



UNIwersytet Medyczny
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Współczesne zastosowanie metod analitycznych w farmacji i medycynie

II OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA NAUKOWA

3 kwietnia 2017 r.

KSIĄŻKA ABSTRAKTÓW

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



Organizatorzy:

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

PARTNERZY:



ORGANIQUE

{...naturalne piękno życia}



DONSERV®



Wrocław, 2017r.

PATRONAT HONOROWY:

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

KOMITET NAUKOWY:

Przewodniczący: dr hab. Izabela Fecka

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

prof. dr hab. Anna Wiela- Hojeńska

Katedra i Zakład Farmakologii Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Dr hab. Wojciech Kamysz, prof. nadzw.

Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z O. Medycyny Laboratoryjnej
Gdański Uniwersytet Medyczny

Dr hab. Ernest Kuchar

Klinika Pediatrii z Oddziałem Obserwacyjnym
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Dr hab. Bożena Karolewicz

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

Dr hab. Katarzyna Malolepsza-Jarmołowska

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

Dr Adam Kowalczyk

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

Dr inż. Agnieszka Matera-Witkiewicz

Pracownia Przesiewowych Testów Aktywności Biologicznej i Gromadzenia Materiału Biologicznego,
Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Dr Stanisław Han

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

Dr Joanna Gałęzowska

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

Mgr Katarzyna Karłowicz-Bodalska

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

KOMITET ORGANIZACYJNY:

Przewodnicząca: mgr Katarzyna Karłowicz-Bodalska

Zakład Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analizy Medycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Dr Adam Kowalczyk

Katedra i Zakład Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny z O. Analizy Medycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Dr inż. Agnieszka Matera-Witkiewicz

Pracownia Przesiewowych Testów Aktywności Biologicznej i Gromadzenia Materiału Biologicznego,
Wydział Farmaceutyczny z O. Analizy Medycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Mgr Agnieszka Bodalska

Katedra i Zakład Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny z O. Analizy Medycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Mgr Marcin Listowski

Pracownia Przesiewowych Testów Aktywności Biologicznej i Gromadzenia Materiału Biologicznego,
Wydział Farmaceutyczny z O. Analizy Medycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Mgr inż. Paulina Polinceusz

Pracownia Przesiewowych Testów Aktywności Biologicznej i Gromadzenia Materiału Biologicznego,
Wydział Farmaceutyczny z O. Analizy Medycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

STUDENCI:

**Michał Smoleński, Julia Freier, Żaneta Rakowska, Paulina Jura, Aleksandra Jędrzycko,
Natalia Głogowska, Justyna Nestorowicz, Ewelina Leszczyńska**

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

**Aleksandra Chwiećko, Malwina Brożyna, Maciej Ciach, Katarzyna Bednarska,
Aleksandra Kalata**

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

I.
WYKŁADY

ANALIZA NIEPOŻĄDANYCH ODCZYNÓW POSZCZEPIENNYCH - JAK OKREŚLIĆ ZWIĄZEK MIĘDZY SZCZEPIENIEM A OBJAWEM KLINICZNYM?

