EBC u dzieci z ALL wykorzystano metodę LC-MS/MS, a otrzymane wyniki porównano z grupą kontrolną. Przygotowanie próbki polegające na odparowaniu w warunkach próżniowych pozwala na wyeliminowanie rozpuszczalników organicznych, co jest zgodne z zasadami zielonej chemii. Należy podkreślić, że pobieranie kondensatu wydychanego powietrza jest całkowicie nieinwazyjne, bezpieczne i może być łatwo wykonane u małych dzieci.

Zaobserwowane, statystycznie istotne różnice w poziomach jedenastu aminokwasów w kondensatach wydychanego powietrza u dzieci z białaczką, w porównaniu do grupy kontrolnej mogą być wykorzystane w przyszłości jako element szybkiej diagnozy raka oraz oceny skuteczności leczenia.

### Piśmiennictwo

1. Konieczna L., Pyszka M., Okońska M., Niedźwiecki M., Bączek T., J. Chromatogr. A 1542, 72-81 (2018).

kontakt: [pyszkamagdalena@gumed.edu.pl](mailto:pyszkamagdalena@gumed.edu.pl), [okonskamagda@gumed.edu.pl](mailto:okonskamagda@gumed.edu.pl), [maciej.niedzwiecki@gumed.edu.pl](mailto:maciej.niedzwiecki@gumed.edu.pl), [elzbieta.adamkiewicz-drozynska@gumed.edu.pl](mailto:elzbieta.adamkiewicz-drozynska@gumed.edu.pl), [lkon@gumed.edu.pl](mailto:lkon@gumed.edu.pl), [tbaczek@gumed.edu.pl](mailto:tbaczek@gumed.edu.pl)

## Identyfikacja i charakterystyka bakterii z rodzaju *Pectobacterium* spp. izolowanych z prób gleby, wody oraz ze zdrowych roślin

Magdalena Smoktunowicz<sup>1</sup>, Joanna Jońca<sup>1</sup>, Aneta Mazurowska<sup>1</sup>, Michał May<sup>2</sup>, Małgorzata Waleron<sup>2</sup>, Krzysztof Waleron<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> - Uniwersytet Gdański Zakład Ochrony i Biotechnologii Roślin, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed

Bakterie z rodzaju *Pectobacterium* izolowane są z różnych gatunków roślin, powietrza, gleby, wód śródlądowych oraz przewodów pokarmowych owadów. W obrębie rodzaju *Pectobacterium* wydzielono 11 gatunków: *P. cacticidum*, *P. aroidearum*, *P. atrosepticum*, *P. betavasculatorum*, *P. peruvienne*, *P. parmentirii*, *P. polaris*, *P. punjabense*, *P. wasabiae*, *P. zantedeschiae* i *P. carotovorum*, dla którego opisano 4 podgatunki: *P. c.* subsp. *carotovorum*, *P. c.* subsp. *brasiliense*, *P. c.* subsp. *odoriferum* i *P. c.* subsp. *actinidiae*. Bakterie te mają potencjalne zastosowania w przemyśle farmaceutycznym jako źródło różnego rodzaju biologicznie aktywnych związków czy enzymów rozkładających związki wielkocząsteczkowe. W ramach pozyskiwania nowych izolatów *Pectobacterium* o unikalnych właściwościach przeprowadzono charakterystykę biochemiczną i identyfikację genetyczną 54 szczepów wyizolowanych z prób wody i gleby oraz 148 izolatów pochodzących z roślin. Wykorzystując specyficzne gatunkowo reakcje PCR, bakterie pochodzące z gleby i wody zidentyfikowano jako: *P. c.* subsp. *brasiliense* (5), *P. c.* subsp. *carotovorum* (23), *P. parmentieri* (6). Natomiast szczepy roślinne sklasyfikowano jako: *P. c.* subsp. *brasiliense* (6), *P. aroidearum* (5), *P. atrosepticum* (1), *P. c.* subsp. *carotovorum* (63) and *P. parmentieri* (15). Szczepy scharakteryzowano pod kątem oporności na wybrane antybiotyki, ampicylinę, streptomycynę, erytromycynę, tetracyklinę, gentamycynę, kanamycynę. Ponadto zbadano ich zdolności do wzrostu podłożach o różnym zakresie pH (4-11) oraz zasolenia (0-11% NaCl). Sprawdzono także ich zakres tolerancji na ograniczoną dostępność wody. Ponadto dla wybranych szczepów wykonano testy patogeniczności. W wyniku prowadzonych analiz wykazano, że większość badanych szczepów jest wrażliwa na działanie antybiotyków za wyjątkiem 2 szczepów wykazujących oporność na erytromycynę (*P. aroidearum*, *P. c.* subsp. *carotovorum*). Wyselekcjonowano 5 szczepów zdolnych do przeżycia przy pH > 8 oraz 17 szczepów tolerujących 11% NaCl w podłożu. Maksymalnym stężeniem PEG w podłożu było >200 g/L, które tolerowało 21 szczepów zaklasyfikowanych do *P. aroidearum*, *P. atrosepticum*, *P. betavasculatorum*, *P. c.* subsp. *carotovorum*, *P. c.* subsp. *brasiliense*. Spośród badanych szczepów 10 było nie patogennych. Natomiast zdolność do maceracji wynikającą z wytwarzania enzymów degradujących ścianę komórkową roślin wykazano dla 26 szczepów, spośród nich najwyższą patogeniczność wykazało 21 zaklasyfikowanych do *P. c.* subsp. *Carotovorum*.

Finasowanie: NCN 2015/17/B/NZ9/01730

kontakt: magdalena.smoktunowicz@gumed.edu.pl, joanna.jonca@gumed.edu.pl, aneta.mazurowska@gumed.edu.pl, michal.may@gmail.com, malgorzata.waleron@gmail.com, krzysztof.waleron@gumed.edu.pl

## **Dwuetapowa procedura ekstrakcji ciecz-ciecz w połączeniu z fazą stacjonarną immobilizowaną albuminą surowicy ludzkiej w oznaczaniu enancjomerów cetyryzyny wraz z nipaginą M i P**

Aleksandra Chmielewska , Lucyna Konieczna , Tomasz Bączek

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny w Gdańsku

Badania nad rozdzielaniem enancjomerów substancji leczniczych są ściśle związane z bezpieczeństwem i skutecznością leków. Celem tego projektu było opracowanie prostej i zwalidowanej metody HPLC do analizy enancjomerów cetyryzyny. W przypadku płynnych postaci leku oprócz substancji czynnej w dużych ilościach zazwyczaj występują również nieaktywne składniki, takie jak nipagina M i P. Niestety, związki te mogą interferować z analitem, między innymi podczas chiralnego rozdzielania jego enancjomerów. Proponowana innowacyjna dwuetapowa procedura ekstrakcji ciecz-ciecz pozwoliła na oznaczenie enancjomerów cetyryzyny (wraz z nipaginami M i P) również w płynnych postaciach leku. Chromatograficzne rozdzielanie enancjomerów cetyryzyny po raz pierwszy przeprowadzono na fazie stacjonarnej immobilizowanej albuminą surowicy ludzkiej (HSA).

Analizę chromatograficzną prowadzono przy długości fali 227 nm. W optymalnych warunkach oznaczenia uzyskano całkowite rozdzielanie enancjomerów cetyryzyny ( $\alpha = 1,43$ ;  $R_s = 1,82$ ). Opracowana metoda znalazła swój wymiar praktyczny, została z powodzeniem zastosowana do oznaczenia enancjomerów cetyryzyny wraz z nipaginami w wybranych formułacjach farmaceutycznych.

### Piśmiennictwo

1. Jaber, A.M.Y., Al Sherife, H.A., Al Omari, M.M., Badwan, A.A. J. Pharm. Biomed. Anal. 36 (2004) 341–350.
2. Uysal, Ü.D., Tunçel, M., J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 29 (2006) 1781–1792.
3. Chmielewska A., Konieczna L., Bączek T., Molecules 21 (2016) 1654-1666.

kontakt: chmola@gumed.edu.pl, lkon@gumed.edu.pl, tbaczek@gumed.edu.pl

## **Optymalizacja metody dyspersyjnej mikroekstrakcji ciecz-ciecz jako efektywnego narzędzia izolacji witamin rozpuszczalnych w tłuszczach z różnych matryc biologicznych z zastosowaniem techniki chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas**

Anna Krawczyńska , Lucyna Konieczna , Tomasz Bączek

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej

W dobie miniaturyzacji i dbałości o środowisko naturalne nieustannie poszukuje się wysoce czułych, szybkich, precyzyjnych i przyjaznych środowisku metod oznaczania substancji leczniczych w matrycach biologicznych. Zdrowie człowieka zależy między innymi od obecności w organizmie mikroelementów i witamin, które występują w małych lub śladowych ilościach (optymalne stężenie witaminy D3 u zdrowego człowieka 30-50 ng/ml) [1-2]. Celem naszych badań było opracowanie oraz walidacja metody przygotowania próbek biologicznych (surowica, płyn pęcherzykowy) opartej na mikroekstrakcji i wykorzystanie jej do jednoczesnego oznaczania witamin A, D, K oraz E techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem mas. Satisfakcjonujące rozdzielenie chromatograficzne uzyskano na kolumnie Pursuit 5 PFP o wymiarach 150 x 3,0 mm, fazę ruchomą stanowił 0,1% HCOOH w 2% metanolu (faza A) i 0,1% HCOOH w metanolu (faza B) w warunkach elucji gradientowej, przy objętościowej szybkości przepływu fazy ruchomej 0,4 ml/min. Jako metodę ekstrakcji, ze względu na rodzaj matrycy i charakter analizowanych związków, wybrano efektywną dyspersyjną mikroekstrakcję ciecz-ciecz (DLLME) z zastosowaniem dichlorometanu jako czynnika ekstrahującego i etanolu jako dyspergenta. Zaproponowana optymalna metoda DLLME przygotowania próbki do analizy chromatograficznej jest szybka, prosta w wykonaniu, wysoce czuła, selektywna, zgodna z zasadami zielonej chemii ze względu na mikroilości zużytych rozpuszczalników, stąd wpisuje się w aktualne trendy nowoczesnej analityki. Ponadto znalazła swój wymiar praktyczny, ma ogromne znaczenie dla pacjenta, może być z powodzeniem zastosowana do rutynowego oznaczenia witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w różnych matrycach biologicznych (osocze, mocz i płyn pęcherzykowy) w celach diagnostycznych i terapeutycznych, co wskazuje na jej ogromny potencjał kliniczny.

### Piśmiennictwo

- [1] L. Konieczna, K. Kaźmierska, A. Roszkowska, A. Szlagatys-Sidorkiewicz, T. Bączek. The LC-MS method for the simultaneous analysis of selected fat-soluble vitamins and their metabolites in serum samples obtained from pediatric patients with cystic fibrosis, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 124 (2016) 374-381.
- [2] N. Fabisiak, A. Fabisiak, C. Watala, J. Fichna. Fat-soluble Vitamin Deficiencies and Inflammatory Bowel Disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Gastroenterol.* 51 (10) (2017) 878-889

kontakt: [aniakrawczynska@gumed.edu.pl](mailto:aniakrawczynska@gumed.edu.pl), [lkon@gumed.edu.pl](mailto:lkon@gumed.edu.pl), [tomasz.baczek@gumed.edu.pl](mailto:tomasz.baczek@gumed.edu.pl)

## **Szybkie i jednoczesne oznaczanie 36 aminokwasów w nieinwazyjnych i inwazyjnych próbkach biologicznych otrzymanych od pacjentów bariatrycznych za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas**

Lucyna Konieczna <sup>1</sup>, Anna Krawczyńska <sup>1</sup>, Janusz Siebert <sup>2</sup>, Maria Skrzypkowska <sup>3</sup>, Piotr Gutknecht <sup>2</sup>, Magdalena Reiwer-Gostomska <sup>2</sup>, Łukasz Kaska <sup>4</sup>, Justyna Bigda <sup>4</sup>, Maria Proczko-Stepaniak <sup>4</sup>, Tomasz Bączek <sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> - Katedra Medycyny Rodzinnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup> - Zakład Immunologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>4</sup> - Klinika Chirurgii Ogólnej, Endokrynologicznej i Transplantacyjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Otyłość należy do grupy chorób cywilizacyjnych i uznawana jest za pandemię XXI wieku. Choroba ta dotyczy zarówno dorosłych jak i dzieci i jest zagrożeniem dla naszego zdrowia a nawet życia. Otyłość jest jednym z kryteriów rozpoznania zespołu metabolicznego. W wyniku nadmiernej ilości lipidów dochodzi do rozwoju miażdżycy, a w konsekwencji do nadciśnienia tętniczego. Bezdech, astma, dolegliwości trawienne, cukrzyca to również choroby towarzyszące osobom z nadwagą i otyłością. Rozwiązaniem poprawiającym komfort życia takich pacjentów jest metoda chirurgicznego leczenia otyłości poprzez przeprowadzenie operacji bariatrycznej. Udowodniono, że nawet dzień po zabiegu można wyleczyć pacjenta z cukrzycy i znacząco poprawić jakość życia osoby z bezdechem. Zarówno przed jak i po ingerencji chirurgicznej pacjenta obowiązuje ścisła dieta, stąd istotne jest monitorowanie poziomu aminokwasów.

Celem niniejszej pracy była optymalizacja i walidacja metody oznaczania aminokwasów obecnych w kondensatach wydychanego powietrza (n=42), ślinie (n=40) i moczu (n=14) pacjentów będących przed i po zabiegu chirurgicznym oraz we krwi (n=64) osób otyłych przed zabiegiem resekcji mankietowej z wykorzystaniem techniki chromatografii cieczowej połączonej z tandemowym spektrometrem mas wyposażonym w źródło jonów typu elektrorozpraszania i analizator typu potrójny kwadrupol. Rozdzielenie chromatograficzne przeprowadzono na kolumnie C18 Phenomenex EZ: faast AAA-MS 25 x 2.0 mm, 4 µm. Całkowity czas pojedynczej analizy wynosił 18 min.

Zoptymalizowana metoda LC-MS/MS pozwoliła na jednoczesne oznaczenie 36 aminokwasów po ich wcześniejszym upochodnieniu za pomocą chloromrówczanu propylu. W ramach przeprowadzonych badań pilotażowych, wykazano istotne różnice w profilach aminokwasowych u osób otyłych przed i po operacji bariatrycznej.

### Piśmiennictwo

Yosida H., Kondo K., Yamamoto H. et al., J. Chromatogr. B 998-999, 88-95 (2015). Konieczna L., Pyszka M., Okońska M., Niedźwiecki M., Bączek T., J. Chromatogr. A 1542, 72-81 (2018).

kontakt: lkon@gumed.edu.pl, aniakrawczynska@gumed.edu.pl, janusz.siebert@gumed.edu.pl, maria.skrzypkowska@gumed.edu.pl, piotr.gutknecht@gumed.edu.pl, magdalena.reiwer-gostomska@gumed.edu.pl, lukasz.kaska@gumed.edu.pl, justyna.bigda@gumed.edu.pl, maria.proczko-stepaniak@gumed.edu.pl, tbaczek@gumed.edu.pl

## Synteza i struktura nowych pochodnych 2-(1H-indol-2-ylo)akrylonitrylu o potencjalnej aktywności biologicznej

Karol Gzella<sup>1</sup>, Anita Kornicka<sup>1</sup>, Małgorzata Jarosiewicz<sup>2</sup>, Katarzyna Garbacz<sup>2</sup>, Maria Gdaniec<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup> - Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup> - Zakład Krystalografii, Wydział Chemii, Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu

O dużym i rosnącym zainteresowaniu 2,3-dipodstawionymi akrylonitrylami świadczy m.in. liczba publikacji poświęcona tej grupie związków. Największy udział w doniesieniach literaturowych stanowią prace dotyczące syntezy i aktywności biologicznej związków o działaniu przeciwnowotworowym. Wcześniejsze badania prowadzone w naszej Katedrze w zakresie poszukiwania nowych chemotypów dla projektowania potencjalnych leków przeciwnowotworowych doprowadziły do uzyskania 3-(hetero)arylo-2-(1H-1,2,4-triazol-3-ylo)akrylonitryli oraz 2-(1H-benzo[d]imidazol-2-ylo)-3-(hetero)aryloakrylonitryli, jako potencjalnych aktywatorów kaspazy-9 o aktywność cytotoksycznej wobec komórek nowotworowych ludzkich. Celem poszerzenia wiedzy w zakresie struktura-aktywność biologiczna tej klasy związków otrzymano kolejną serię heteroaryloakrylonitryli zawierających pierścień 1H-indolu w pozycji 2 ugrupowania akrylonitrylowego tj. 2-(1H-indol-2-ylo)-3-(hetero)aryloakrylonitryli. Interesującym wydawało się także otrzymanie pochodnych 2-(1H-indol-2-ylo)-3-arylopropanonitrylu w celu określenia wpływu ugrupowania olefinowego na aktywność biologiczną tej klasy związków.

Budowę chemiczną nowo otrzymanych 2,3-dipodstawionych akrylonitryli potwierdzono metodami spektroskopowymi (IR, NMR i MS) oraz badaniami rentgenostrukturalnymi. Oceny aktywności przeciwnowotworowej uzyskanych 2-(1H-indol-2-ylo)-3-(hetero)aryloakrylonitryli dokonano przy współpracy z Narodowym Instytutem Raka w USA z użyciem panelu 60 linii komórkowych nowotworów ludzkich. Spośród badanych związków wysoką zdolnością hamowania wzrostu komórek nowotworowych odznaczył się (Z)-3-[4-(dimetyloamino)fenylo]-2-(1H-indol-2-ylo)akrylonitryl (GI<sub>50</sub>=0,26-6,60 uM, TGI=0,64-9,49 uM). Otrzymane związki przekazano również do Katedry Mikrobiologii Wydziału Lekarskiego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w celu określenia ich właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych. Największą potencją działania odznaczył się 2-(1H-indol-2-ylo)-3-(1H-pirol-2-ylo)akrylonitryl, który hamował wzrost szczepów bakterii: *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* PCM 2118, *E. faecalis* ATCC 11420 (MIC: 8-32 µg/ml, MBC: 32 µg/ml), a także drożdżaka *Candida albicans* (MIC=4 µg/ml, MFC=8 µg/ml).

### Piśmiennictwo

[1] Sączewski F. et al. J. Med. Chem. 47 (2004) 3438-3449.

[2] Sączewski F. et al. Eur. J. Med. Chem. 43 (2008) 1847-1857.

kontakt: kgzella@gumed.edu.pl, anita.kornicka@gumed.edu.pl, malgorzata.jarosiewicz@gumed.edu.pl, katarzyna.garbacz@gumed.edu.pl, magdan@amu.edu.pl

## Synteza, struktura i aktywność biologiczna nowych pochodnych (Z)-1-[1-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylo)-2-fenylowinylo]-1H-indolu

Karol Gzella<sup>1</sup>, Anita Kornicka<sup>1</sup>, Katarzyna Turecka<sup>2</sup>, Maria Gdaniec<sup>3</sup>

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

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

<sup>3</sup> - Zakład Krystalografii, Wydział Chemii, Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu

Pochodne 2-imidazoliny (2-(4,5-dihydro-1H-imidazolu)) wykazują szereg interesujących właściwości biologicznych i znalazły zastosowanie jako leki hipotensyjne, zwężające naczynia krwionośne, miorelaksacyjne, zmniejszające łaknienie, a także jako chemioterapeutyki [1]. Układ N-winyloindolu stanowi także podstawę wielu związków o zróżnicowanej aktywności biologicznej, w tym w środkach o działaniu przeciwbakteryjnym, przeciwgrzybiczym i antyproliferacyjnym [2].

Celem prezentowanej pracy było otrzymanie nowej klasy pochodnych N-winyloindolu - 1-[1-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylo)-2-arylowinylo]-1H-indolu z przeznaczeniem do badań biologicznych, w pierwszym rzędzie pod kątem oceny ich wpływu na wzrost komórek nowotworowych, a następnie działania przeciwdrobnoustrojowego.

Substratem do planowanych syntez był 1-[(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylo)metylo]-1H-indol, który na drodze reakcji kondensacji Knoevenagela z odpowiednim aldehydem posłużył do otrzymania zamierzonych 1-[1-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylo)-2-arylowinylo]-1H-indoli.

Budowę chemiczną zsyntetyzowanych związków potwierdzono metodami spektroskopowymi (IR, NMR, MS) oraz analizą rentgenostrukturalną.

Ocenę aktywności cytotoksycznej *in vitro* z użyciem 60 linii komórkowych nowotworów ludzkich przeprowadzono w Narodowym Instytucie Raka w USA. Wstępne wyniki badań *in vitro* wykazały aktywność cytotoksyczną badanych związków wobec niektórych linii komórkowych białaczki. Z kolei badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej *in vitro* wykazały, że testowane związki odznaczają się działaniem przeciwbakteryjnym wobec szczepów: *S. epidermidis* ATCC, metycylinoopornemu *S. epidermidis* (MRSE) i metycylinoopornemu *S. aureus* (MRSA) (MIC=13,75-30 µg/ml, MBC=27,5-55 µg/ml).

Piśmiennictwo

[1] Sączewski F. et al. Expert Opin. Ther. Patents 26 (2016) 1031-1048

[2] Li H. et al. J. Org. Chem. 76 (2011) 9488-9496

kontakt: kgzella@gumed.edu.pl, anita.kornicka@gumed.edu.pl, turecak@gumed.edu.pl, magdan@amu.edu.pl

## Ocena trzech technik osadzania peptydu odwzorowującego miejsce wiązania aldehydów w receptorze HarmOBP7 na złotej elektrodzie czujnika piezoelektrycznego.

Tomasz Wasilewski , Natalia Kaplińska , Weronika Jakubaszek , Wojciech Kamysz

Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej

Rozwój technologii bioczujników ukierunkowany jest na zbliżenie się z zakresem czułości do biologicznych odpowiedników, gdzie substancje zapachowe mogą być wykrywane na poziomie nanomoli (lub niżej). Koncepcja, która jest w stanie sprostać tym oczekiwaniom zakłada wykorzystanie w tym celu biologicznych komponentów pochodzących z rozmaitych systemów węchowych [1]. Oprócz typowo biologicznych elementów systemów węchowych, w bioczujnikach zapachu wykorzystywane są struktury odwzorowujące materiały biologiczne, takie jak syntetyczne polipeptydy. Jednym z głównych etapów produkcji bioczujników na bazie materiałów biologicznych jest jego immobilizacja na powierzchni przetwornika. Ze względu na łatwość syntezy peptydów, poprzez modyfikację łańcuchów bocznych aminokwasów można w prosty sposób podwyższyć powinowactwo do określonych odorantów.

Czujniki typu QCM (Quartz Crystal Microbalance) to czułe i uniwersalne urządzenia, umożliwiające pomiar lotnych substancji zapachowych. Na powierzchni złotej elektrody, mogą zostać osadzone różne rodzaje biomateriałów, w tym peptydy odwzorowujące miejsca wiązania receptorów węchowych. Kluczowym aspektem zapewnienia czułości i dokładności pomiarów jest zastosowanie optymalnej i powtarzalnej metody immobilizacji. W pracy porównano trzy techniki osadzania (drop-casting, spin-coating i dip-coating) peptydów na powierzchni elektrod. Jako element receptorowy czujnika, odwzorowujący miejsce wiązania aldehydu w białku HarmOBP7 [2], wykorzystano peptyd o sekwencji aminokwasowej – LEKKKDC-NH<sub>2</sub>. Proces tworzenia monowarstw na powierzchni czujnika monitorowano poprzez zmiany częstotliwości. Najwyższy stopień osadzenia odnotowano dla metody spin-coating (16,43 μg·mm<sup>-2</sup>). Powtarzalność pracy czujnika określona została w stosunku do acetaldehydu. Dodatkowo, pomiar toluenu w fazie gazowej, umożliwił określenie specyficzności bioczujnika. Krzywe kalibracji dla trzech czujników, wykazały wysoki współczynnik determinacji ( $R^2 > 0,99$ ) dla technik drop-casting i dip-coating oraz 0,97 dla spin-coating. Znacząco wyższą czułość zaobserwowano dla acetaldehydu w przypadku metody dip-coating i drop-casting [3].

kontakt: tomwasil@gumed.edu.pl, natalka.kaplinska@gumed.edu.pl, weronika.jakubaszek@gumed.edu.pl, kamysz@gumed.edu.pl



## Związki koordynacyjne Co(III) z diaminowymi ligandami chelatującymi wykazują znaczącą aktywność przeciw grzybom z rodzaju *Candida* uszkodzając błonę komórkową mitochondrium i retikulum endoplazmatycznego

Katarzyna Turecka <sup>1</sup>, Agnieszka Chylewska <sup>2</sup>, Anna Kawiak <sup>3</sup>, Krzysztof Waleron <sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> - Katedra Chemii Bioorganicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański

<sup>3</sup> - Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Gdański i Gdański Uniwersytet Medyczny

Obecnie w terapii klinicznej dostępnych jest wiele leków przeciwgrzybiczych, jednakże rosnąca oporność grzybów, zwłaszcza z rodzaju *Candida*, na dostępne leki wymaga poszukiwania nowych, bezpiecznych, nietoksycznych dla organizmu człowieka związków o alternatywnych mechanizmach działania. Kompleksy kobaltu wydają się być bardzo atrakcyjną grupą związków jako potencjalnych leków przeciwdrobnoustrojowych. Szeroko badane jest wykorzystanie tych kompleksów w terapii przeciwwirusowej, przeciwbakteryjnej, przeciwgrzybiczej, przeciwnowotworowej czy przeciwzapalnej. Przeprowadzone zostały doświadczenia określające aktywność przeciwgrzybiczą związków koordynacyjnych Co(III) z diaminowymi ligandami chelatującymi ( $[\text{CoCl}_2(\text{dap})_2]\text{Cl}$  i  $[\text{CoCl}_2(\text{en})_2]\text{Cl}$ ) przeciw szerokiemu spektrum grzybów z rodzaju *Candida*. Wyznaczono wartości MIC (minimalne stężenie hamujące) i MFC (minimalne stężenie bójcze) wykorzystując metodę seryjnych rozcieńczeń. Oceniono szybkość narastania oporności grzybów z rodzaju *Candida* i badano występowanie efektu synergistycznego związków Co(III) w kombinacji z wybranymi lekami przeciwgrzybiczymi (ketokonazol, amfoterycyna B) za pomocą metody szachownicy. Zmiany morfologiczne w komórkach grzybów powstałe pod wpływem związków koordynacyjnych Co(III) obserwowano za pomocą transmisyjnego mikroskopu elektronowego. Przeprowadzono wstępne badania oceniające mechanizm działania związków Co(III) stosując test z ergostrolem (działanie na błonę komórkową) i test z sobitołem (ściana komórkowa). Sprawdzano także cytotoksyczność związków wykorzystując linie komórkowe ludzkich keratynocytów (HaCaT) i erytrocyty. Badane związki wykazały znaczącą aktywność przeciwgrzybiczą, okazały się być bardziej efektywne niż ketokonazol. Badania występowania efektu synergistycznego metodą szachownicy pokazały, że aktywność ketokonazolu wzrosła w obecności analizowanych związków. Wyniki badań sugerują, że kompleksy Co(III) powodują istotne uszkodzenia w błonie komórkowej mitochondriów i błonie retikulum endoplazmatycznego, co potwierdzono wykorzystując transmisyjny mikroskop elektronowy. Potwierdzono również, że związki koordynacyjne Co(III) nie wykazują właściwości cytotoksycznych w stężeniach aktywnych wobec grzybów z rodzaju *Candida*. Przeprowadzone doświadczenia wskazują, że związki koordynacyjne Co(III) z diaminowymi ligandami chelatującymi stanowią obiecującą grupę związków o działaniu przeciwgrzybiczym (1).

Piśmiennictwo

1. Turecka K., Chylewska A., Kawiak A., Waleron K., 2018. Antifungal activity and mechanism of action of the Co(III) coordination complexes with diamine chelate ligands against reference and clinical strains of *Candida* spp. *Front. Microbiol.*, 9:1594.

kontakt: katarzyna.turecka@gumed.edu.pl, agnieszka.chylewska@ug.edu.pl, anna.kawiak@biotech.ug.gda.pl, krzysztof.waleron@gumed.edu.pl

## Lekowrażliwość szczepów *Staphylococcus aureus* kolonizujących górne drogi oddechowe osób starszych i personelu domu pomocy społecznej

Martyna Kasela, Agnieszka Grzegorzczak, Urszula Kosikowska, Edyta Chwiejczak, Anna Malm

Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny, ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin

*Staphylococcus aureus* należy do patogenów oportunistycznych o wzrastającej lekooporności. Nosicielstwo – efekt przejściowej lub stałej kolonizacji – jest stanem bezobjawowym, w którym gospodarz może przyczynić się do rozprzestrzenienia się opornych na antybiotyki szczepów *S. aureus* w otaczającym go środowisku, natomiast kolonizacja osób z obniżoną odpornością jest czynnikiem predysponującym do rozwoju samozakażenia. Domy opieki dla osób starszych stanowią środowisko, w którym czynniki tj. wiek, osłabienie, choroby wieku starczego, ciągle przebywanie na stosunkowo małej powierzchni, częsty kontakt fizyczny osób starszych z personelem oraz transfer pacjentów między domem pomocy a szpitalem, sprzyjają transmisji drobnoustrojów. Z tych powodów monitorowanie poziomu lekooporności szczepów *S. aureus*, w takich obiektach, wśród osób starszych i personelu stanowi istotny element badań epidemiologicznych. Badaniem objęto 102 osoby – mieszkańców (60) oraz personel (42) przebywających w jednym z domów pomocy społecznej w Lublinie; wymazy pobierano zarówno z przedziona nosa, jak i gardła. Lekowrażliwość 66 szczepów *S. aureus* wyizolowanych z górnych dróg oddechowych określono oznaczając minimalne stężenie antybiotyków/chemioterapeutyków hamujące wzrost gronkowców (MIC) za pomocą systemu Vitek 2 Compact oraz stosując metodę dyfuzyjno-krażkową. Interpretacji wyników dokonano zgodnie z zaleceniami EUCAST.

Zaobserwowano oporność na następujące antybiotyki: penicylinę benzylową (65,2%), tetracyklinę (12,1%), tobramycynę (4,5%), gentamycynę (3%), ciprofloksacynę (1,5%), daptomycynę (1,5%). Oporność indukowaną na makrolidy, linkozamidy i streptograminy B (iMLSB) stwierdzono u 9,1% izolatów. Oporność na metycylinę wykazano u 1,5% szczepów *S. aureus*.

Mimo, iż poziom lekooporności wyizolowanych szczepów nie został uznany za alarmująco wysoki, konieczne jest przeprowadzenie długoterminowego dochodzenia epidemiologicznego bazującego na metodach genotypowania. Częstość transmisji *S. aureus* wśród osób przebywających stale na jednym obszarze może być bowiem przyczyną zakażeń krzyżowych pomiędzy osobami starszymi i personelem, co w konsekwencji może prowadzić do bakteriemii o etiologii *S. aureus*.

kontakt: martynakasela@umlub.pl, aga.grzegorzczak@umlub.pl, urszulakosikowska@umlub.pl, edytachwiejczak@interia.pl, annamalm@umlub.pl

## Optimalizacja procedur ekstrakcji metanefryny, normetanefryny, MHPG, DHPG, VMA, HVA i DOPAC przed analizą separacyjną metodą elektroforezy kapilarnej

Ilona Olędzka <sup>1</sup>, Natalia Miękus-Purwin <sup>2</sup>, Piotr Kowalski <sup>1</sup>, Alina Plenis <sup>1</sup>, Marta Rudnicka, Natalia Kossakowska <sup>1</sup>, Tomasz Bączek <sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> - Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański

Głównym celem pracy była ocena wydajności trzech technik ekstrakcyjnych, dyspersyjnej mikroekstrakcji ciecz-ciecz (DLLME), ekstrakcji do fazy stałej (SPE) oraz mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME), podczas izolacji wybranych amin biogennych, takich jak HVA, VMA, MHPG, DHPG, DOPAC, metanefryna (M) i normetanefryna (MN), z badanych próbek. W przypadku DLLME zastosowano etanol (dyspergent) i dichlorometan (ekstrahent). W technice SPE wykorzystano trzy typy kolumniek ekstrakcyjnych: hydrofilowo-lipofilowe (HLB), polarne (CN) i niepolarne (C18) a jako eluenty testowano metanol, dichlorometan, heksan, aceton i mieszaninę ACN:metanol (50:50, v/v). Skuteczność ekstrakcji SPME zbadano stosując włókna z fazą niepolarną (C18) oraz z fazą hydrofilowo-lipofilową (DVB). Do desorpcji analitów zastosowano mieszaninę woda: metanol (50:50, v/v).

Oceniono skuteczność ekstrakcji oraz współczynnik wzbogacania (EF) dla każdej procedury. Analizy separacyjne wykonano przy użyciu systemu do elektroforezy kapilarnej P/ACE MDQ (Beckman Coulter, CA, USA) z detektorem DAD (200 nm). Zastosowano niemodyfikowaną kapilarę krzemionkową (75 µm i.d., dł. 60,2 cm); nastrzyk hydrodynamiczny 15 s; napięcie 22 kV; temperatura 25,0 (± 0,1) °C; bufor separacyjny 5 mM boraks, 50 mM SDS, 15% (v/v) MeOH i 150 mM kwas borny.

Wyniki otrzymane po przeprowadzeniu ekstrakcji porównano z wynikami otrzymanymi po analizie roztworów wzorcowych analitów. Wydajność ekstrakcji (R) wyrażono jako odzysk analitu, natomiast wysokość piku, jako odpowiedź aparatury pomiarowej, została wykorzystana do określenia współczynnika wzbogacania (EF). Technika DLLME wykazała niską wydajność dla wszystkich analizowanych amin biogennych. Technika SPE z kolumnkami typu C18 i mieszaniną ACN-metanol (50:50, v/v) stosowaną jako eluent okazała się najbardziej skuteczna w izolacji DHPG, VMA, HVA, M i DOPAC. Potencjalnie najskuteczniejszą metodą izolacji była technika SPME z włóknami DVB i metanolem jako desorbentem. Dla sześciu testowanych amin uzyskano EF w zakresie od 1,11 do 6, dla DHPG wydajność ekstrakcji wynosiła 72%. W przypadku techniki SPME z C18 i mieszaniny desorbującej złożonej z ACN-metanolu (50:50, v/v), uzyskano 3-krotny współczynnik wzbogacania (EF) dla metanefryny. W wyniku przeprowadzonych badań wybrano technikę ekstrakcji SPME z włóknem pokrywającym złożę typu DVB oraz metanolem jako desorbentem jako najbardziej skuteczną metodę wyodrębniania siedmiu amin biogennych z próbek biologicznych.

Praca została sfinansowana z funduszy NCN, projekt nr 2017/01/X/ST4/00225, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego Nr MN 01-0316 / 08/506, Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w Polsce w ramach Wspólnego Programu Badawczego V4-Korea, projekt MTB nr DZP/V4-Korea-I / 20/2018, oraz z funduszy przeznaczonych na prace badawczo-rozwojowe (ST) Katedry Fizjologii Zwierząt i Człowieka Uniwersytetu Gdańskiego oraz Katedry i Zakładu Chemii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Piśmiennictwo:

[1] Miękus, N., Kowalski, P., Olędzka, I., Plenis, A., Bień, E., Miękus, A., Krawczyk, M., Adamkiewicz-Drożyńska, E., Bączek, T., J. Chromatogr. B, 2015, 1003, 27-30.

[2] Miękus, N., Olędzka, I., Plenis, A., Kowalski, P., Bień, E., Miękus, A., Krawczyk, M.A., Adamkiewicz-Drożyńska, E., Bączek, T., J. Chromatogr. B, 2016, 1036-1037, 114-123.

[3] Miękus, N., Olędzka, I., Kossakowska, N., Plenis, A., Kowalski, P., Prahl, A., Bączek, T., Talanta 2018, 186, 119-123

kontakt: ilona.oledzka@gumed.edu.pl, miekusn@gmail.com, piotr.kowalski@gumed.edu.pl, alina.plenis@gumed.edu.pl, m.rudnicka1994@gmail.com, natalia.kossakowska@gumed.edu.pl, tbaczek@gumed.edu.pl

## Badanie penetracji parabenów w naskórek

Andrzej Marek Winnicki , Alicja Olejnik , Paweł Fiołek , Danuta Partyka , Marta Czapiewska , Tomasz Gnatowski ,  
Maciej Karolak , Alicja Konieczna

Katedra Technologii Postaci Leku, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Parabeny są estrowymi pochodnymi kwasu 4-hydroksybenzoesowego. Należą do najczęściej używanych środków konserwujących ze względu na ich szerokie spektrum działania przeciwwgrzybiczego i przeciwbakteryjnego w szerokim zakresie pH. Zbadano ilości metylparabenu, etylparabenu i propylparabenu, zaabsorbowanych w naskórku po przeprowadzonym 23-godzinnym badaniu przenikania przez skórę ludzką z trzech różnych płynów donorowych: 20% roztworu etanolu, 20% roztworu glikolu propylenowego i roztworu soli fizjologicznej w buforze fosforanowym. Badanie przenikania przeprowadzono w aparatach przepływowych. Do oznaczenia parabenów w wyizolowanym naskórku wykorzystano wysokosprawną chromatografię cieczą. Do wyizolowania naskórka zastosowano metodę ablacji termicznej i tape-stripping. Wyniki badań penetracji badanych substancji w naskórek wskazują na najmniejszą ilość metylparabenu w naskórku spośród trzech badanych parabenów. Ilość zaabsorbowanego metylparabenu w naskórku wynosiła: z 20% roztworu etanolu 202,467 nmol, z 20% roztworu glikolu propylenowego 98,199 nmol, z roztworu PBS 33,651 nmol. Można przypuszczać, że wyniki te związane są z dobrą rozpuszczalnością i najniższą wartością współczynnika podziału oktanol/woda spośród badanych parabenów. Spośród trzech badanych parabenów w największym stopniu został zaabsorbowany w naskórku propylparaben. Ilości wnikięte w naskórek wynosiły: z 20% roztworu etanolu 274,947 nmol, z 20% roztworu glikolu propylenowego 195,054 nmol, z PBS 151,115 nmol. Propylparaben jest najbardziej lipofilowy (logP 3,036), wskazuje na duże powinowactwo do warstwy rogowej. W przypadku etylparabenu zaabsorbowane ilości w naskórku są mniejsze niż w przypadku propylparabenu i wynoszą kolejno: z 20% roztworu etanolu 10,123 nmol, z 20% roztworu glikolu propylenowego 106,087 nmol, z PBS 12,394 nmol. Analizując ilość zaabsorbowanego w naskórku parabenu w zależności od użytego płynu donorowego zaobserwowano najmniejszą ilość wszystkich parabenów w przypadku użycia PBS, co można wytłumaczyć niską rozpuszczalnością parabenów w tym roztworze. Obecność alkoholu etylowego w płynie donorowym spowodowała zwiększenie rozpuszczalności parabenów i tym samym większą zaabsorbowaną ilość metylparabenu i propylparabenu w naskórku.

kontakt: andrzej.winnicki@cm.umk.pl, alken@op.pl, pawelfiolek92@gmail.com, danuta.partyka@cm.umk.pl, marta.czapiewska@cm.umk.pl,  
tomasz.gnatowski@cm.umk.pl, maciej.karolak@cm.umk.pl, alicja.konieczna04@onet.pl

## Ocena aktywności wybranych pochodnych kwasu oleanolowego jako promotorów penetracji progesteronu do sztucznych błon lipofilowych

Maciej Karolak<sup>1</sup>, Łukasz Kubik<sup>2</sup>, Jerzy Błaszczynski<sup>3</sup>, Barbara Bednarczyk-Cwynar<sup>4</sup>, Danuta Partyka<sup>1</sup>, Andrzej Marek Winnicki<sup>1</sup>, Tomasz Gnatowski<sup>1</sup>, Marta Czapiewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.