Ernest Kuchar

Klinika Pediatrii z Oddziałem Obserwacyjnym, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Zgodnie z Dyrektywą 84/2010/UE: działaniem niepożądanym jest każde niekorzystne i niezamierzone działanie produktu leczniczego. Niepożądany odczyn poszczepienny (NOP) definiuje w Polsce Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 21.12.2010 r. "W sprawie niepożądanych odczynów poszczepiennych oraz kryteriów ich rozpoznawania" (Dz.U. 2010 nr 254 poz. 1711) jako: „każde zaburzenie stanu zdrowia jakie występuje w ciągu 4 tygodni po szczepieniu”. Ludzka natura, a zwłaszcza intuicyjna skłonność do kojarzenia nawet niepowiązanych faktów sprawia, że dla przeciętnego człowieka wystąpienie odczynu poszczepiennego w następstwie czasowym (po szczepieniu) jest wystarczającym dowodem na występowanie związku przyczynowego. Pacjenci nie zdają sobie sprawy, że obserwowane przez nich objawy nie zawsze związane są ze szczepieniem. Poprawna metodologicznie analiza działań niepożądanych wymaga usystematyzowanych i obiektywnych obserwacji. Ustalenie związku przyczynowego pomiędzy wystąpieniem NOP a oceną subiektywną wymaga przeprowadzenia kontrolowanego randomizowanego badania (RCT). Pacjent bez przygotowania naukowego nie zdaje sobie sprawy z ludzkich cech myślenia heurystycznego, które cechuje się szybkością myślenia dzięki schematom myślowym, uproszczeniu, wyborze najistotniejszych informacji i ich szybkim przetworzeniu. Przykładowo szkoda nie jest tak dotkliwie odczuwana jeżeli powstaje w wyniku zaniechania niż zamierzonego działania. Z kolei zjawisko oswojenia sprawia, że znane niebezpieczeństwo jest łatwiej akceptowane niż nieznanne. Kompresja danych odpowiada za błędną ocenę ryzyka: rzadkie ryzyko jest przeceniane, a powszechne jest bagatelizowane. Ponadto subiektywne szacowanie prawdopodobieństwa zdarzenia koreluje z zapamiętaną podobną sytuacją, a nie faktycznym statystycznym prawdopodobieństwem wystąpienia zdarzenia. Z badań RCT wynika, że nowoczesne szczepionki są bezpieczne i skuteczne: łagodne NOP występują bardzo często, poważne NOP są skrajnie rzadkie. U niektórych osób szczepionych wystąpią działania niepożądane, jednak realne ryzyko choroby zakaźnej i jej powikłań wielokrotnie przewyższa ryzyko NOP, mimo powszechnego przekonania, że jest inaczej.

HPLC W DWA KWADRANSE

Wojciech Kamysz

*Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z O. Medycyny
Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny*

Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC - High Performance Liquid Chromatography) jest obecnie jedną z najczęściej stosowanych technik analitycznych zarówno w laboratoriach naukowych jak i w przemyśle. Mimo to, jej nauczanie na poziomie akademickim wciąż pozostawia wiele do życzenia. Powszechnym podejściem jest wymaganie od studentów jedynie definicji i wzorów, jednocześnie redukując aspekt praktyczny do minimum. Zwykle prowadzący pokazuje urządzenie, co lepsi prowadzący nawet wykonują sami pomiar. Studenci jednak nie umieją zrobić najprostszej analizy. Nie wiedzą od czego zacząć. Wiedzą za to m.in. jak liczyć półki teoretyczne. Sytuacja zazwyczaj jest tłumaczona zbyt małą ilością godzin, które można przeznaczyć na poznanie tej „skomplikowanej” techniki. Co więcej, problem ten nie jest ograniczony jedynie do studentów. W wielu jednostkach naukowych liczba pracowników uprawnionych do korzystania z HPLC jest ograniczona odgórnie do 1-2 osób, gdyż trzeba posiadać „wiedzę tajemną” aby nie zepsuć aparatu. Ze względu na ograniczony dostęp, wiedza praktyczna dotycząca HPLC niepotrzebnie urosła do poziomu wiedzy specjalistycznej, a zatem jej zdobycie wymaga odbycia specjalistycznego kursu.

Dobry nauczyciel jest jednak w stanie nauczyć podstaw obsługi HPLC w dwa kwadranse. Wszystko czego potrzebuje to pompa gradientowa lub układ pomp, detektor, dozownik, kolumna i trochę chęci. Jednocześnie z prezentacją obsługi chromatografu jest w stanie zaznajomić ucznia z mechanizmem jego działania.

Podczas wykładu autor zaprezentuje przykładowy schemat efektywnych zajęć z podstaw obsługi HPLC i udowodni, że wysokosprawna chromatografia cieczowa wcale nie jest tak skomplikowana jak się powszechnie uważa. Metoda nauczania została wielokrotnie zweryfikowana podczas nauczania studentów a nawet uczniów szkół średnich.