<sup>2</sup> - Katedra i Zakład Biofarmacji i Farmakokinetyki, Gdański Uniwersytet Medyczny.

<sup>3</sup> - Instytut Informatyki, Zakład Inteligentnych Systemów Wspomagania Decyzji, Politechnika Poznańska

<sup>4</sup> - Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Promotory wchłaniania stanowią szeroką grupę substancji stosowanych w transdermalnym dostarczaniu leków do organizmu. W poszukiwaniach wysoce skutecznych i niedrażniących substancji, wykazujących taką aktywność, często sięga się do związków pochodzenia naturalnego. Przeprowadzanie wstępnych badań na sztucznych modelach skóry jest użyteczne w celu preselekcji tych substancji przed zbadaniem ich z użyciem skóry zwierzęcej czy ludzkiej.

Praca ta obejmuje badanie aktywności kwasu oleanolowego, naturalnie występującego triterpenu i jego syntetycznie otrzymanych pochodnych, pod kątem aktywności jako promotorów penetracji. W badaniu zastosowano zbiór sztucznych błon lipofilowych otrzymanych z dodekanolu i kolodium, imitujących strukturę warstwy rogowej naskórka. Na błony aplikowano maści hydrożelowe na bazie Carbopolu 940 z progesteronem i związkami badanymi w stężeniach 1%. Testy prowadzono przez godzinę w temperaturze 37 °C. Ilość zaabsorbowanego leku w poszczególnych warstwach modelu oznaczano metodą spektrofotometryczną i porównywano z próbą odniesienia, którą stanowiła maść bez promotora wchłaniania. Wyniki przedstawiono jako wartość względnego współczynnika wzrostu ilości zaabsorbowanego progesteronu.

Badanie wykazało znaczną aktywność promującą penetrację progesteronu przez niektóre pochodne, porównywalną z działaniem znanego i stosowanego promotora wchłaniania - 1-dodecyloazacykloheptan-2-onu (Azon).

Dodatkowe, wstępne badania zależności struktura-aktywność (SAR) pochodnych kwasu oleanolowego zostały przeprowadzone metodą zbiorów przybliżonych. Analizowane związki poddano procesowi modelowania molekularnego oraz wyznaczono deskryptory opisujące ich strukturę i właściwości. Obliczenia wykonano na komputerach Centrum Informatycznego Trójmiejskiej Akademickiej Sieci Komputerowej. Analiza dostarczyła niewielką ilość wskazówek mogących sugerować, że takie parametry jak m.in. lipofilowość (logP) czy niektóre elementy struktury związków miały wpływ na ich aktywność.

kontakt: maciej.karolak@cm.umk.pl, lukasz.kubik@gumed.edu.pl, Jerzy.Blaszczynski@cs.put.poznan.pl, bcwynar@ump.edu.pl, danuta.partyka@cm.umk.pl, andrzej.winnicki@cm.umk.pl, tomasz.gnatowski@cm.umk.pl, marta.czapiewska@cm.umk.pl

## **Zastosowanie programu komputerowego STEPSelect do optymalizacji leczenia przeciwzakrzepowego heparynami drobnocząsteczkowymi w UCK GUMed**

Tomasz Stefaniak <sup>1</sup>, Mike Scott <sup>2</sup>, Rob Brenninkmeijer <sup>3</sup>, Rob Janknegt <sup>3</sup>, Teresa Frąckowiak <sup>4</sup>, Anita Hogg <sup>2</sup>, Joanna Raczak-Gutknecht <sup>4</sup>, Frans van AnDEL <sup>2</sup>

<sup>1</sup> - Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Endokrynologicznej i Transplantacyjnej GUMed

<sup>2</sup> - Medicines Optimisation Innovation Centre, N. Ireland

<sup>3</sup> - Digitalis MM Ltd, Ireland

<sup>4</sup> - Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki GUMed

Program komputerowy STEPSelect został opracowany przez Krajową Służbę Zdrowia w Irlandii Północnej w 2006 r. Jest z powodzeniem stosowany w celu optymalizacji leczenia i racjonalnego wykorzystania środków leczniczych/urządzeń medycznych w krajach Europy Zachodniej. Przykładowo w Irlandii Północnej, gdzie program ten stanowi istotny element procedury wyboru i zakupu leków (przygotowania receptariuszy szpitalnych), umożliwiło to racjonalizację wydatków na leki o 25% [1]. Założenia programu opierają się na gruntownej wiedzy klinicznej i farmakologicznej (EBM - evidence based medicine) i uwzględniają takie czynniki, jak: możliwe działania uboczne, interakcje leków, poszukiwanie efektywnych dróg podania środków leczniczych, co pozwala na zwiększenie bezpieczeństwa i skuteczności stosowanych leków. Ponadto program umożliwia komitetom terapeutycznym w szpitalach tworzenie i modyfikowanie na bieżąco zasad prowadzonej terapii w oparciu o receptariusz szpitalny. Sprzyja to większej przejrzystości procesu decyzyjnego w doborze odpowiednich leków i usprawnieniu przygotowania receptariuszy szpitalnych. Zasady działania programu STEPSelect obejmują cztery etapy: ocenę kliniczną, oszacowanie czynników wpływających na bezpieczeństwo stosowania leku, ocenę farmakoekonomiczną terapii oraz finalnie dobór właściwego środka leczniczego.

Podjęto próbę wykorzystania programu STEPSelect w Szpitalu Klinicznym UCK GUMed do selekcji odpowiedniego środka z grupy stosowanych na oddziałach heparyn drobnocząsteczkowych. Na podstawie uzyskanych za pomocą tego oprogramowania wyników Komitet Terapeutyczny UCK GUMed dokonał wyboru najwłaściwszej heparyny drobnocząsteczkowej (enoksaparyna) spośród trzech preparatów z tej grupy (enoksaparyna, dalteparyna, nadroparyna) stosowanych w latach poprzednich. Wybór enoksaparyny pozwolił na uzyskanie redukcji kosztów terapii przeciwzakrzepowej o 13.4% w porównaniu z rokiem ubiegłym [2].

Zastosowanie programu STEPSelect w UCK GUMed umożliwia skuteczne i bezpieczne leczenie szpitalne stanów zakrzepowo-zatorowych konkretnym preparatem z grupy heparyn drobnocząsteczkowych przy przewidywalnych nakładach finansowych.

Piśmiennictwo:

[1] MG Scott et al. Eur J Hosp Pharm 2015, 22, 222; [2] T Stefaniak et al. hospitalpharmacyeurope.com 2018, w druku

kontakt: teresafr@gumed.edu.pl, teresafr@amg.gda.pl, joanna.raczak-gutknecht@gumed.edu.pl

## Physical properties of hydrogel capsules made with natural polymers

Bianka Jacyna , Barbara Mikolaszek , Krzysztof Cal

Department of Pharmaceutical Technology, Medical University of Gdańsk

Encapsulation process is used in the pharmaceutical and cosmetic industries. The encapsulated substances are separated from the external environment and can be released by diffusion, dissolution or mechanical damage of the shell. Various polymers are used as material for capsule shells, including natural polymers, for example polysaccharides. In the presence of metal ions some of them tend to form a cross-linked gel. The aim of the present study was to investigate and compare some of the properties of gel capsules obtained with several different polymers. The results will allow to optimize formulation parameters of gel capsules intended for dermal application with dedicated dispensers.

Three types of polysaccharides were used to prepare gel capsules: sodium alginate, carrageenan and gellan gum. Polymer solutions were obtained by dissolving the polysaccharide in purified water and mixing with silicone (0.5%) and Tween (0.5%). Gel capsules were prepared by dropwise addition of polymer solution into a calcium chloride solutions varying the concentration of calcium ion. After few minutes capsules were separated by filtration and rinsed with purified water to wash out the crosslinking agent. The shape and size of gel capsules was microscopically assessed. Diameter of capsules was determined with OptaView X2000 stereoscopic microscope. The capsules hardness was evaluated as resistance to mechanical stress. Formulation was tested using TA.XT Plus texture analyzer.

Encapsulation process resulted in attaining gel capsules made with three types of polymers. Force in the function of distance was determined and presented as a graph. The area under the curve was calculated using TA.XT software and the mechanical resistance was determined. It was determined that the mechanical properties of gel capsules depend on content of calcium chloride in crosslinking solution and the amount of polymers in gelling solution. These differences can be measured and compared using the evaluated method.

kontakt: [biankajacyna@gumed.edu.pl](mailto:biankajacyna@gumed.edu.pl), [barbara.mikolaszek@gumed.edu.pl](mailto:barbara.mikolaszek@gumed.edu.pl), [kcal@gumed.edu.pl](mailto:kcal@gumed.edu.pl)

## Zastosowanie pochodnych celulozy i pochodnych kwasu metakrylowego w modyfikowanych foliach żelatynowych

Bartosz Maciejewski , Małgorzata Sznitowska

Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Pośród wielu zastosowań w technologii farmaceutycznej, żelatyna wykorzystywana jest do wytwarzania kapsulek. Osłonki żelatynowe kapsulek rozpuszczają się szybko w żołądku. Wytwarzanie kapsulek dojelitowych, tzn. nierozpuszczalnych w kwasie solnym, a rozpuszczalnych w środowisku jelit (pH >ok. 6,0) wymaga pokrycia kapsułki odpowiednią polimerową otoczką w procesie powlekania (1), lub też inkorporowania polimerów nierozpuszczalnych w kwasie w kompozycji filmu żelatynowego (2,3). Takie rozwiązania czasami stosowane są dla kapsulek twardych (dwuczęściowych), ale nie są spotykane w kapsułkach miękkich (jednoczęściowych).

Celem niniejszej pracy była modyfikacja rozpuszczalności filmów żelatynowych poprzez dodatek komercyjnie stosowanych w przemyśle farmaceutycznym polimerów nierozpuszczalnych w kwasie (pochodnych celulozy, kopolimerów kwasu metakrylowego, pochodnych poliwinylu). Uzyskanie modyfikowanych filmów żelatynowych pozwoliłoby wykorzystać je do produkcji kapsulek miękkich dojelitowych.

Polimery wprowadzane były do masy żelatynowej w formie proszku lub wodnej dyspersji, bez stosowania dodatku substancji o charakterze alkalicznym. Oceniano czas rozpadu/rozpuszczania w płynach o różnych wartościach pH. Wybrane filmy poddano obserwacji przy użyciu mikroskopii elektronowej oraz mikroskopii sił atomowych. Próbkę wybranych filmów analizowano również metodą różnicowej kalometrii skaningowej. Uzyskane wyniki potwierdzają możliwość otrzymania jednorodnych filmów przy użyciu wodnych dyspersji octanoftalanu celulozy (CAP), niektórych produktów zawierających kopolimery kwasu metakrylowego (MAC), oraz octanoftalanu poliwinylu (PVAP).

Uzyskane filmy „dojelitowe” nie rozpadały się w 0,1 M HCl w czasie 180 minut. Filmy zawierające CAP nie uległy również rozpadowi w środowisku o pH 4,5. Wykazywały natomiast szybki rozpad (poniżej 12 min) w buforze fosforanowym pH 6,8. Analiza mikroskopowa wskazuje, że kompozycje filmów zawierające w składzie CAP oraz MAC, w kontakcie z 0,1 M HCl zachowują spójność struktury przez przynajmniej 60 min. Potwierdza to wcześniejsze wyniki badań dowodzących małej przepuszczalności wody przez modyfikowane filmy poddane działaniu HCl (4).

Piśmiennictwo:

1. Felton L, i in. Physical and enteric properties of soft gelatin capsules coated with Eutragit L30 D-55. *Int J Pharm.* 1995;113:17–24.
2. Hassan EM, Fatmi AA, Chidambaram N. Enteric soft capsules. Patent US 2014/0348879 A1, 2014.
3. Maciejewski B, i in. Gastroresistant gelatin films prepared by addition of cellulose acetate phthalate. *Pharmazie.* 2017;72(6):324–8.
4. Maciejewski B, i in. Microstructure of gastroresistant gelatin-cellulose acetate phthalate films. W: 9th Polish-German Symposium on Pharmaceutical Sciences. Kraków, Polska; 2017.

kontakt: bartosz.maciejewski@gumed.edu.pl, msznito@gumed.edu.pl



## **Oporność komensalnych pałeczek *Haemophilus parainfluenzae* pochodzących z mikrobioty oddechowej na antybiotyki beta-laktamowe oznaczona w oparciu o zalecenia EUCAST i CLSI**

Urszula Kosikowska<sup>1</sup>, Sylwia Andrzejczuk<sup>2</sup>, Edyta Chwiejczak<sup>3</sup>, Anna Malm<sup>2</sup>

<sup>1</sup> - Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, ul. dra W. Chodźki 1

<sup>2</sup> - Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<sup>3</sup> - Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie (słuchacz studiów doktoranckich)

Na cechy mikrobioty oddechowej mogą wpływać różne czynniki, w tym np. kontakt z pożywieniem, środkami higieny lub przyjmowanymi lekami. Celem badań była ocena różnic w klasyfikacji opornych na beta-laktamy pałeczek *Haemophilus parainfluenzae* pochodzących z mikrobioty oddechowej w zależności od rekomendacji używanych do interpretacji wyników.

Badaniami objęto 87 izolatów *H. parainfluenzae*, które pochodziły z błon śluzowych nosa, gardła i nosogardzieli i nie były identyfikowane jako czynniki etiologiczne infekcji. Antybiogramy wykonywano metodą dyfuzyjno-krażkową. Wykorzystywano podłoża i warunki inkubacji oraz interpretowano wyniki zgodnie z europejskimi rekomendacjami EUCAST i dla porównania z amerykańskimi rekomendacjami CLSI. Do badań wykorzystywano ampicylinę, cefuroksym, cefotaksym imipenem, meropenem, amoksycylinę z kwasem klawulanowym i ampicylinę z sulbaktamem. Zdolność syntezy beta-laktamaz oceniano testem cefinazowym. Wykazano istotnie statystycznie ( $p < 0,0001$ ) różnice w odsetku izolatów klasyfikowanych jako oporne na beta-laktamy w zależności od wykorzystywanych kryteriów interpretacji. Wśród 87 badanych izolatów, zgodnie z EUCAST i CLSI, odsetek szczepów opornych na ampicylinę wynosił odpowiednio około 37% i 8%, na amoksycylinę z kwasem klawulanowym – 2.3% i 9.2%, na ampicylinę z sulbaktamem – 9.2% i 5.7%, na cefalosporyny – 48.3% i 20.7% oraz na karbapenemy – 12.6% i 6.9%. Tylko 12/87 (14%) izolatów wytwarzało beta-laktamazy, co wskazuje, że większość szczepów należało do fenotypów beta-laktamazo-ujemnych.

Wykazano, że wśród komensalnych pałeczek hemofilnych izolowanych z mikrobioty oddechowej często występują szczepy oporne na antybiotyki, w tym na powszechnie wykorzystywane w leczeniu beta-laktamy. Wykazane istotnie statystycznie i zależne od użytych zaleceń EUCAST lub CLSI różnice w klasyfikacji tych szczepów jako oporne wskazują na konieczność ustalenia jednolitych i niezależnych od rejonu geograficznego kryteriów oceny lekowrażliwości. Dane otrzymane na przykładzie *H. parainfluenzae* sugerują, że drobnoustroje te, nawet jeśli nie zostały zaklasyfikowane jako fenotypowo oporne ze względu na kryteria interpretacji, w rzeczywistości jako składniki mikrobioty mogą być źródłem genów oporności dla patogenów oraz potencjalną przyczyną niepowodzeń terapeutycznych.

kontakt: urszula.kosikowska@umlub.pl, sylwia.andrzejczuk@umlub.pl, edytachwiejczak@interia.pl, anna.malm@umlub.pl

## Hemostatyczna funkcja płytek krwi

Ewelina Edyta Kolańska-Dams, Ewa Żekanowska

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Katedra Patofizjologii, Zakład Zaburzeń Hemostazy

Płytki krwi (trombocyty) jako trzecia frakcja krwi, obok erytrocytów i leukocytów, odgrywają wiele istotnych dla organizmu funkcji. Podstawową rolą jest udział w procesie hemostazy. Wymienić należy także aktywność wydzielniczą płytek krwi, udział w aktywacji reakcji zapalnej, wspieranie mechanizmów obronnych gospodarza poprzez promowanie odporności wrodzonej i nabytej, potencjał regeneracyjny oraz uczestnictwo w procesach angiogenezy i gojeniu ran. Udział w hemostazie pierwotnej związany jest z wytwarzaniem czopu płytkowego. Hemostaza pierwotna przebiega w trzech etapach: adhezji, sekrecji i agregacji. Hemostaza wtórna zachodzi głównie poprzez udostępnianie fosfolipidów błonowych, na powierzchni których dochodzi do aktywacji osoczowych czynników krzepnięcia. Wybrane mechanizmy aktywacji i agregacji płytek krwi stanowią punkty uchwytu działania leków przeciwplatek, na przykład receptor dla prostacykliny (IP) oraz fosfodiesterazy płytkowej (PDE3).

kontakt: ewelina\_kolanska@wp.pl, ewelkok@wp.pl

## Potencjał regeneracyjny płytek krwi

Ewelina Edyta Kolańska-Dams , Ewa Żekanowska

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Katedra Patofizjologii, Zakład Zaburzeń Hemostazy

Płytki krwi (trombocyty) jako trzecia frakcja krwi, obok erytrocytów i leukocytów, odgrywają wiele istotnych dla organizmu funkcji. Podstawową rolą jest udział w procesie hemostazy. Wymienić należy także aktywność wydzielniczą płytek krwi, udział w aktywacji reakcji zapalnej, wspieranie mechanizmów obronnych gospodarza poprzez promowanie odporności wrodzonej i nabytej, potencjał regeneracyjny oraz uczestnictwo w procesach angiogenezy i gojeniu ran. Płytki krwi zawierają wiele aktywnych biologicznie związków, które są uwalniane w miejscu uszkodzenia tkanki. Trombocyty w cytosolu zawierają liczne granule – najliczniejsze są  $\alpha$ -ziarnistości. W ziarnistościach- $\alpha$  wykazano obecność ponad 30 czynników wzrostu. Do najważniejszych należą płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF), transformujący czynnik wzrostu (TGF- $\beta$ ), czynnik wzrostu śróbłonka naczyń (VEGF), naskórkowy czynnik wzrostu (EGF) oraz czynnik wzrostu fibroblastów (FGF). Obecność tak licznych czynników wzrostu zapoczątkowała szereg badań nad zastosowaniem koncentratów osocza bogatopłytkowego (PRP) jako środka leczniczego. Dziedzinami, w których można by wykorzystać właściwości regeneracyjne osocza są: stomatologia, ortopedia, medycyna sportowa czy chirurgia plastyczna.

kontakt: ewelina\_kolanska@wp.pl, ewelkok@wp.pl

## Ciężka zagrażająca życiu hipokaliemia

Ewelina Edyta Kolańska-Dams , Ewa Żekanowska

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Katedra Patofizjologii, Zakład Zaburzeń Hemostazy

Jony pierwiastków pełnią istotną rolę w różnorodnych procesach. Szczególnie ważne dla organizmu są jony sodowe i potasowe. Skupiając uwagę na jonach potasowych należy podkreślić, że dystrybucja potasu związana jest z utrzymaniem równowagi wodnej i kwasowo-zasadowej. Prawidłowe stężenie potasu w surowicy wynosi 3,5-5,5 mmol/l. Niedobór potasu nazywamy hipokaliemią (według starszych źródeł również hipopotasemią). Za ciężką, zagrażającą życiu hipokaliemię uznajemy poziom potasu poniżej 2,5 mmol/l (według niektórych źródeł poniżej 2 mmol/l). Do najczęstszych przyczyn hipokaliemii należy stosowanie diuretyków pętlowych i tiazydowych oraz leków przeczyszczających. Wśród innych leków i substancji powodujących hipokaliemię należy wymienić gliko- i mineralokortykoidy (aldosteron), beta-2-mimetyki, amfoterycyna B, cisplatyna, aminoglikozydy, sirolimus, zioła chińskie, toluen, żywice wiążące potas oraz intensywna insulinoterapia. Odsetek hospitalizowanych pacjentów z ciężką hipokaliemią (<2,5 mmol/l) stanowi około 0,45% (4,5%). Aktualnie, zgodnie ze wskazaniem, można korzystać z licznych preparatów potasu (na przykład roztwory dożylnie potasu, tabletki/mikrokapsułki o kontrolowanym uwalnianiu w otoczkę żelatynowej, syropy, tabletki musujące czy tabletki o przedłużonym działaniu).

kontakt: ewelina\_kolanska@wp.pl, ewelkok@wp.pl

## JAK SKUTECZNIE LIOFILIZOWAĆ ZAWIESINY SLM? BADANIA WSTĘPNE FORMULACJI PLACEBO

Eliza Wolska , Katarzyna Łukasz , Małgorzata Sznitowska

Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny

Stale lipidowe mikrocząstki (Solid Lipid Microparticles, SLM) są biogodnym nośnikiem, głównie dla lipofilowych substancji czynnych, wykazującym przedłużone uwalnianie jak również mogącym chronicznie utrzymywać substancję aktywną. Zawiesiny SLM mogą być podawane różnymi drogami, w tym pozajelitowo czy miejscowo, także do oka. Wodne dyspersje SLM, w zależności od składu i substancji czynnej, w trakcie przechowywania mogą jednak ulegać niekorzystnym zjawiskom, takim jak aglomeracja cząstek czy zmiana dystrybucji substancji czynnej w formulacji skutkująca na przykład jej przedwczesnym uwolnieniem z matrycy lipidowej [1, 2]. Procesom tym można zapobiegać usuwając wodę z układu poprzez suszenie sublimacyjne i przechowując liposfery w formie suchej. Proces liofilizacji jest powszechnie stosowany w technologii farmaceutycznej i pozwala na wyeliminowanie problemów związanych z brakiem trwałości fizycznej i/lub chemicznej zarówno substancji czynnych jak i postaci leku.

Celem prowadzonych badań był dobór odpowiednich do liofilizacji substancji pomocniczych i modyfikacja składu badanych dyspersji SLM w taki sposób, aby możliwe było skuteczne przeprowadzenie procesu suszenia sublimacyjnego, a otrzymany liofilizat łatwo ulegał redispersji do jednorodnej zawiesiny o wielkości cząstek podobnej jak przed procesem suszenia.

Liofilizacji poddawano zawiesiny SLM z dodatkiem wybranych lioprotektantów (mannitol, glukoza, maltoza, sacharoza, trehaloza) w różnych stężeniach. Otrzymane liofilizaty poddawano następnie uwodnieniu oceniając łatwość prowadzenia redispersji, jednorodność odtwarzanej dyspersji SLM, a przede wszystkim wielkość cząstek w porównaniu do formulacji neliofilizowanych.

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń wskazują, że możliwe jest suszenie sublimacyjne zawiesin SLM, a łatwość rehydratacji i właściwości odtworzonych dyspersji zależą od rodzaju i stężenia zastosowanych lioprotektantów, a także warunków prowadzenia procesu liofilizacji i sposobu redyspergowania liofilizatu w wodzie (mieszanie, ultradźwięki).

### Piśmiennictwo:

1. Wolska E., Sznitowska M., Int J Pharm 2013; 441: 449-457

2. Sznitowska M., et al., Eur J Pharm Biopharm 2017; 110: 24-30

Zadanie badawcze sfinansowane ze środków MNiSW na rozwój młodych naukowców "Opracowanie i optymalizacja procesu liofilizacji i redispersji zawiesiny mikrosfer lipidowych SLM z wybranymi substancjami czynnymi".

kontakt: eliw@gumed.edu.pl, katarzyna.krzeminska@gumed.edu.pl, msnito@gumed.edu.pl

## **The use of 2DTLC along with HPLC-ESI-MS in the quantitative analysis of lutein-containing dietary supplements.**

Piotr Migas , Natalia Stempka , Mirosława Krauze-Baranowska

Katedra i Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych

Lutein is the main carotenoid of xanthophylls group present in the retina. However, it is an exogenous substance obtained mainly from fruits and vegetables. It was found out that supplementation of diet with 6-20mg of lutein per day significantly reduces the risk of age-related macular degeneration (AMD). The above data have a great influence on the significant increase in the number of lutein-containing dietary supplements.

Lutein is a very unstable compound. Therefore dietary supplements contain mainly lutein esters with fatty acids which are more stable and release lutein in the gastrointestinal tract. However, a number of preparations contain free lutein, too.

Lability and lipophilic character of lutein have a great impact on its assessment. Lutein is decomposed both during extraction and storage of samples. In addition, the lipophilic character of lutein makes that it is extracted together with lipids which are the main ballasts. Therefore assessments of lutein are often preceded by saponification of samples. During the saponification process, fatty acids are removed from the extracts and lutein esters are decomposed. However, heating of samples and the addition of alkali have a great influence on lutein structure, too.

The aim of the work was the optimization of a method useful in the quality assessment of lutein-containing dietary supplements. Two-dimensional TLC (2D-TLC) combining purification and separation of lutein was used for this purpose. The qualitative analysis was based on co-chromatography with standards, UV and ESI-MS spectra analysis of separated compounds. Densitometric studies of chromatograms were used in the quantitative analysis of lutein in eight dietary supplements.

kontakt: pmig@gumed.edu.pl, natalia.stempka@gmail.com, mirosława.krauze-baranowska@gumed.edu.pl

## **Jakość badania osadu moczu w polskich laboratoriach na podstawie wyników programu zewnętrznej oceny jakości (EQA)**

Agnieszka Ćwiklińska<sup>1</sup>, Robert Kowalski<sup>2</sup>, Barbara Kortas-Stempak<sup>1</sup>, Agnieszka Kuchta<sup>1</sup>, Aleksandra Fijałkowska<sup>3</sup>, Gabriela Bednarczuk, Maciej Jankowski<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> - Apteka Szpitalna, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk

<sup>3</sup> - Systemy Oceny Wiarygodności Analiz Medycznych SOWA-med, Sp. z o.o., Gdańsk

Badanie elementów upostaciowanych moczu (tzw. badanie osadu moczu) jest jednym z podstawowych badań laboratoryjnych wykorzystywanych w diagnostyce zaburzeń czynności nerek i dróg moczowych. W laboratoriach stosuje się różne procedury badania osadu moczu, część z nich nie jest wystandaryzowana. Celem pracy była ocena jakości wyników badania osadu moczu w polskich laboratoriach uczestniczących w międzynarodowym programie zewnętrznej oceny jakości (EQA) w latach 2017-18, po kilku latach prowadzenia działań edukacyjnych ukierunkowanych na standaryzację procedur i przed ogłoszeniem przez Polskie Towarzystwo Diagnostyki Laboratoryjnej (PTDL) wytycznych odnośnie tego badania dla polskich laboratoriów.

Analizie poddano 344 wyniki zliczania erytrocytów (RBC) i leukocytów (WBC), uzyskane przez polskie laboratoria w 5 sprawdzianach EQA, organizowanych przez Labquality (Finlandia) od stycznia 2017 do kwietnia 2018 roku. Wyniki zgrupowano wg zastosowanej metody badania, tj. grupa A – badanie moczu wirowanego pod szkiełkiem nakrywkowym, B – badanie moczu wirowanego w kamerze, C – badanie moczu niewirowanego w kamerze, D – metoda automatyczna. Dla wyników RBC i WBC w każdej z grup w sprawdzianie wyznaczano współczynnik zmienności (WZ) i oceniano odsetek (%) wyników w zakresie dopuszczalnym oraz przygotowywano wykresy Youdena. Znamienność statystyczną ustalono na poziomie  $p < 0.05$ .

35% uczestników stosowało automatyczną metodę badania osadu moczu (D), 65% – metody manualne: 40% – metodę A, 15% – metodę B i 10% – metodę C. WZ dla metod A i B był 2-krotnie wyższy, w porównaniu do metody D ( $p < 0.05$ ). Dla metod automatycznych odsetek wyników poza zakresem dopuszczalnym wyniósł 17%, dla metod manualnych – ponad 30%. Ponadto, w przypadku metod manualnych na podstawie wykresów Youdena stwierdzono silną korelację dodatnią ( $r > 0.9$ ;  $p < 0.001$ ) między wynikami WBC i RBC, co wskazuje na wpływ stosowanej w laboratorium procedury badania na uzyskiwane wyniki.

Jakość badania osadu moczu za pomocą metod manualnych jest ciągle niesatysfakcjonująca. Wdrożenie wytycznych mających na celu standaryzację stosowanych w laboratoriach procedur jest potrzebne i może przyczynić się do poprawy jakości wyników analizy.

kontakt: [agnieszka.cwiklinska@gumed.edu.pl](mailto:agnieszka.cwiklinska@gumed.edu.pl), [robert.kowalski@gumed.edu.pl](mailto:robert.kowalski@gumed.edu.pl), [barbara.kortas-stempak@gumed.edu.pl](mailto:barbara.kortas-stempak@gumed.edu.pl), [agnieszka.kuchta@gumed.edu.pl](mailto:agnieszka.kuchta@gumed.edu.pl), [aleksfijalkowska@wp.pl](mailto:aleksfijalkowska@wp.pl), [gabrielabednarczuk@wp.pl](mailto:gabrielabednarczuk@wp.pl), [maciej.jankowski@gumed.edu.pl](mailto:maciej.jankowski@gumed.edu.pl)

## HPLC-DAD-ESI/MS analiza metabolitów wtórnych w gatunkach z rodzaju *Arnica* L.

Mirosława Krauze-Baranowska , Sylwia Godlewska , Barbara Sparzak-Stefanowska , Loretta Pobłocka-Olech ,  
Katarzyna Kimel

Katedra i Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych Gdański Uniwersytet Medyczny

Rodzaj *Arnica* L. (*Compositae*) dostarcza dwóch gatunków o znaczeniu leczniczym, mianowicie *Arnica montana* i *Arnica chamissonis*. Surowcem farmakopealnym jest kwiat *Arnicae flos*, którego kompozycja chemiczna jest w dużym stopniu rozpoznana. Wyciągi z kwiatów są składnikami krajowych produktów leczniczych o działaniu przeciwzapalnym, przeciwobrzękowym, stosowanych zewnętrznie. Natomiast nie jest znany skład chemiczny jako surowca leczniczego całej rośliny, wykorzystywanej do produkcji nalewki macierzystej *Arnica TM*, stosowanej zarówno wewnętrznie, w odpowiednich potencjach jak i zewnętrznie (produkt alopacyjny). Metodą HPLC-DAD-ESI/MS rozdzielono i rozpoznano związki z grupy flawonoidów, kwasów fenolowych (około 41 związków) oraz triterpenowych laktonów (8 związków) w badanym materiale roślinnym stanowiącym wyciągi alkoholowe z kwiatów *A. montana* i *A. chamissonis* (surowiec pochodzący z upraw) oraz nalewce macierzystej *Arnica TM*, otrzymanej z *A. montana* (surowiec – cała roślina zebrany ze stanowisk naturalnych). Proste fenole i polifenole rozdzielano na kolumnie Kinetex PFP (2,6  $\mu$ m, 100 x 4,6 mm) (UV  $\lambda$ -330 nm), estry helenaliny na dwóch kolumnach Kinetex C18 (2,6  $\mu$ m, 4,60 x 100 mm) połączonych szeregowo (UV  $\lambda$ -225 nm), helenalinę na kolumnie Kinetex C18 (2,6  $\mu$ m, 4,60 x 100 mm) (UV  $\lambda$ -225 nm). Stosowano elucję gradientową według opracowanych trzech programów (programy I-III) dla mieszanin H<sub>2</sub>O:MeOH, ACN:H<sub>2</sub>O:HCOOH.

Wykazano, że nalewka *Arnica TM* jest bogatym źródłem kwasów pochodnych kwasu kawowego – mono- i di-kawoilochinowych oraz laktonów seskwiterpenowych pochodnych helenaliny. Zawartość laktonów seskwiterpenowych, pochodnych helenaliny w nalewce *Arnica TM* była najwyższa spośród badanego materiału roślinnego – kwiatów *A. montana* i *A. chamissonis*. Wysoka zawartość tych związków, wykazujących aktywność przeciwzapalną (kwasy pochodne kwasu kawowego i laktony seskwiterpenowe) i antyoksydacyjną (kwasy pochodne kwasu kawowego) uzasadnia stosowanie nalewki *Arnica TM* jako leku przeciwzapalnego.

kontakt: mirosława.krauze-baranowska@gumed.edu.pl, sylwia.godlewska@gumed.edu.pl, barbara.sparzak-stefanowska@gumed.edu.pl, loretta.poblocka-olech@gumed.edu.pl, katarzyna.kimel@gumed.edu.pl



## Jakościowe zmiany cząstek lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek leczonych zachowawczo

Agnieszka Kuchta <sup>1</sup>, Agnieszka Ćwiklińska <sup>1</sup>, Monika Cackowska <sup>2</sup>, Ewa Wieczorek <sup>1</sup>, Barbara Kortas-Stempak <sup>1</sup>, Anna Gliwińska <sup>1</sup>, Alicja Dębska-Ślizień <sup>2</sup>, Kamil Dąbkowski <sup>1</sup>, Kornelia Sałaga-Zaleska <sup>1</sup>, Ewa Król <sup>2</sup>, Maciej Jankowski <sup>1</sup>

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

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

Zaburzenia metabolizmu lipoprotein są jednym z podstawowych czynników zwiększających ryzyko incydentów sercowo-naczyniowych u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek (PChN). Dyslipidemia u pacjentów z PChN, obok podwyższonego stężenia triglicerydów (TG), charakteryzuje się obniżonym stężeniem cholesterolu lipoprotein wysokiej gęstości (C-HDL), cząstek o właściwościach przeciwmiażdżycowych. Badania epidemiologiczne nie wykazują jednak związku pomiędzy C-HDL a rozwojem chorób sercowo-naczyniowych w tej grupie chorych. Pozwala to przypuszczać, że w chorobach nerek, obok ilościowych zmian, następują jakościowe modyfikacje cząstek tej frakcji lipoprotein, co może mieć kluczowe znaczenie dla rozwoju miażdżycy.

Celem prezentowanego projektu była ocena parametrów, które mogą dać dodatkowe informacje o jakości cząstek HDL u pacjentów z PChN.

W badaniu wzięło udział 68 chorych w stadium PChN 3a – 5, leczonych zachowawczo, u których, poza podstawowym profilem lipidowym (cholesterol całkowity, cholesterol LDL, C-HDL, TG) oznaczono stężenie frakcji HDL zawierającej apo A-I a niezawierającej apo A-II (LpA-1), stężenie prekursorowych cząstek HDL (Preβ1-HDL) oraz aktywność antyoksydacyjnego enzymu związanego z HDL – paraoksonazy-1 (PON-1). W kolejnych stadiach PChN nie zaobserwowano różnic w stężeniu LpA-I (stadium 3a: 57±19; stadium 3b: 54±15; stadium 4: 52±14; mg/dl; średnia±OS p=0.49) i aktywności PON-1 (stadium 3a: 102 [53-150]; stadium 3b: 83 [52-152]; stadium 4: 113 [80-130];U/l; mediana [25-75 percentyl]; p=0.89). Stężenie frakcji Preβ1-HDL i poziom współczynnika Preβ1-HDL/LpA-I były jednak istotnie powiązane z postępem PChN, ocenianym na podstawie eGFR, także po uwzględnieniu takich parametrów jak wiek, płeć, stężenie TG, C-HDL i terapia statynami (odpowiednio  $\beta=-0.41$ ,  $p<0.001$ ;  $\beta=-0.33$ ,  $p=0.001$ ).

Uzyskane wyniki potwierdzają hipotezę o zmianach w obrębie frakcji HDL wraz z progresją PChN. Stężenie Preβ1-HDL i poziom współczynnika Preβ1-HDL/LpA-I mogą być rozważane jako dodatkowe wskaźniki w szacowaniu ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych u chorych z PChN.

kontakt: agakuchta@gumed.edu.pl, agnieszka.cwiklinska@gumed.edu.pl, monika.cackowska@gumed.edu.pl, ewa.wieczorek@gumed.edu.pl, barabara.kortas-stempak@gumed.edu.pl, anna.gliwinska@gumed.edu.pl, alicja.debska-slizien@gumed.edu.pl, kamil.dabkowski@gumed.edu.pl, kornelia.salaga-zaleska@gumed.edu.pl, ewa.krol@gumed.edu.pl, maciej.jankowski@gumed.edu.pl

## Opracowanie metody rozdzielania modyfikowanych nukleozydów i deoksynukleozydów za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej

Małgorzata Patejko , Wiktoria Struck-Lewicka , Michał J. Markuszewski , Danuta Siluk

Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki

Od kilkudziesięciu lat prowadzone są badania nad znaczeniem modyfikowanych nukleozydów oraz deoksynukleozydów w rozwoju stanów patofizjologicznych. W ramach tych badań wykazano zjawisko szybszego metabolizmu RNA oraz DNA w takich stanach patologicznych jak zaburzenia układu immunologicznego czy choroby nowotworowe. Efektem zmian posttranskrypcyjnych cząsteczek RNA są modyfikowane nukleozydy. Nie ulegają one dalszemu metabolizmowi i nie mogą być ponownie wykorzystane do syntezy RNA. Natomiast modyfikowane deoksynukleozydy powstają w wyniku oksydacyjnego rozpadu i przemian DNA. Z tego powodu związki te mogą być wskaźnikami stresu oksydacyjnego i procesów, w których obserwuje się wzmożony rozpad DNA. Zjawisko stresu oksydacyjnego obserwuje się między innymi w zmianach neurodegeneracyjnych czy chorobach nowotworowych. Ponieważ modyfikowane nukleozydy i deoksynukleozydy są wydalane z moczem, można spodziewać się korelacji pomiędzy zwiększonym metabolizmem cząsteczek RNA oraz DNA w stanach patologicznych a ich podwyższonym stężeniem w tej matrycy biologicznej. W dotychczasowych doniesieniach literaturowych zaobserwowano podwyższone stężenia modyfikowanych nukleozydów oraz deoksynukleozydów w chorobach nowotworowych takich jak: rak wątrobowokomórkowy, rak piersi, białaczka, rak jamy nosowo-gardłowej.