ZASTOSOWANIE TECHNIKI LC-MS/MS W ANALIZIE POCHODNYCH FLAWANU

Izabela Fecka

*Katedra i Zakład Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej,
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Pochodne flawanu stanowią liczną grupę naturalnych wielofenoli roślinnych, szeroko rozpowszechnionych wśród roślin wyższych. Należą do nich glikozydy flawonoidowe (flawanony, flawanonole, flawony, flawonole i.in.), ale także flawanole i ich oligomery znane pod nazwą proantocyjanidyn (propelargonidyny, procyanidyny, prodelfinidyny). Flawonoidy mają charakter żółtych barwników i najczęściej spotykane są w gatunkach roślin kwiatowych. Spokrewnione z nimi są kolejne wielofenolowe barwniki (czerwone, fioletowe, niebieskie) o budowie glikozydowej – antocyjanozydy. Proantocyjanidyny są natomiast bezbarwnymi substancjami o zdolnościach tworzenia stałych połączeń z białkami i innymi makromolekułami. W surowcach roślinnych powyższe pochodne występują często obok siebie, jako złożone mieszaniny, niekiedy także uczestniczą w tworzeniu struktur będących połączeniem cząsteczek z dwóch lub więcej podgrup.

W ich analizie istotną rolę odgrywają techniki chromatografii cieczowej (LC) połączonej z detektorem diodowym (DAD) i spektrometrem mas (MS) lub tandemowym spektrometrem mas (MS/MS). Zastosowanie LC-MS lub LC-MS/MS z łagodną jonizacją pod ciśnieniem atmosferycznym (np. ESI) umożliwia oznaczanie wielu parametrów w czasie jednej analizy (R_t , UV/Vis, m/z jonów pseudomolekularnych i fragmentacyjnych) w odniesieniu niemalże do każdego składnika badanej mieszaniny o ile występuje on na poziomie powyżej limitu wykrywalności i podlega jonizacji (w trybie ujemnym lub dodatnim). Dane uzyskane w czasie analizy pozwalają określić dla związków glikozydowych strukturę aglikonu, rodzaj glikozydu (mono-, di-, triglikozyd itd.), typ wiązania glikozydowego (O-, C-glikozyd), budowę części cukrowej (pentoza, metylopentoza, heksoza itd.) i w niektórych przypadkach pozycję glikozydacji. Identyfikacja połączeń oligomerycznych jest bardziej złożona, nie mniej jednak analiza powstałych jonów fragmentacyjnych umożliwia określenie typu proantocyjanidyn (np. rozróżnienie procyanidyn typu A i B) oraz struktury jednostek monomerów.

W czasie prezentacji zostaną przedstawione przykłady związków wywodzących się z flawanu, których identyfikację przeprowadzono przy wykorzystaniu metod LC-MS/MS.

WŁAŚCIWOŚCI FIZYKO-CHEMICZNE I BIOLOGICZNE KOMPLEKSÓW POLIMYKSYNY Z JONAMI MIEDZI (II).

Agnieszka Matera-Witkiewicz¹, Paulina Polinceusz¹, Monika Oleksy², Elżbieta Łodyga-Chruścińska³

¹ *Pracownia Przesiewowych Testów Aktywności Biologicznej i Gromadzenia Materiału Biologicznego, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

² *Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

³ *Zespół Chemii Bionieorganicznej i Analizy Środowiska, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka*

Ogromnym problemem zdrowia publicznego i współczesnej medycyny jest ekspansja opornych na antybiotyki szczepów niezwykle groźnych bakterii chorobotwórczych. Rozprzestrzenianie się na szeroką skalę wielolekoopornych drobnoustrojów (MDR), takich jak *Escherichia coli*, *Kebsiella pneumoniae* i inne *Enterobacteriaceae*, które nabyły oporność na antybiotyki z grupy karbapenemów (NDM+, KPC+), uważane dotychczas za leki ostatniej szansy w terapii poważnych infekcji wywołanych tymi bakteriami, to sygnał alarmujący. Szczepy produkujące β -laktamazy o aktywności karbapenemaz niejednokrotnie wykazują współistnienie kilku mechanizmów oporności jednocześnie, a tym samym stają się odporne wobec prawie wszystkich dostępnych antybiotyków zachowując jedynie wrażliwość na polimyksyny (polimyksynę B, kolistynę) oraz tygecycynę.