Celem projektu jest ocena modyfikowanych deoksynukleozydów oraz nukleozydów jako potencjalnych związków wskazujących na obecność nowotworu pęcherza moczowego (ang. bladder cancer, BCa). Cel ten będzie realizowany poprzez prospektywną analizę próbek moczu oraz osocza pobranych od pacjentów z BCa w różnych punktach czasowych, przed, jak i po operacji wycięcia guza. Na podstawie poprzednich badań wyselekcjonowano 11 związków, które będą monitorowane: pseudourydyna, urydyna, 3-metylourydyna, inozyna, 6-metyloadenozyna, N2-metyloguanozyna, N,N-dimetyloguanozyna, metyloadenozyna, 5-deoksyadenozyna, 8-hydroksy-2-deoksyguanozyna, 2-deoksyguanozyna. Próbkę będą analizowane z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas z analizatorem typu potrójny kwadrupol. Pierwszym etapem badania było opracowanie metody rozdzielania modyfikowanych nukleozydów i deoksynukleozydów, który zrealizowano z wykorzystaniem techniki ultra wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem spektrofotometrycznym z matrycą diodową. Porównano i wybrano odpowiednie parametry chromatograficzne takie jak: skład fazy stacjonarnej i ruchomej, temperatura kolumny, szybkość przepływu fazy ruchomej, objętość nastrzyku, gradient fazy ruchomej.

Piśmiennictwo:

1. M. Patejko, W. Struck-Lewicka, D. Siluk, M. Waszczuk-Jankowska, M. J. Markuszewski, Urinary nucleosides and deoxynucleosides, *Adv. Clin. Chem.* 2018; vol. 83, s. 1-51

Podziękowania: Badania zostały sfinansowane z funduszy dla Młodych Naukowców (MN 01-0361/08/502)

kontakt: malgorzata.patejko@gumed.edu.pl, wiktoria.struck-lewicka@gumed.edu.pl, michal.markuszewski@gumed.edu.pl, danuta.siluk@gumed.edu.pl

## Badanie przenikania timololu przez soczewki kontaktowe

Marta Czapiewska, Piotr Bilski, Aleksandra Kruszka, Andrzej Winnicki, Tomasz Gnatowski, Maciej Karolak

Katedra Technologii Postaci Leku, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Zagadnienie szybkości i stopnia wchłaniania leku do tkanek oka jest ważnym problemem dotyczącym pacjentów cierpiących na różnorodne schorzenia narządu wzroku. Wchłanianie substancji leczniczej do oka ma miejsce w największym stopniu przez rogówkę, a także przez spojówkę i twardówkę. Występowanie barier takich jak: krew-siatkówka, krew-ciecz wodnista oraz krew-ciało szkliste umożliwia wykorzystanie leków o działaniu miejscowym w celu leczenia schorzeń narządu wzroku. Obecnie znaczna grupa pacjentów korzysta z soczewek kontaktowych, nosząc je często stale. Soczewki kontaktowe stanowią kolejną barierę dla przenikania kropli ocznych do tkanek oka.

W celu zbadania wpływu pojawienia się kolejnej bariery, jaką jest soczewka kontaktowa, oceniono przenikanie maleinianu timololu przez soczewki o mocach -1,75 oraz -7,0 wykonane z dwóch różnych polimerów: narafilconu i senofilconu oraz błonę dializacyjną Cuprophan. Badanie to miało na celu zweryfikować, czy zachodzi konieczność zdejmowania soczewek kontaktowych przez pacjentów jednocześnie stosujących krople do oczu z maleinianem timololu.

Badanie przenikalności leku przeprowadzono przy użyciu zmodyfikowanego standardowego aparatu do badania przenikania, do którego wprowadzono silikonową uszczelkę. Opracowano i poddano walidacji metodę ilościowego oznaczania badanej substancji w komorze akceptorowej oraz zbadano wpływ takich parametrów jak mocy soczewek oraz grubości materiału soczewki na stopień przenikalności substancji leczniczej.

Badanie prowadzono w dwóch aparatach do przenikania, a jako płyn akceptorowy zastosowano wodę destylowaną. Najlepszą przenikalność uzyskano dla błony dializacyjnej Cuprophan. Wykonano 6 serii pomiarów dla każdego rodzaju soczewek kontaktowych oraz wyznaczono wartości przepływu i przenikalności maleinianu timololu. Do oznaczenia stężenia substancji leczniczej w płynie akceptorowym wykorzystano metodę spektrofotometrii UV-VIS.

Badanie wykazało, że jednoczesne noszenie soczewek kontaktowych i stosowanie kropli do oczu zawierających maleinian timololu nie jest wskazane. Średnia wartość przenikalności dla poszczególnych soczewek kontaktowych po 6 godzinach prowadzenia eksperymentu wyniosła odpowiednio: 0,5870  $\mu\text{mola/cm}^2$ , 0,6898  $\mu\text{mola/cm}^2$ , 0,6415  $\mu\text{mola/cm}^2$ , 0,9796  $\mu\text{mola/cm}^2$ . Wyżej podane wartości potwierdzają słabą dyfuzję substancji leczniczej do płynu akceptorowego, a soczewki wykonane narafilconu i senofilconu stanowią poważną barierę dla maleinianu timololu.

kontakt: marta.czapiewska@cm.umk.pl, bilski\_piotr@cm.umk.pl, kruszka.aleksandra@gmail.com, andrzej.winnicki@cm.umk.pl, tomasz.gnatowski@cm.umk.pl, maciej.karolak@cm.umk.pl

## **Aktywność układu purynergicznego – zależnego od diadenozyno 5',5''-P1,P4-tetrafosforanu (Ap4A) - w regulacji hemodynamiki nerek szczurów z doświadczalnie wywołaną cukrzycą: rola receptorów adenozyne A1**

Ewelina Kreft<sup>1</sup>, Robert Kowalski<sup>2</sup>, Barbara Kortas-Stempak<sup>3</sup>, Agnieszka Ćwiklińska<sup>3</sup>, Agnieszka Kuchta<sup>3</sup>, Anna Gliwińska<sup>3</sup>, Maciej Jankowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - 1. Zakład Chemii Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, 2. Pracownia Molekularnej i Komórkowej Nefrologii Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN

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

<sup>3</sup> - Zakład Chemii Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Jednym z powikłań cukrzycy jest zaburzenie funkcji nerek i hemodynamiki wewnątrznerkowej. ATP jak również diadenozyno 5',5''-P1,P4-tetrafosforan (Ap4A) są naturalnymi agonistami receptorów nukleotydujących, które regulują hemodynamikę i funkcję nerek. Wcześniej otrzymane wyniki doświadczeń wskazują na podwyższoną aktywność hydrolityczną względem ATP, ADP i AMP homogenatu kory nerek oraz izolowanych błon komórkowych nerek szczurów cukrzycowych bowiem w tej grupie zwierząt stwierdzono obniżone stężenie ATP z jednoczesnym zwiększonym stężeniem adenozyne w płynie śródmiąższowym nerek. Celem obecnych badań jest ocena współdziałania układu purynergicznego zależnego od Ap4A i adenozyne w rozwoju zaburzeń wewnątrznerkowej hemodynamiki u zwierząt z streptozotocyną-indukowaną cukrzycą.

Stosując model doświadczeń klirensowych badano - w oparciu o pomiar parametrów hemodynamiki wewnątrznerkowej (przepływ krwi przez korę - CBF, i rdzeń nerki - MBF), filtracji kłębuszkowej (GFR) - odpowiedź nerek szczurów cukrzycowych na podany do krążenia ogólnego (i.v., Ap4A, 2µmol/kg + 20 nmol/kg/min). Aby ocenić potencjalną rolę endogennej adenozyne w nerkowym działaniu Ap4A, działanie tego nukleotydu badano w czasie dożylniej infuzji antagonisty receptorów adenozyne A1 - 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine (DPCPX).

Ap4A podany do krążenia ogólnego szczurom normoglikemicznym zmniejszał GFR (1,44 ml/min ±0,09 vs 1,13 ml/min ±0,11; p<0,05) i jednocześnie zwiększał CBF (615 PU ±13 vs 711 PU ±19; p<0,05) nie wpływając na MBF. Jednakże, nie stwierdzono wpływu Ap4A na GFR, CBF i MBF u szczurów cukrzycowych. Ap4A podany szczurom cukrzycowym w czasie dożylniej infuzji DPCPX – powodował zwiększenie przepływu krwi (424 PU ±15 vs 497 PU ±20; p<0,05) i obniżenie tempa filtracji kłębuszkowej (1,07 ml/min ±0,03 vs 0,91 ml/min ±0,04) w stopniu podobnym do zmian wywołanych infuzją tylko Ap4A u szczurów kontrolnych.

Wydaje się prawdopodobne, że w nerkach cukrzycowych regulacyjna rola układu purynergicznego – zależnego od Ap4A – znajdują się pod hamującym wpływem receptorów A1.

Finansowanie St-47

kontakt: ekreft@gumed.edu.pl, rkowalski@gumed.edu.pl, barbara.kortas-stempak@gumed.edu.pl, agnieszka.cwiklinska@gumed.edu.pl, agnieszka.kuchta@gumed.edu.pl, anna.gliwinska@gumed.edu.pl, majank@gumed.edu.pl

## Ocena możliwości otrzymywania lametek rozpadających się w jamie ustnej z inkorporowanymi cząstkami stałymi

Katarzyna Centkowska

Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej

Lamelki szybko rozpadające się w jamie ustnej (ODF – orodispersible films) to nowoczesna jednodawkowa stała postać leku, aplikowana bezpośrednio na język. Są to cienkie jedno- lub wielowarstwowe polimerowe filmy [1]. Ze względów technologicznych obecnie jest to postać leku do której substancje najczęściej wprowadzane są do matrycy polimerowej w postaci roztworu [2]. Przedmiotem prowadzonych badań była ocena możliwości otrzymania lametek o odpowiednich właściwościach fizycznych z inkorporowanymi cząstkami stałymi, charakteryzującymi się różną wielkością. Inkorporowano modelową, trudno rozpuszczalną, substancję leczniczą - loratadynę (LO 3 – 8  $\mu\text{m}$ ). Oceniono również możliwość otrzymania lametek z dużymi cząstkami - inkorporowano peletki placebo o wielkości 100  $\mu\text{m}$  i 200  $\mu\text{m}$ . W badaniach jako materiał matrycy polimerowej użyto HPMC oraz glicerolu lub/i makrogolu jako plastyfikatora. Filmy otrzymywano metodą wylewania stosując aplikator szczelinowy (300 – 1000  $\mu\text{m}$ ). Badano zależność pomiędzy zawartością inkorporowanych cząstek stałych (LO 10 – 40% wzg. suchej masy; peletki 30 – 100% w/w wzg. masy polimeru) i właściwościami gotowej postaci leku. Stwierdzono, że możliwe było otrzymanie homogennych lametek zarówno ze zmikronizowaną LO jak i peletkami. Odpowiednie rozproszenie cząstek stałych uzyskano stosując mieszalnik planetarny Thinky ARE-250. Homogenne filmy z LO o wartości akceptacji AV < 15 uzyskano niezależnie od wprowadzonego stężenia loratadyny (10-40%). Filmy z peletkami w stężeniu  $\leq 50\%$ , niezależnie od wielkości cząstek granulatu spełniały wymagania badania jednolitości masy. Inkorporacja cząstek stałych powodowała zmniejszenie wytrzymałości i elastyczności filmów polimerowych zależne od ich wielkości i stężenia w matrycy. Mimo to makroskopowe parametry aplikacyjne były zadowalające. Możliwe jest otrzymanie homogennych filmów z substancją inkorporowaną w formie stałych cząstek oraz potencjalna inkorporacja substancji czynnej w formie granulatu.

### Piśmiennictwo:

1. Centkowska K, Przybicka M, Farmacja Polska. 2013; 69: 119-125.
2. Woertz C, Kleinebudde P, Int J Pharm. 2015; 493: 134-145.

kontakt: katarzyna.centkowska@gumed.edu.pl

## Wpływ lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) i subpopulacji HDL na efektywność lipolizy lipoprotein bardzo niskiej gęstości (VLDL)

Ewa Maria Wieczorek , Agnieszka Ćwiklińska , Agnieszka Kuchta , Barbara Kortas-Stempak , Anna Gliwińska , Maciej Jankowski

Zakład Chemii Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

Hipertriglicerydemia (HTG) jest ściśle związana z rozwojem miażdżycy i jej powikłań. Jej przyczyną jest m.in. zmniejszona efektywność lipolizy triglicerydów lipoprotein bardzo niskiej gęstości (TG-VLDL) zależna od lipazy lipoproteinowej (LPL). Katabolizm VLDL jest ściśle związany z metabolizmem lipoprotein wysokiej gęstości (HDL), charakteryzujących się właściwościami przeciwmiażdżycowymi. HDL są heterogenną subpopulacją cząstek o różnym składzie i właściwościach. Celem pracy była ocena wpływu HDL i subpopulacji HDL (HDL-2 i HDL-3) na lipolizę TG-VLDL u osób z normo- i hiperlipidemią. Krew pobierano rano, na czczo, od osób z normolipidemią (NL, n=6), hipercholesterolemią (HC, n=6) i hiperlipidemią mieszaną (HL, n=7). VLDL i HDL całkowite oraz subpopulacje HDL-2 i HDL-3 izolowano z surowicy krwi metodą ultrawirowania. VLDL inkubowano z LPL (1 godz., 37 °C, TG-VLDL:LPL 90:0,48 mg/dl, albumina 2%), bez lub w obecności HDL (cholesterol (CH)-VLDL:CH-HDL 1:1). Po inkubacji VLDL oddzielano od pozostałych składników metodą immunoprecypitacji i wyznaczano odsetek (%) zhydrolizowanych TG. Wpływ HDL na % zhydrolizowanych TG oceniono testem t dla prób zależnych. Korelację oceniono za pomocą współczynnika korelacji r Pearsona. Znamienność statystyczną ustalono na poziomie  $p < 0,05$ .

Przy braku obecności HDL % zhydrolizowanych TG-VLDL wahał się od 88% do 100% dla osób z NL i HC oraz od 75 do 98% dla osób z HL i korelował odwrotnie proporcjonalnie do stężenia TG (NL:  $r = -0,814$ ; HC:  $r = -0,942$ ; HL  $r = -0,839$ ;  $p < 0,05$ ). Dla grupy HL, w obecności HDL oraz subpopulacji HDL-2 i HDL-3 % zhydrolizowanych TG-VLDL był wyższy średnio o 11% ( $p < 0,05$ ). Dla osób z HC średni % zhydrolizowanych TG-VLDL w obecności HDL wyniósł 98% i był zbliżony do wartości uzyskanych bez obecności HDL (94%). U osób z NL, niezależnie od obecności HDL, średni % zhydrolizowanych TG wyniósł 95%. Obie subpopulacje HDL wykazują wpływ na efektywność lipolizy VLDL u osób z HL. HDL odgrywają ważną rolę w przebiegu lipolizy VLDL, a ich niedobór może być związany z rozwojem HTG.

kontakt: e.wieczorek@gumed.edu.pl, agnieszka.cwiklinska@gumed.edu.pl, agnieszka.kuchta@gumed.edu.pl, barbara.kortas-stempak@gumed.edu.pl, anna.gliwinska@gumed.edu.pl, maciej.jankowski@gumed.edu.pl

## **Analiza parametrów fizykochemicznych w celu oceny bezpieczeństwa stosowania wybranych pochodnych działających na układ nerwowy.**

Magdalena Kowalska, Łukasz Fijałkowski, Alicja Nowaczyk

<sup>1</sup> - Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Wydział Farmacji, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Dr. A. Jurasza 2, 85-094 Bydgoszcz

Ciągły rozwój farmakoterapii i wprowadzanie nowych substancji na rynek w znacznym stopniu wpływają na wzrost niekorzystnych objawów występujących po zażyciu leków. Przyjmowanie znacznej ilości farmaceutyków, stosowanie ich niezgodnie z przeznaczeniem, a także przyjmowanie tych samych substancji pod różnymi nazwami handlowymi może prowadzić do wystąpienia działań niepożądanych. Z tego względu niezbędna jest jak najszybsza ocena toksycznego działania substancji będących kandydatami na leki w celu wyeliminowania ich potencjalnego niekorzystnego wpływu na organizm człowieka. W niniejszej pracy przeprowadzono analizę porównawczą parametrów fizykochemicznych dla wybranych pochodnych kwasu gamma-aminomasłowego i stosowanych leków przeciwbólowych. Przy pomocy oprogramowania admetSAR skalkulowano wartości liczbowe parametrów służące do oceny kardiotoxyczności, hepatotoxyczności oraz kancerogenności ww. związków.

Otrzymane wartości liczbowe parametrów obecnie stosowanych leków przeciwbólowych znajdują potwierdzenie w piśmiennictwie fachowym. Można zatem oczekiwać, że wartości otrzymane dla pochodnych GHB będą miały odzwierciedlenie w warunkach in vivo.

kontakt: magda.kowalska9@gmail.com, l.fijalkowski@cm.umk.pl, alicja@cm.umk.pl

## **Ocena toksycznego działania grupy pochodnych N-(arylopiperazynylopropylo)pirolidyn-2-onu z wykorzystaniem metod obliczeniowych.**

Magdalena Kowalska, Łukasz Fijałkowski, Alicja Nowaczyk

Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Wydział Farmacji, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Dr. A. Jurasza 2, 85-094 Bydgoszcz

Aby sprostać współczesnym wymaganiom dotyczącym bezpieczeństwa stosowania leków istotnym wydaje się badanie nowo zsyntetyzowanych związków pod względem ich działań niepożądanych. Właściwości toksyczne wraz z brakiem odpowiednich cech farmakokinetycznych i farmakodynamicznych są jednymi z podstawowych przyczyn, które uniemożliwiają wprowadzenie potencjalnych leków na rynek. Z tego powodu niezbędne stało się opracowanie metod *in silico*, umożliwiających przewidywanie właściwości biofarmaceutycznych cząsteczek. Zwiększają one możliwości modelowania najistotniejszych cech metabolicznych, farmakokinetycznych i toksykologicznych, tym samym przyspieszają cały proces tworzenia leku.

Celem niniejszej pracy było zbadanie kardiotoksycznego, hepatotoksycznego i kancerogennego działania 77 pochodnych pirolidyn-2-onu oraz leków przeciwaritmicznych. Badania przeprowadzono przy pomocy programów: admetSAR oraz OSIRIS DataWarrior.

Wyniki uzyskane dla stosowanych obecnie leków przeciwaritmicznych znajdują potwierdzenie w danych piśmienniczych. Z dużym prawdopodobieństwem wyniki oceny bezpieczeństwa dla badanych pochodnych będą miały odzwierciedlenie w warunkach *in vivo*. Racjonalnym wydaje się podjęcie dalszych badań w tym kierunku.

kontakt: magda.kowalska9@gmail.com, l.fijalkowski@cm.umk.pl, alicja@cm.umk.pl



## **Narkolepsja w świetle współczesnych koncepcji terapeutycznych.**

Magdalena Kowalska <sup>1</sup>, Iwona Kowalska <sup>2</sup>, Adrian Kowalski <sup>3</sup>, Wiktor Drózdź <sup>3</sup>, Alicja Nowaczyk <sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Wydział Farmacji, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Dr. A. Jurasza 2, 85-094 Bydgoszcz

<sup>2</sup> - Wojewódzki Szpital Dziecięcy im. Józefa Brudzińskiego w Bydgoszczy, ul. Jana Karola Chodkiewicza 44, 85-667 Bydgoszcz

<sup>3</sup> - II Klinika Psychiatrii, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Skłodowskiej-Curie 27-29, 87-100 Toruniu

Narkolepsja jest przewlekłą chorobą neurologiczną zaliczaną do hipersomni pochodzenia ośrodkowego. Objawy choroby, przede wszystkim nadmierna senność oraz katapleksja, bywają szczególnie uciążliwe dla pacjentów. Etiologia schorzenia nie jest do końca poznana. Aktualnie prowadzone są wielośrodkowe badania nad zsyntezowaniem białek hipokretyno podobnych, które mogą być podstawą przyczynowego leczenia narkolepsji. Powszechnie stosowaną i dużo lepiej poznaną jest metoda leczenia, polegająca na zwalczaniu objawów towarzyszących narkolepsji. Objawowe leczenie narkolepsji polega na prowadzeniu terapii farmakologicznej środkami wpływającymi na transmisję monoaminergiczną. Stosowane obecnie leki to substancje psychostymulujące oraz leki znoszące napady katapleksji. Jednym z nowych sposobów leczenia narkolepsji jest zastosowanie soli sodowej kwasu  $\gamma$ -hydroksymasłowego (GHB) - metabolitu kwasu GABA. Pobudzenie receptora GHB pozwala na wydłużenie snu wolnofalowego ustabilizowanie fazy REM oraz wydłużenie latencji snu.

W niniejszej dokonano oceny bezpieczeństwa dla wybranych grup leków stosowanych w narkolepsji. Badania wykonano przy pomocy oprogramowania OSIRIS DataWarrior oraz admetSAR. Pomimo wielu dostępnych na rynku środków leczniczych, narkolepsja nadal stanowi wyzwanie dla współczesnej medycyny. Wymagane są dalsze badania zarówno neurobiologiczne, neurofizjologiczne, jak i w zakresie psychofarmakoterapii.

kontakt: magda.kowalska9@gmail.com, iwka.246@gmail.com, adek6388@gmail.com, wikdr@cm.umk.pl, alicja@cm.umk

## **Bladder cancer: epidemiology, risk factors & metabolomic analysis**

Julia Jacyna , Michał J. Markuszewski

Department of Biopharmaceutics and Pharmacodynamics, Faculty of Pharmacy with Subfaculty of Laboratory Medicine, Medical University of Gdańsk

Bladder cancer (BCa) consists nine amongst most common cancers in the human population worldwide [1]. Based on the demographic data and the observed increase in the incidence of BCa in previous years, it is estimated that in 2035 the number of cases of BCa might double compared to 2012 [1]. The diagnosis of BCa is based on complex procedures characterized by a number of disadvantages, e.g. they are usually performed when late symptoms of the disease are observed, which causes reduced chances for implementation of an effective treatment. Therefore, there is a need for specific and non-invasive methods for diagnosis of BCa that may be used for early detection of bladder tumor, e.g. during screening tests of patients over 60 years of age.

Known risk factors of BCa mainly include smoking (it is estimated that smoking is responsible for about 50-60% of all cases), age, obesity, lack of physical activity and gender (men suffer from BCa three times more often than women). However, the pathomechanism of BCa development has not been fully explained yet.

Recently, to the study the mechanisms of development of many diseases, including civilization diseases, very often metabolomics approach is implemented. That is why, results obtained from untargeted metabolomic analysis (with the use of LC-MS, GC-MS and NMR) of urine samples obtained from BCa patients and healthy volunteers [2], were compiled with data concerning main BCa risk factors. Such a summary enabled to emphasize their influence on metabolomic analysis – especially in terms of searching for potential diagnostic indicators of the disease.

### Acknowledgments:

The project was supported by the National Science Centre granted on the basis of the decision number 2016/23/N/NZ7/02875.

### References:

- [1] GLOBOCAN 2012; World Health Organization
- [2] "Urinary metabolomic signature of muscle-invasive bladder cancer: a multiplatform approach" (submitted for publication, Talanta)

kontakt: julia.jacyna@gumed.edu.pl, markusz@gumed.edu.pl

## **Analiza wpływu intensywnego wysiłku fizycznego na stan równowagi oksydacyjno-redukcyjnej i parametry uszkodzenia mięśni u kobiet poniżej 30 roku życia**

Kornelia Sałaga-Zaleska <sup>1</sup>, Łukasz Kończak <sup>2</sup>, Agnieszka Kuchta <sup>1</sup>, Kamil Dąbkowski <sup>1</sup>, Ewa Wieczorek <sup>1</sup>, Agnieszka Ćwiklińska <sup>1</sup>, Maciej Jankowski <sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> - Wydział Wychowania Fizycznego, Akademia Wychowania Fizycznego i Sportu, Gdańsk

Odpowiednio dobrana aktywność fizyczna jest uważana za istotny element profilaktyki wielu chorób. Trening obwodowy na niestabilnym podłożu, czyli trening o charakterze wytrzymałościowo-szybkościowym i wytrzymałościowo-siłowym jest coraz częściej wybierany przez osoby poniżej 30 roku życia ze względu na szybką poprawę kondycji fizycznej oraz sylwetki ciała. Równocześnie należy pamiętać, że intensywny wysiłek fizyczny może zaburzać gospodarkę oksydacyjno-redukcyjną i strukturę włókien mięśniowych. Celem projektu było poznanie wpływu intensywnego wysiłku fizycznego w postaci treningu obwodowego na niestabilnym podłożu na stan równowagi oksydacyjno-redukcyjnej i wybrane parametry uszkodzenia mięśni u kobiet poniżej 30 roku życia.

Godzinnemu treningowi obwodowemu, 3 razy w tygodniu, przez 3 miesiące poddano 9 kobiet pomiędzy 19 a 26 rokiem życia, które wcześniej nie uczestniczyły w takiej formie aktywności fizycznej. Przed pierwszym i ostatnim treningiem przeprowadzono pomiar ciężaru ciała, testy funkcjonalne oraz pobranie materiału biologicznego. W badaniach laboratoryjnych oznaczono aktywność aminotransferazy asparaginianowej i kinazy kreatynowej, jako enzymatycznych wskaźników uszkodzenia mięśni szkieletowych. Oceniono profil lipidowy a także wybrane parametry równowagi oksydacyjno-redukcyjnej: stężenie dialdehydu malonowego, aktywność paraoksonazy-1 oraz potencjał antyoksydacyjny osocza.

Po 3 miesiącach treningu obwodowego zauważono polepszenie sprawności fizycznej uczestniczek projektu, jednocześnie nie zaobserwowano istotnych zmian w ciężarze ciała badanych kobiet. Analizując uzyskane wyniki nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w profilu lipidowym, stężeniu dialdehydu malonowego oraz aktywności aminotransferazy asparaginianowej, kinazy kreatynowej i paraoksonazy-1. Jednocześnie zaobserwowano wzrost zdolności osocza do redukcji jonów żelaza (III) ( $0,65 \pm 0,08 \text{ mmol/l}$  vs  $0,70 \pm 0,10 \text{ mmol/l}$ ,  $p=0.017$ ).

Podsumowując przeprowadzone analizy stwierdzono, że regularny 3 miesięczny intensywny wysiłek fizyczny poprawił wytrzymałość, siłę oraz zwinność badanych kobiet, równocześnie nie wpływając istotnie statystycznie na zaburzenie równowagi oksydacyjno-redukcyjnej oraz wzrost markerów uszkodzenia mięśni.

kontakt: kornelia.salaga-zaleska@gumed.edu.pl, lukaszkonczak92@gmail.com, agnieszka.kuchta@gumed.edu.pl, kamil.dabkowski@gumed.edu.pl, ewa.wieczorek@gumed.edu.pl, agnieszka.cwiklinska@gumed.edu.pl, maciej.jankowski@gumed.edu.pl

## **Opracowanie bioanalitycznych metod oznaczania tokoferoli i tokotrienoli w tkance tłuszczowej pochodzącej z gruczołu piersiowego kobiet**

Ewa Bartosińska<sup>1</sup>, Julia Jacyna<sup>1</sup>, Agnieszka Borsuk-De Moor<sup>1</sup>, Michał Kaliszan<sup>2</sup>, Karolina Kondej<sup>3</sup>, Jerzy Jankau<sup>3</sup>, Alicja Renkielska<sup>3</sup>, Zbigniew Jankowski<sup>2</sup>, Wiesław Janusz Kruszewski<sup>4</sup>, Paweł Wiczling<sup>1</sup>, Michał Jan Markuszewski<sup>1</sup>, Danuta Siluk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> - Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup> - Klinika Chirurgii Plastycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>4</sup> - Zakład Propedeutyki Onkologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Oddział Chirurgii Onkologicznej, Szpital Morski im. PCK, Gdyńskie Centrum Onkologii, Szpitale Pomorskie, Sp. z o. o.

Pochodne witaminy E, wśród których wyróżniamy tokoferole oraz tokotrienole, stanowią interesującą grupę związków pochodzenia naturalnego zarówno pod kątem chemicznym, jak i biologicznym. Pomimo obecności ogromnej ilości opracowań naukowych, wciąż nie do końca poznano pełny wachlarz znaczenia terapeutycznego i profilaktycznego witaminy E dla człowieka. Obecnie postuluje się między innymi możliwość działania przeciwnowotworowego lub zapobiegającego rozwojowi nowotworu piersi u kobiet, na zasadzie innych mechanizmów, niż działanie antyoksydacyjne.

Celem niniejszej pracy było opracowanie czułej i szybkiej metody analitycznej służącej jednoczesnemu oznaczeniu ośmiu kongenerów witaminy E w tkance tłuszczowej pochodzącej z piersi kobiet. Aby osiągnąć ten cel, konieczne było opracowanie metody ekstrakcji oraz homogenizacji tkanki tłuszczowej w celu izolacji tokoferoli i tokotrienoli. Następnie zwalidowano metodę ilościowego oznaczania tokotrienoli w tkance tłuszczowej za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas z analizatorem typu potrójny kwadrupol. Problematyczna powtarzalność procesu jonizacji w źródle typu jonizacji chemicznej pod ciśnieniem atmosferycznym tokoferoli oraz – w mniejszym stopniu tokotrienoli – zaowocowała poszerzeniem badań nad mechanizmem tego zjawiska.

W wyniku przeprowadzonych doświadczeń wysnuto wniosek, iż w celu oznaczenia wszystkich ośmiu tokochromanoli w tkance tłuszczowej, konieczne jest zastosowanie innego rodzaju detektora – fluorescencyjnego. Metoda RP-HPLC-FLD została zwalidowana oraz zastosowana do oszacowania stężeń tych związków w 99 próbkach tkanki tłuszczowej pochodzących od pacjentek Oddziału Chirurgii Onkologicznej, pacjentek Kliniki Chirurgii Plastycznej oraz kobiet poddawanych sekcji zwłok w Zakładzie Medycyny Sądowej. Zaproponowane podejście analityczne może w przyszłości posłużyć weryfikacji hipotezy dotyczącej potencjalnego ochronnego działania witaminy E przeciwko rozwojowi nowotworu piersi u kobiet.

kontakt: ewabart@gumed.edu.pl, jacynaj@gumed.edu.pl, agnieszka@gumed.edu.pl, michal.markuszewski@gumed.edu.pl, dsiluk@gumed.edu.pl

## **Improving metabolome coverage with new sample preparation method**

Renata Wawrzyniak , Szymon Macioszek , Anna Kosnowska , Rafał Bartoszewski , Michał Jan Markuszewski

Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Gdański Uniwersytet Medyczny

Plasma untargeted metabolomics is a common method for evaluation of the mechanisms underlying human pathologies and identification of novel biomarkers. The plasma proteins provide the environment for transport of hydrophobic metabolites. The current sample preparation protocol relies on the immediate precipitation of proteins and thus leads to co-precipitation of a significant fraction of hydrophobic metabolites. Here we present a new simple procedure that overcomes the co-precipitation problem and improves metabolome coverage. Introducing an additional step preceding the protein precipitation, namely limited digestion with proteinase K, allows release of associated metabolites through the relaxation of the native proteins tertiary structure. The modified protocol allows clear detection of hydrophobic metabolites including fatty acids and phospholipids. Considering the potential involvement of the hydrophobic metabolites in human cardiovascular and cancer diseases, the method may constitute a novel approach in plasma untargeted metabolomics.

kontakt: macioszek@gumed.edu.pl

## **Tworzenie biofilmu przez drobnoustroje z rodziny *Pasteurellaceae* izolowane z górnych dróg oddechowych pacjentów z nowotworem płuca**

Edyta Chwiejczak , Urszula Kosikowska , Martyna Kasela

Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul Chodźki 1, 20-093 Lublin

Drogi oddechowe są zasiedlone przez liczne drobnoustroje, w tym komensalne i potencjalnie patogenne, które budują mikrobiotę. Wchodzące w skład mikrobioty pałeczki *Pasteurellaceae* mogą pełnić funkcje obronne lub wywoływać zakażenia w stanach obniżenia odporności gospodarza. Na skład ilościowy i jakościowy mikrobioty wpływa wiele czynników, jednym z głównych jest ogólny stan organizmu gospodarza oraz możliwości adaptacyjne mikroorganizmów, w tym ich zdolność do tworzenia biofilmu. Celem badań było wykazanie wpływu przewlekłej i wyniszczającej choroby nowotworowej na kolonizację górnych dróg oddechowych przez drobnoustroje z rodziny *Pasteurellaceae* zdolne do tworzenia biofilmu. Badaniami objęto 90 izolatów wyosobnionych z gardła i nosogardzieli pacjentów z nowotworem płuca (grupa badana, 34 izolaty) oraz od zdrowych osób (grupa kontrolna, 56 izolatów). Bakterie identyfikowano przy użyciu MALDI TOF-MS. Zdolność tworzenia biofilmu oceniano metodą z 0.1% fioletem krystalicznym i określano w 5 stopniowej skali w oparciu o wartość OD570. Badaniami objęto głównie gatunki z rodzaju *Haemophilus*. Wykazano, że łącznie 56% (50/90) izolatów tworzyło biofilm (71% w grupie badanej i 54% w grupie kontrolnej). Największe różnice wystąpiły wśród izolatów nie tworzących biofilmu (kategoria 0) oraz bardzo słabych i słabych producentów tej struktury (kategoria 1 i 2). Do kategorii „0” zakwalifikowano 29% (10/34) izolatów w grupie badanej i 46% (26/56) w grupie kontrolnej. Do kategorii „1” i „2” zaklasyfikowano 41% (14/34) izolatów od pacjentów nowotworowych i 25% (14/56) izolatów od osób zdrowych. W grupie badanej i kontrolnej odpowiednio 30% (10/34) i 29% (16/56) izolatów było silnymi i bardzo silnymi producentami biofilmu (kategorie 3 i 4). W porównaniu z osobami zdrowymi w mikrobiocie oddechowej pacjentów onkologicznych częściej występują pałeczki *Pasteurellaceae*, które tworzą biofilm. Sugeruje to, że te komensalne bakterie i tworzony przez nie biofilm mają znaczenie w utrzymaniu prawidłowej mikrobioty oddechowej i jej funkcji ochronnych dla organizmu gospodarza, osłabionego procesem nowotworowym i stosowanymi procedurami terapeutycznymi.

kontakt: edytachwiejczak@interia.pl, urszulakosikowska@umlub.pl, martynakasela@umlub.pl

## Technologia otrzymywania tabletek z hydrokortyzonem z zastosowaniem druku 3D

Tomasz Gnatowski , Bartosz Przyborowski , Danuta Partyka , Andrzej Marek Winnicki , Marta Czapiewska , Maciej Karolak

Katedra Technologii Postaci Leku, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Zastosowanie druku trójwymiarowego w farmacji jest dziedziną stosunkowo młodą. Choć próby jego wykorzystania do otrzymywania tabletek rozpoczęły się już ponad 20 lat temu to opierały się one jednak głównie na metodzie druku proszkowego. Ze względu na ogólne opisy stosowanej metodyki w piśmiennictwie opracowano od podstaw technologię wytwarzania tabletek przy użyciu osadzania topionego materiału (FDM, ang. fused deposition modeling).

Substancję czynną inkorporowano do filamentu przez zanurzenie w nasyconym roztworze API. Biorąc pod uwagę fizyko-chemiczne właściwości hydrokortyzonu, wybrano go jako substancję modelową w celu sprawdzenia przydatności w zastosowanej technologii tabletek.

W trakcie badań wykazano korelację zawartości substancji czynnej z objętością projektowanych tabletek, co pozwoliło na otrzymanie tabletek o określonej dawce. W badaniu dostępności farmaceutycznej metodą koszyczkową wykazano przedłużony profil uwalniania, gdzie po ok. 4 godzinach uwolniło się 80% zawartości hydrokortyzonu. Rozkład substancji czynnej pod wpływem temperatury jest jednym z głównych czynników decydujących o przydatności do wykorzystania w metodzie FDM. W badaniach zastosowano trzy temperatury wydruku 195, 200 i 210°C, a także wybrano optymalną wysokość pojedynczej warstwy wydruku. Wykazano wzrost degradacji hydrokortyzonu wraz ze wzrostem temperatury wydruku. Hydrokortyzon był w większym stopniu degradowany podczas druku przy wysokości warstwy 0,1 mm, niż 0,2 mm. Bezpośrednim parametrem mającym wpływ na wielkość dawki w wydrukowanej tabletkie jest jej objętość i stopień wypełnienia. Zaprojektowano modele trójwymiarowe dla otrzymania dawki 7,5 i 10 mg. Badania jednolitości zawartości substancji czynnej wykazały, że średnia zawartość leku w wydrukowanych tabletkach wynosi odpowiednio 7,87 mg oraz 10,88 mg. Największe zaobserwowane odchylenie zawartości dla tabletek o dawce 7,5 mg wyniosło 4,89%, a dla tabletek o dawce 10,0 mg 2,66%. W kolejnym etapie przeprowadzono badanie jednolitości masy tabletek. Żadna masa tabletki z 20 badanych, w każdej dawce nie przekroczyła dopuszczalnych 5% odchylenia od średniej masy. Największe odchylenie procentowe dla dawki 7,5 mg wyniosło 1,28%, a dla dawki 10,0 mg 1,64%.

kontakt: tomasz.gnatowski@cm.umk.pl, przyborowski.bartosz@gmail.com, danuta.partyka@cm.umk.pl, andrzej.winnicki@cm.umk.pl, marta.czapiewska@cm.umk.pl, maciej.karolak@cm.umk.pl

## **Udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w procesie zapalnym ze szczególnym uwzględnieniem działania przeciwzapalnego kwasów omega-3**

Paulina Goździk

Zakład Biochemii Farmaceutycznej GUMed

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) zawierają w cząsteczce co najmniej dwa wiązania podwójne. W zależności od lokalizacji pierwszego z tych wiązań, wyróżnia się kwasy omega-3 i omega-6. PUFA pełnią w organizmie wiele różnorodnych funkcji, między innymi odgrywają ważną rolę w regulacji odpowiedzi zapalnej, jako związki niezbędne do produkcji mediatorów zapalenia – eikozanoidów. Eikozanoidy to pochodne 20-węglowych PUFA. Należą do nich prostaglandyny, tromboksany, leukotrieny i kwasy hydroksyeikozatetraenowe. Eikozanoidy wywodzące się z kwasu arachidonowego (omega-6) mają działanie prozapalne, natomiast te, które pochodzą od kwasu eikozapentaenowego (omega-3) – przeciwzapalne.

W metabolizm kwasów omega-3 i omega-6 zaangażowane są te same enzymy, co jest przyczyną wzajemnej konkurencji – nadmiar jednego rodzaju kwasów powoduje obniżenie intensywności lub całkowitą blokadę przemian drugiego. Ma to swoje implikacje dietetyczno-kliniczne. Rekomendowany stosunek omega-6/omega-3 w diecie to 4:1, jednakże we współczesnym modelu odżywiania często wynosi on około 15-16:1. Skutkuje to nasileniem produkcji prozapalnych pochodnych kwasu arachidonowego. W konsekwencji rośnie ryzyko występowania licznych chorób o podłożu zapalnym, w tym chorób układu sercowo-naczyniowego, nowotworów, otyłości czy też schorzeń psychiatrycznych.

Przeprowadzono wiele badań, które dowiodły możliwości zapobiegania chorobom zapalnym poprzez spożywanie pokarmów bogatych w kwasy omega-3 (np. ryb morskich). Kwasy te przyczyniają się do zmniejszenia produkcji prozapalnych eikozanoidów, a nawet do wytworzenia związków o charakterze przeciwzapalnym (np. rezolwiny). Udowodniono, iż omega-3 PUFA istotnie wpływają na zmiany poziomu markerów stanu zapalnego w przewlekłych schorzeniach, takich jak RZS czy IBD, przez modulowanie profilu eikozanoidów i obniżanie poziomu cytokin prozapalnych. Ostatecznie skutkuje to pozytywnym efektem klinicznym. Omega-3 PUFA modulują także ekspresję genów kodujących czynniki transkrypcyjne, odgrywające ważną rolę w ścieżkach sygnałowych związanych z procesem zapalnym: jądrowy czynnik kappa B (NFκB) i receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów (PPAR). W oparciu o liczne badania można stwierdzić, że kwasy omega-3 zmniejszają ryzyko wystąpienia wielu przewlekłych chorób zapalnych. Z tego względu rekomendowane jest ich spożycie w ilości co najmniej 1 g/dobę.

kontakt: paulina.st@gumed.edu.pl



## Zastosowanie spektroskopii FTIR i Ramana oraz DSC w badaniu ko-kryształów

Patrycja Garbacz , Marek Wesołowski

Katedra i Zakład Chemii Analitycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Ko-kryształy stanowią substancje stałe złożone przynajmniej z dwóch komponentów połączonych wspólną siecią krystaliczną za pomocą wiązań niekowalencyjnych [1]. Jednym z komponentów ko-kryształu jest substancja czynna farmakologicznie (API), drugim z kolei jest substancja obojętna, zwana koformerem [2]. Struktura krystaliczna ko-kryształu jest odmienna od układu sieci krystalicznej wyjściowych substancji. Z powyższego wynika możliwość zmiany właściwości fizykochemicznych API w wyniku procesu ko-kryształizacji [1]. Wzrost rozpuszczalności i szybkości rozpuszczania oraz poprawa stabilności ko-kryształów w porównaniu do substancji wyjściowych zostały dobrze udokumentowane [3]. W związku z powyższym poszukiwanie możliwości utworzenia ko-kryształów stanowi istotną kwestię. Do badań wybrano grupę substancji słabo lub praktycznie nierozpuszczalnych w wodzie pochodnych 1,4-benzodiazepiny. Wytypowano również grupę koformerów na podstawie ich zdolności do utworzenia wiązań wodorowych. Zastosowano mechaniczną metodę skryningową polegającą na ucieraniu pochodnych 1,4-benzodiazepiny z koformerami w moździerzu z dodatkiem niewielkiej ilości rozpuszczalnika przez 15 min. Przygotowane próbki badano za pomocą metod spektroskopowych (FTIR, Raman) oraz metody termicznej (DSC). O możliwości utworzenia ko-kryształu wnioskowano na podstawie analizy przesunięć pasm w widmie mieszaniny ucieranej w stosunku do widm substancji wyjściowych. Z kolei analiza krzywych DSC pozwoliła na ocenę zaawansowania przebiegu procesu ko-kryształizacji.

### Piśmiennictwo:

1. Karimi-Jafari M, Padrela L, Walker GM, Croker DM. Creating cocrystals: a review of pharmaceutical cocrystal preparation routes and applications. *Cryst. Growth Des.* 2018;18:6370–87.
2. FDA. Guidance for industry. Regulatory classification of pharmaceutical co-crystals. 2013;1–4.
3. Karagianni A, Malamataris M, Kachrimanis K. Pharmaceutical cocrystals: new solid phase modification approaches for the formulation of APIs. *Pharmaceutics.* 2018;10:1–31.

kontakt: patrycja.garbacz@gumed.edu.pl, marek.wesolowski@gumed.edu.pl

## Wpływ diety semiwegetariańskiej o zwiększonej podaży NNKT na skład masy ciała i profil lipidowy pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną

Katarzyna Mironiuk<sup>1</sup>, Agnieszka Mickiewicz<sup>2</sup>, Zdzisław Kochan<sup>3</sup>

<sup>1</sup> - Uniwersytet Morski w Gdyni, Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa, Katedra Zarządzania Jakością, Zakład Przechowalnictwa, Żywnienia i Konsumpcji

<sup>2</sup> - I Katedra i Klinika Kardiologii, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup> - Zakład Biochemii Żywnienia, Katedra Żywnienia Klinicznego, Wydział Nauk o Zdrowiu, Gdański Uniwersytet Medyczny

Celem pracy była ocena wpływu zwiększonej podaży wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w normokalorycznej diecie na skład masy ciała i profil lipidowy osób z hipercholesterolemią rodzinną. W badaniu wzięło udział 45 pacjentów Poradni Kardiologicznej UCK w Gdańsku, którzy zostali poddani interwencji żywieniowej trwającej od 11 do 16 tygodni i polegającej na edukacji oraz wdrożeniu indywidualnie dopasowanych jadłospisów. Dieta została przygotowana w oparciu o dane z analizy składu masy ciała metodą bioimpedancji oraz dzienniczków żywieniowych. Przed zastosowaniem diety i po jej zakończeniu wykonano analizę składu ciała pacjentów i oznaczono profil lipidowy w krążeniu. W czasie interwencji każdy pacjent zobowiązany był do minimum jednej wizyty kontrolnej. Badanie ukończyło 27 osób. Wyniki analizowano z wykorzystaniem programu GraphPad Prism. Analizę PCA wykonano z użyciem programu R. Pacjenci otrzymywali jadłospisy z dietą pokrywającą ich zapotrzebowanie energetyczne w ok. 114% (wg Instytutu Żywności i Żywnienia). Osobom biorącym udział w badaniu zaproponowano następujące zmiany diety w stosunku do diety zwyczajowej: niemal dwukrotnie większą zawartość błonnika, mniejszą zawartość sacharozy, korzystniejszy skład kwasów tłuszczowych oraz mniejszy ładunek glikemiczny. Pomimo większej energetyczności zastosowanej diety zaobserwowano obniżenie wskaźnika BMI z 26 do 25,3 kg/m<sup>2</sup> ( $p=0,00179$ ) oraz redukcję zawartości tkanki tłuszczowej z 31,6 do 29,8% ( $p=0,003$ ). Analiza współczynnika korelacji liniowej Pearsona wskazała również na istnienie zależności BMI ze wskaźnikiem otluszczenia wisceralnego ( $r=0,84$ ). Stężenie cholesterolu całkowitego w całej grupie badanej zmniejszyło się z  $237,7 \pm 68,78$  do  $214,7 \pm 64,15$  mg/dl ( $p=0,0058$ ). Lepiej na dietę zareagowali pacjenci stosujący jednocześnie farmakoterapię: stężenie cholesterolu frakcji LDL obniżyło się u nich z  $133 \pm 38,65$  do  $112,1 \pm 32,08$  mg/dl ( $p=0,001$ ).

Powyższe zmiany sugerują, że odpowiednio dobrana dieta, bez restrykcji energetycznej, może korzystnie wpływać na skład masy ciała i stężenie lipidów w krążeniu. Wyniki analizy czynnikowej PCA parametrów biochemicznych i antropometrycznych pacjentów wskazują, że wprowadzenie semiwegetariańskiej diety o zwiększonej podaży NNKT w połączeniu z farmakoterapią sprzyja osiągnięciu jeszcze lepszych rezultatów terapeutycznych.

kontakt: k.mironiuk@wpit.umg.edu.pl, amickiewicz@gumed.edu.pl, kochanz@gumed.edu.pl

## **Elicited with *Pectobacterium carotovorum* the flavone accumulation in hairy root culture of *Scutellaria lateriflora* grown in bioreactor**

Mirosława Krauze-Baranowska , Agata Wilczańska-Barska , Maria Łuczkiwicz , Adam Kokotkiewicz , Barbara Sparzak-Stefanowska

Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Farmakognozji

The hairy root culture of *Scutellaria lateriflora* harvested in a basket-bubble bioreactor on ½B5 medium found to be a rich source of wogonoside, which content (3.49%) and production (659.44 mg/L) were 2.9 times and 4.5 times higher, respectively, than in the biomass cultured in shake culture. In the analyzed 60-day growing cycle, the biomass showed continuous and intensive growth (an increase of about 20-fold). The production of flavone compounds determined after 60 days was 934.42 mg/L and it was almost twice as high as in shake culture.

To evaluate the influence of elicitation with the bacterial lysate of *Pectobacterium carotovorum* a bacterial suspension at a concentration of 15 mL/L was added to the biomass at the 40th day of the culture cycle. HPLC analysis showed that the production profile of the culture grown in the bioreactor has changed. The dominant compound was wogonin, which content (3.79%) and production (761.17 mg/L) were 3.3- and 5.4-fold higher, respectively, than that in non-elicited hairy roots cultured in shake culture. The elicited biomass also showed increased production of scutellarin (48.59 mg/L) and free aglycones: baicalein (42.51 mg/L) and chrisin (8.1 mg/L). The total production of flavones (1292.55 mg/L) in the elicited biomass was 1.4-fold higher than in the non-elicited hairy roots grown in the bioreactor and 2.7-fold higher than the non-elicited hairy roots cultured in shake culture.

The *S. lateriflora* hairy root culture harvested in bioreactor is a high-yielding source of wogonoside and with the use of the bacterial lysate of *P. carotovorum* it is possible to obtain the controlled biosynthesis of wogonin. Metabolic and production profiles of the non-elicited hairy root culture of *S. lateriflora* and the culture elicited using bacterial lysate of *P. carotovorum* suggest that the wogonoside under cultivation conditions in the bioreactor may have the character of phytoanthicypine.

kontakt: krauze@gumed.edu.pl, awilczanska@gumed.edu.pl, mlucz@gumed.edu.pl, adamkokot@gumed.edu.pl, bsparzak@gumed.edu.pl

## **Stabilność i selektywność kanałów transbłonowych utworzonych z cząsteczek amfoterycyny B**

Joanna Zielińska, Tomasz Bączek

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Amfoterycyna B należy do grupy makrolidów polienowych. Dzięki swoim unikalnym właściwościom jak np. brak indukowania oporności, przenikanie przez barierę krew-mózg oraz szerokie spektrum działania obejmujące swoim zasięgiem zarówno grzyby, jak i bakterie, nazywana jest "złotym standardem" w leczeniu grzybic układowych. Pomimo szeregu zalet, lek ten jest też obciążony wadami: jest nefro- i ototoksyczny. Pomimo wielu prób, do tej pory nie udało się znaleźć pochodnych o równie skutecznym, lecz mniej toksycznym działaniu. Przeszkodą w racjonalnym projektowaniu leków jest brak wiedzy na temat mechanizmu działania. Głównym celem tego projektu jest ustalenie stechiometrii, właściwości oraz elementów odpowiedzialnych za stabilność kanału błonowego utworzonego z cząsteczek leku, który odpowiada za bezpośrednie działanie lecznicze amfoterycyny B.

kontakt: [jzielinska@gumed.edu.pl](mailto:jzielinska@gumed.edu.pl)

## PEG-ylated parenteral nanoemulsions: stability study of formulations selected by experimental design

Jelena Djokovic <sup>1</sup>, Dorota Wątróbska-Świetlikowska <sup>2</sup>, Sanela Savic <sup>3</sup>, Jelena Mitrovic <sup>1</sup>, Malgorzata Sznitowska <sup>2</sup>, Snezana Savic <sup>1</sup>

<sup>1</sup> - University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Belgrade, Serbia

<sup>2</sup> - Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej GUMed

<sup>3</sup> - DCP Hemigal, Leskovac, Serbia

**Introduction:** Parenteral nanoemulsions (NEs) containing PEG-ylated phospholipids (PEG-PLs) can increase target site concentration of the incorporated active substance by increasing circulation time of the oil droplets. Using experimental design approach by varying process parameters (number of cycles and homogenization pressure) and formulation factors (type and concentration of PEG-PLs) best formulations were chosen for further research. The aim of this study was to follow the stability of PEG-ylated NEs (PEG-NEs) chosen by experimental design, as well as the stability of not PEG-ylated formulation (nPEG-NE). **Materials and methods:** PEG-NEs and nPEG-NE were prepared by high pressure homogenization method at 50°C. Water phase (glycerol, polysorbate 80, sodium oleate and highly purified water) was added to oil phase (soybean oil, benzyl alcohol, medium chain triglycerides, soybean lecithin and butylhydroxytoluene) and homogenized with high-pressure homogenizer (EmulsiFlex-C3, Avestin Inc., Canada) for 10 cycles at 800 bar, as suggested by experimental design. PEG-PL – PEG2000-DSPE/PEG5000-DPPE, was added to the oil or water phase at 0,1%/0,3% concentration. Nanoemulsion stability was followed for 8 months by measuring mean droplet size (Z-ave), polydispersity index (PDI) and zeta potential (ZP). Laser diffraction measurements were performed to determine presence of bigger droplets.

**Results:** Initial Z-ave of all NEs was in the range of 103–106 nm, with PDI below 0.2 and ZP about –40 mV, suggesting they are appropriate for parenteral application. After 8 months these parameters haven't significantly changed, with Z-ave 105-110 nm, PDI below 0,2 and ZP about -50 mV. Laser diffraction measurement showed no bigger droplets were present, with d90 value under 150 nm for all formulations, both initially and after 8 months.

**Conclusions:** This study shows the usefulness of D-optimal factorial design in NE development. It shows that investigated formulations are stable for at least 8 months after the manufacture and can be further investigated as potential drug delivery systems.

kontakt: jelenadjokovic91@gmail.com, dwatro@gumed.edu.pl, msnzito@gumed.edu.pl, saneladjordjevic87@gmail.com, jelena.mitrovic@pharmacy.bg.ac.rs, snexs@pharmacy.bg.ac.rs

## **Analiza wyników zewnętrznej oceny jakości oznaczania stężenia digoksyny w polskich laboratoriach uczestniczących w programie Labquality w roku 2017**

Robert Kowalski <sup>1</sup>, Agnieszka Ćwiklińska <sup>2</sup>, Gabriela Bednarczuk <sup>3</sup>, Aleksandra Fijałkowska <sup>3</sup>

<sup>1</sup> - Apteka Szpitalna, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk

<sup>2</sup> - Zakład Chemii Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

<sup>3</sup> - Systemy Oceny Wiarygodności Analiz Medycznych SOWA-med, Sp. z o.o., Gdańsk

Digoksyna jest lekiem stosowanym w niewydolności mięśnia sercowego oraz migotaniu przedsionków. Ze względu na niski indeks terapeutyczny oraz trudne do rozpoznania działania toksyczne, jej stosowaniu powinno towarzyszyć monitorowanie stężenia w surowicy. Aby wynik analizy miał korzystny wpływ na terapię pacjenta przeprowadzone badanie laboratoryjne musi mieć wysoką jakość. Jednym z elementów zapewniania jakości badań laboratoryjnych jest udział laboratorium w programie zewnętrznej oceny jakości (EQA).

Celem pracy była analiza wyników polskich laboratoriów uczestniczących w międzynarodowym programie EQA oznaczania digoksyny, organizowanym przez Labquality (Finlandia) w roku 2017. Czterokrotnie w ciągu roku laboratoria otrzymywały 2 próbki surowicy, w których oznaczano stężenie digoksyny. Wyniki oceniano względem wartości oczekiwanej (WO), obliczonej jako średnia wartość w danym sprawdzianie oraz względem wartości oczekiwanej, wyznaczonej dla danej grupy metodycznej. W roku 2017 w sprawdzianach EQA oznaczania digoksyny wzięło udział 15 polskich laboratoriów: 5 laboratoriów uczestniczyło w 4 sprawdzianach, 2 – w 3, 6 – w 2 i 2 – w 1 sprawdzianie, dostarczając 79 wyników oznaczeń.

Polskie laboratoria uczestniczące w programie stosowały 6 metod immunochemicznych; najwięcej wyników dostarczono wykorzystując metodę Siemens Syva EMIT – 36, następnie: Abbott Architect immunochemical – 16, Roche Integra – 14, Roche Elecsys/cobas/Modular E – 6, Roche Hitachi/Modular P/cobas c – 4, Beckman Coulter AU (Olympus) – 4.

Średnie odchylenie wyniku polskiego laboratorium od WO, wyznaczonej jako średnie stężenie digoksyny oznaczone w danym sprawdzianie wynosiło  $-0,57 \pm 14,71\%$  oraz  $0,04 \pm 8,67\%$ , gdy wyliczono ją jako średnie stężenie oznaczone daną metodą.

72% wyników odbiegało od WO obliczonej dla danej grupy metodycznej o mniej niż 10%, 25% wyników – o 10-20%, a 3% o ponad 20%. W porównaniu do WO wyznaczonej jako średnia w danym sprawdzianie, w poszczególnych przedziałach błędu znajdowało się odpowiednio 38%, 46% i 16% wyników. Przeprowadzona analiza wskazuje na zróżnicowanie wyników oznaczania digoksyny w polskich laboratoriach. Wprowadzenie działań mających na celu harmonizację metod lub weryfikację przedziałów terapeutycznych w laboratoriach mogłoby zwiększyć bezpieczeństwo pacjentów leczonych digoksyną.

kontakt: rkowalski@gumed.edu.pl, acwik@gumed.edu.pl, gabrielabednarczuk@wp.pl, aleksfijalkowska@wp.pl

## Kierunki badań nad peptydami przeciwdrobnoustrojowymi

Marta Bauer , Damian Neubauer , Maciej Jaśkiewicz , Krzysztof Gołacki , Karol Sikora , Wojciech Kamysz

Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej GUMed

Wszechobecnie postępująca oporność na antybiotyki stanowi globalne zagrożenie, a prognozy wskazują, iż nieuleczalne, nawracające zakażenia znacząco przyczynią się do zgonów różnych grup pacjentów w przyszłości. W związku z tym poszukiwanie nowych substancji, mogących zastąpić antybiotyki w terapii lub prewencji zakażeń jest kluczowe dla wszystkich nauk biomedycznych. Peptydy przeciwdrobnoustrojowe (AMPs – ang. Antimicrobial peptides) są substancjami szeroko rozpowszechnionymi w naturze i stanowią element odporności nieswoistej niemal wszystkich organizmów. Mechanizm działania tych związków oparty jest na niszczeniu błon komórkowych, w związku z tym ryzyko rozwoju oporności na tę grupę związków jest zminimalizowane. Jedną z metod pozyskiwania peptydów na skalę przemysłową jest synteza na stałym nośniku polimerowym. Tematyka badawcza Katedry i Zakładu Chemii Nieorganicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego dotyczy szerokiego panelu badań nad AMPs. W celu poprawy ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej oraz zmniejszenia cytotoksyczność modyfikowane są powszechnie znane peptydy z tej grupy, a także opracowywane są nowe związki. Niewątpliwie zaletą wszystkich prac badawczych realizowanych w Jednostce jest swoista autonomia, gdyż większość badań mikrobiologicznych realizowanych jest w wewnętrznym laboratorium mikrobiologicznym. Dzięki temu możliwa jest szybka weryfikacja postawionych hipotez badawczych, a także, co ważne, wzajemne konsultacje pomiędzy chemikami-syntetykami oraz mikrobiologami. Wśród prac realizowanych w Jednostce wymienić należy: badania nad AMPs o odwróconej sekwencji – retro analogami, badania nad wymianą przeciwjonów w peptydach oraz wpływie wymiany na ich aktywność przeciwdrobnoustrojową oraz cytotoksyczność, a także badania nad lipopeptydami. Niewątpliwie istotnym aspektem w zakresie prewencji zakażeń są badania nad aktywnością wobec biofilmu oraz biomateriałami. Obecnie trwające prace badawcze wskazują na wysoki potencjał AMPs w przygotowywaniu materiałów o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych o czym świadczy opracowanie biomateriału o właściwościach przeciwbiofilmowych. W ramach prowadzonych prac badawczych udało się opracować nową metodę wymiany przeciwjonu w rozpuszczalnikach organicznych, określono wpływ przeciwjonu dla aktywności biologicznej wybranych AMPs, otrzymano lipopeptydy oraz retro analogi o wysokiej aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

kontakt: bauerm@gumed.edu.pl, dneu@gumed.edu.pl, mj@gumed.edu.pl, krzysztofgolackifarm@gumed.edu.pl, karol.sikora@gumed.edu.pl, kamysz@gumed.edu.pl

## **Metabolomics as a tool for detecting selected diseases associated with hypercortisolemia**

Alicja Kotłowska <sup>1</sup>, Joanna Sitek <sup>1</sup>, Krzysztof Sworczak <sup>2</sup>, Piotr Szefer <sup>1</sup>, Małgorzata Grembecka <sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Katedra i Zakład Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

<sup>2</sup> - Katedra i Klinika Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych, Wydział Lekarski

Hypercortisolism may be present due to the increased secretion of cortisol in the human body. Excessive production of cortisol can be associated with chronic intake of steroid drugs or increased synthesis of the compound by the adrenal glands (adrenal hypertrophy, adrenal tumour or the presence of pituitary tumor). Elevated levels of cortisol can lead to Cushing's syndrome. Moreover, excess of the compound can also result in high blood pressure, bone loss and ultimately, may lead to type 2 diabetes. To establish a method suitable for the detection of hypercortisolism, we applied gas chromatography combined with mass spectrometry and flame-ionization detection for the analysis of selected glucocorticosteroids present in human urine samples. Several cortisol and cortisone metabolites were detected and quantified in the samples obtained from patients with confirmed adrenal-related hypercortisolemia with satisfactory validation parameters. Application of selected multivariate methods enabled accurate selection of biomarkers of the forementioned hypercortisolemia with the emphasis not only on the tetrahydrometabolite of cortisol but also on its several derivatives.

kontakt: kotlowska@gumed.edu.pl, joanna.sitek@gumed.edu.pl, krzysztof.sworczak@gumed.edu.pl, piotr.szefer@gumed.edu.pl, malgorzata.grembecka@gumed.edu.pl



## Nowe wyzwania dla farmaceutów szpitalnych z Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku

Magdalena Gruszkiewicz<sup>1</sup>, Wioletta Kaliszan<sup>1</sup>, Marcin Płaczek<sup>2</sup>, Katarzyna Lewicka<sup>1</sup>, Anna Stiepanow-Trzeciak<sup>1</sup>, Robert Kowalski<sup>1</sup>, Sebastian Sobski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Apteka Szpitalna, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk

<sup>2</sup> - Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

W Uniwersyteckim Centrum Klinicznym przeprowadzane są zabiegi kardiochirurgiczne oraz od 2018 roku zabiegi transplantacji płuc. W trakcie tych procedur konieczne jest zastosowanie specjalistycznych, wieloskładnikowych roztworów, niedostępnych w formie gotowych do użycia preparatów handlowych. Płyn do kardioplegii (stosowany podczas zabiegów kardiochirurgicznych), natomiast płyn do pulmoplegii jest używany do perfuzji płuc pobranych od dawcy, przed ich wszczepieniem. Skład obu preparatów został opracowany przez lekarzy w Szpitalu Dziecięcym w Bostonie – płyn do kardioplegii (del Nido) i w Szpitalu Uniwersyteckim w Pittsburgu – płyn do pulmoplegii (roztwór Hattlera) [1, 2].

Możliwość wdrożenia tych nowoczesnych procedur chirurgicznych w Szpitalu UCK w Gdańsku zależała od współpracy lekarzy, perfuzjonistów oraz farmaceutów szpitalnych, którzy wzięli na siebie odpowiedzialność za prawidłowe przygotowanie płynów do kardioplegii i pulmoplegii w pracowni leku jałowego Apteki Szpitalnej UCK. Realizacja tego celu wymagała: kwerendy piśmiennictwa fachowego w zakresie składu jakościowego i ilościowego sporządzanych roztworów, oceny możliwości przygotowania tych roztworów na bazie preparatów handlowych dostępnych na polskim rynku (w koniecznej modyfikacji płynu do pulmoplegii pomogła współpraca ze specjalistami ze Śląskiego Centrum Chorób Serca w Zabrzu), opracowania procedury sporządzenia płynów w warunkach aseptycznych oraz wstępnej oceny trwałości otrzymanych preparatów, umożliwiającą określenie czasu ich przydatności do użycia.

W efekcie przeprowadzonych prac otrzymano preparaty o następującym składzie: płyn do kardioplegii (sodu chlorek, potasu chlorek, magnezu chlorek, magnezu siarczan, sodu octan, sodu glukonian, sodu wodorowęglan, lidokainy chlorowodorek i mannitol) oraz płyn do pulmoplegii (glukoza, lidokainy chlorowodorek, adenozyne, werapamilu chlorowodorek, nitrogliceryna, kwas askorbowy, deferoksamina oraz insulina). Sporządzone roztwory poddano ocenie wizualnej, podstawowej analizie fizykochemicznej (ocena pH i ciśnienia osmotycznego) i mikrobiologicznej (badanie jałowości). Wykazano, że oba płyny spełniają wymagania jakościowe stawiane lekom pozajelitowym, przy czym zaleca się, żeby były one przechowywane w temperaturze (2-8oC). W tych warunkach płyny do kardioplegii zachowują trwałość przez 7 dni, natomiast, ze względu na mniejszą liczbę danych z piśmiennictwa i własnych doświadczeń, zdecydowano, że płyn do pulmoplegii będzie sporządzany ex tempore, w momencie uruchomienia procedury transplantacyjnej.

Piśmiennictwo:

[1] Gabriel E. A., Salerno T. (ed.): Principles of pulmonary protection in heart surgery, Springer-Verlag, Londyn, 2010, 81-90.

[2] Pereira L. M. i in. Hospital Pharmacy, 2017, 52 (11), 766-773.

kontakt: mgruszkiewicz@uck.gda.pl, wkaliszan@uck.gda.pl, marcin.placzek@gumed.edu.pl, klewicka@uck.gda.pl, astiepanow@uck.gda.pl, rkowalski@uck.gda.pl, ssobski@uck.gda.pl

## INDEKS NAZWISK

Adamkiewicz-Drożyńska.....	12, 13, 68, 73, 83	Czumaj.....	13, 51
Almeida.....	18, 43	Ćwiklińska. 11, 12, 15, 16, 17, 95, 97, 100, 102,	107, 118
Andel.....	16, 86	Daghir-Wojtkowiak.....	19, 48
Andrzejczuk.....	17, 89	Dawid.....	10, 37
Augustynowicz-Kopeć.....	13, 65, 66	Dąbkowski.....	11, 15, 97, 107
Balewski.....	15, 71	Dębska-Ślizień.....	11, 97
Bałasz-Chmielewska.....	10, 38	Djokovic.....	12, 117
Bartosńska.....	11, 108	Długińska.....	16, 58
Bartoszewski.....	15, 109	Drózdź.....	16, 105
Bauer.....	10, 14, 39, 119	Dumański.....	6, 7, 20
Bazar.....	18, 40	Dziewirska.....	19, 47
Bączek. 8, 10, 12, 13, 14, 15, 18, 25, 34, 36, 42,	55, 62, 63, 68, 72, 73, 75, 76, 77, 83, 116	Dziomba.....	10, 37
Bąk.....	11, 50	Fijałkowska.....	12, 16, 95, 118
Bednarczuk.....	12, 16, 95, 118	Fijałkowski.....	16, 17, 103, 104
Bednarczyk-Cwynar.....	16, 85	Fiołek.....	16, 84
Bednarski.....	15, 71	Foks.....	13, 65, 66
Belka.....	8, 10, 25, 34, 36	Frańczuk.....	10, 37
Bernat-Wójtowska.....	10, 39	Frąckowiak.....	12, 16, 56, 86
Bień.....	13, 30, 68, 83, 104	Gappa.....	18, 43
Bigda.....	14, 77	Garbacz.....	11, 13, 70, 78, 113
Bilski.....	12, 99	Garbera.....	9, 28
Błaszczynski.....	16, 85	Gdaniec.....	13, 15, 71, 78, 79
Błazejewicz.....	13, 69	Gębska.....	13, 70
Boblewski.....	16, 53	Gliwińska.....	11, 12, 17, 97, 100, 102
Borowik.....	16, 59	Gliwiński.....	9, 27
Borsuk-De Moor.....	9, 11, 30, 108	Gnatowski.....	12, 14, 16, 84, 85, 99, 111
Bossowski.....	9, 27	Gobis.....	13, 65, 66
Brenninkmeijer.....	16, 86	Godlewska.....	15, 96
Brzezicha-cirocka.....	69	Gołacki.....	14, 119
Brzezicha-Cirocka.....	13, 69	Grabowski.....	6, 7, 20
Brzezińska.....	13, 69	Grembecka.....	11, 13, 17, 50, 69, 120
Bułakowska.....	15, 67	Grinholc.....	13, 61
Buszewska-Forajta.....	18, 44	Gruszkiewicz.....	16, 121
Butowska.....	16, 59	Grzegorzczuk.....	12, 82
Cackowska.....	11, 97	Gutknecht.....	12, 14, 16, 56, 77, 86
Cal.....	17, 40, 87	Gzella.....	13, 15, 78, 79
Centkowska.....	12, 101	Hałasa.....	15, 67
Chmielewska.....	10, 14, 38, 75	Hanke.....	19, 47
Chmielewski.....	13, 51	Hennig.....	9, 27
Chojnacki.....	8, 25	Hogg.....	16, 86
Chwiejczak.....	12, 14, 17, 82, 89, 110	Iwaskiewicz-Grześ.....	9, 27
Chylewska.....	11, 14, 52, 81	Jacyna.....	11, 15, 17, 87, 106, 108
Cieślak.....	15, 57	Jakubaszek.....	14, 80
Ciura.....	10, 37	Jamrógiewicz.....	9, 23, 29
Correia.....	10, 37	Janczy.....	9, 31
Cubała.....	12, 62	Jankau.....	11, 108
Czapiewska. ...12, 14, 16, 17, 60, 84, 85, 99, 111		Janknegt.....	16, 86
Czaplewska.....	12, 62	Jankowski 10, 11, 12, 15, 16, 17, 38, 95, 97, 100,	

102, 107, 108	
Jarosiewicz.....	13, 78
Jarosz-Chobot.....	9, 27
Jasiecki.....	13, 64
Jaśkiewicz.....	14, 119
Jaźwińska-Curyło.....	9, 27
Jońca.....	11, 14, 52, 74
Jurewicz.....	19, 47
Kaliszan.....	11, 12, 16, 19, 48, 56, 108, 121
Kamedulska.....	11, 54
Kamysz.....	10, 14, 39, 80, 119
Kaplińska.....	14, 80
Karbowska.....	9, 31
Karolak.....	12, 14, 16, 84, 85, 99, 111
Kasela.....	12, 14, 82, 110
Kaska.....	14, 77
Kawczak.....	15, 55
Kawiak.....	8, 14, 15, 22, 24, 25, 57, 81
Kędzia.....	8, 22, 67
Kimel.....	9, 15, 32, 96
Klejbor.....	12, 62
Klimowska.....	18, 19, 46, 47
Kochan.....	9, 11, 31, 114
Kokotkiewicz.....	12, 115
Kolańska-Dams.....	17, 90, 91, 92
Kondej.....	11, 108
Konieczna 10, 12, 13, 14, 16, 18, 23, 34, 39, 42, 62, 72, 73, 75, 76, 77, 84	
Koniecznyński.....	18, 43
Konkel.....	16, 59
Konopacka.....	10, 33
Kończak.....	15, 107
Korcz.....	15, 71
Kornicka.....	12, 13, 15, 17, 56, 60, 78, 79
Korona-Główniak.....	13, 66
Kortas-stempak.....	95, 97, 100, 102
Kortas-Stempak..	11, 12, 16, 17, 95, 97, 100, 102
Kosikowska.....	12, 14, 17, 82, 89, 110
Kosnowska.....	15, 109
Kossakowska.....	14, 83
Kotłowska.....	17, 120
Kowalewska.....	18, 44
Kowalska.....	16, 17, 103, 104, 105
Kowalski 12, 13, 15, 16, 17, 63, 68, 83, 95, 100, 105, 118, 121	
Kozłowska.....	18, 45
Krause.....	13, 65, 66, 70
Krauze-baranowska.....	94, 96
Krauze-Baranowska....	9, 11, 15, 17, 32, 94, 96, 115
Krawczyk.....	13, 68, 83
Krawczyńska.....	14, 76, 77
Kreft.....	17, 100
Krenczkowska.....	8, 18, 23, 40
Król.....	11, 36, 97
Kruszewski.....	11, 108
Kruszka.....	12, 99
Kubik.....	10, 16, 35, 85
Kuchta. 11, 12, 15, 16, 17, 95, 97, 100, 102, 107	
Kuleszo.....	10, 38
Kwapisz.....	8, 13, 22, 67, 70
Lehmann.....	16, 53
Lewicka.....	11, 16, 58, 98, 121
Lipska-Ziętkiewicz.....	10, 38
Łuczkiewicz.....	11, 115
Łukasz.....	17, 93
Łukowska.....	15, 71
Maciejewski.....	17, 88
Macioszek.....	15, 109
Macur.....	12, 62
Maliszewska.....	13, 68
Malm.....	12, 17, 82, 89
Małgorzewicz.....	9, 31
Marchwińska.....	16, 53
Marek-trzonkowska.....	27
Marek-Trzonkowska.....	9, 27
Markuszewski 11, 12, 15, 16, 18, 19, 44, 48, 56, 58, 98, 106, 108, 109	
Marolf.....	16, 58
May.....	14, 66, 74, 106, 109, 115, 120
Mazurowska.....	11, 14, 52, 74
Mickiewicz.....	11, 71, 78, 79, 114
Miękus.....	12, 13, 15, 62, 63, 68, 83
Miękus-Purwin.....	13, 83
Migas.....	17, 94
Mika.....	13, 51, 65, 66, 119
Mikolaszek.....	17, 18, 45, 87
Milewska.....	9, 29
Mironiuk.....	11, 114
Mitrovic.....	12, 117
Młynarski.....	9, 27
Mojsiewicz-Pieńkowska.....	8, 18, 23, 40
Mollica.....	6, 7, 20
Moryś.....	12, 62
Muża.....	18, 42
Myśliwiec.....	9, 27
Nakonieczna.....	10, 39
Napiórkowska.....	13, 65
Nasal.....	12, 17, 56, 60
Neubauer.....	10, 14, 39, 119
Niedźwiecki.....	12, 73, 77
Nowaczyk.....	16, 17, 103, 104, 105

Ogonowska.....	10, 39	Sparzak-Stefanowska.....	9, 12, 15, 32, 96, 115
Okońska.....	12, 13, 34, 72, 73, 77	Stanisławska-Sachadyn.....	10, 38
Olejnik.....	16, 84	Stefaniak.....	16, 18, 44, 86
Olędzka.....	13, 15, 63, 68, 83	Stempka.....	17, 94
Owczuk.....	9, 18, 27, 42	Stiepanow-Trzeciak.....	16, 121
Partyka.....	14, 16, 84, 85, 111	Struck-lewicka.....	98
Patejko.....	11, 16, 58, 98	Struck-Lewicka.....	11, 16, 58, 98
Pawelec.....	18, 41	Sworczak.....	17, 120
Pinto.....	18, 43	Szafranski.....	8, 22
Piosik.....	16, 59	Szczepańska.....	18, 45
Piotrowska.....	6, 8, 20	Szczesio.....	13, 66
Plenis.....	13, 15, 63, 68, 83	Szczesny.....	17, 60
Płaczek.....	16, 121	Szczoczarz.....	16, 53
Płoskońska.....	15, 71	Szefer.....	17, 120
Pobłocka-Olech.....	15, 96	Szewczyk.....	9, 26
Pogorzelska.....	8, 24	Sznitowska.....	12, 17, 18, 45, 88, 93, 117
Proczko-Stepaniak.....	14, 77	Szybiak.....	18, 44
Prokopowicz.....	9, 10, 11, 26, 33, 50	Tomorowicz.....	15, 57
Przyborowski.....	14, 111	Treder.....	13, 68
Pyszka.....	12, 13, 34, 72, 73, 77	Trzonkowski.....	9, 27
Rachoń.....	18, 44	Turecka.....	11, 14, 15, 52, 79, 81
Raczak-gutknecht.....	86	Ulenberg.....	10, 34, 36
Raczak-Gutknecht.....	12, 16, 56, 86	Waleron.....	10, 11, 14, 37, 52, 74, 81
Radwańska.....	17, 60	Wasilewski.....	14, 80
Rapacka- Zdończyk.....	13, 61	Waszczuk-Jankowska.....	16, 58, 98
Reiwer-Gostomska.....	14, 77	Wawrzyniak.....	15, 109
Renkielska.....	11, 108	Wątróbska-Świetlikowska.....	12, 117
Rodzaj.....	19, 47, 96	Wesołowski.....	11, 18, 43, 113
Roszkowska.....	12, 62, 72, 76	Wiczling...6, 8, 9, 10, 11, 19, 20, 30, 35, 48, 54, 108	
Rudnicka.....	13, 83	Wieczorek.....	11, 12, 15, 97, 102, 107
Rybczyńska.....	16, 53	Wielgomas.....	10, 18, 19, 37, 41, 46, 47
Sakowska.....	9, 14, 27, 83	Wierzbowska.....	13, 70
Sałaga-Zaleska.....	11, 15, 97, 107	Wilczańska-Barska.....	11, 115
Sandersen.....	16, 58	Wileńska.....	19, 47
Savic.....	12, 117	Winnicki.....	12, 14, 16, 84, 85, 99, 111
Sawicka.....	10, 37	Wolska.....	17, 59, 93
Sawicki.....	9, 28	Woźniak.....	13, 61
Sączewski.....	12, 15, 17, 56, 60, 71, 78, 79	Wujtewicz.....	18, 42
Scott.....	16, 86	Wyrzykowski.....	16, 59
Siebert.....	9, 14, 27, 77	Zalewska.....	10, 37
Sikora.....	14, 119	Zielińska.....	12, 116
Siluk.....	11, 16, 58, 98, 108	Zieliński.....	9, 27
Sitek.....	17, 120	Ziembicka.....	13, 66
Skowron.....	13, 64	Zienkiewicz.....	9, 32
Skrzypkowska.....	14, 77	Żalińska.....	9, 27
Skwira.....	10, 33	Żekanowska.....	17, 90, 91, 92
Sławiński.....	8, 15, 22, 24, 25, 57, 67	Żołnowska.....	8, 15, 24, 25, 57, 67
Smoktunowicz.....	14, 74	Żurowska.....	10, 38
Sobski.....	16, 121		
Sparzak-stefanowska.....	96		