Z powodu braku nowych potencjalnych leków przeciwbakteryjnych w II i III fazie badań klinicznych, pojawił się pomysł, aby wspierać jednocześnie badania znanych już antybiotyków w kierunku ich modyfikacji, ulepszania oraz nowych zastosowań. W związku z tym podjęto się zadania poszukiwania innowacyjnych rozwiązań w oparciu o istniejące już „stare” antybiotyki, które wykazują silne działanie przeciwbakteryjne. Do badań wybrano polimyksynę B.

Wykorzystano szereg metod badawczych. W celu określenia sposobu i siły wiązania polimyksyny B z jonami miedzi (II) zastosowano miareczkowanie potencjometryczne i analizę spektrofotometryczną UV-Vis, CD, EPR. W celu określenia cytotoksyczności badanych połączeń wykonano test z zastosowaniem czerwieni neutralnej. Aktywność przeciwbakteryjna oznaczana była z wykorzystaniem zmodyfikowanej metody Richardsa z TTC (chlorek 2,3,5-trifenylotetrazolinowy). Ponadto dzięki zastosowaniu fluorymetrii określono potencjalną możliwość interkalacji kompleksów do CT-DNA, a także określono prawdopodobieństwo cięcia plazmidowego DNA przez badane układy dzięki zastosowaniu metod elektroforetycznych.

IZOTERMICZNA KALORYMETRIA MIARECZKUJĄCA (ITC). PODSTAWY I ZASTOSOWANIE METODY W BADANIACH FARMACEUTYCZNYCH.

Joanna Gałęzowska

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

Izotermiczna kalorymetria miareczkująca (ITC) to metoda, która polega na ilościowym pomiarze ciepła, które jest uwolnione lub pobrane z otoczenia podczas zachodzenia interakcji pomiędzy molekułami. Jest to unikalna, bo jedyna metoda, w której jeden eksperyment dostarcza wszystkich informacji dotyczących tworzonego wiązania. Możemy policzyć stałą takiego wiązania (K) – czyli poznać jego siłę, entalpię (ΔH), entropię (ΔS) oraz stechiometrię (n). Dane uzyskuje się badając natywne molekuły bez konieczności ich modyfikacji np. przyłączania znaczników fluorescencyjnych czy immobilizacji, które mogą zmienić ich właściwości.

Do jakich badań można zastosować tę metodę? Przykładowo do badania:

- 1) oddziaływań białko/białko,
- 2) oddziaływań białek z lekami/jonami metali/kwasami nukleinowymi/peptydami/nanocząsteczkami,
- 3) interakcji lipid/błona,
- 4) aktywności enzymatycznej i kinetyki biomolekuł,
- 5) tworzenia miceli,
- 6) oddziaływań z polisacharydami.

W czasie prezentacji zostaną przedstawione podstawy teoretyczne metody i przykłady zastosowania w badaniach farmaceutycznych.

PRZYDATNOŚĆ FARMAKOLOGICZNA NATURALNEGO EKSTRAKTU BOGATEGO W ANTOCYJANY

Paulina Strugała¹, Sabrina Loi², Barbara Bażanów³, Piotr Kuroпка⁴, Elżbieta Krasowska³,
Janina Gabrielska¹

¹*Katedra Fizyki i Biofizyki, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

²*Department of Scienze della Vita e dell'Ambiente, University of Cagliari, Włochy*

³*Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

⁴*Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

Owoce są niezbędnym komponentem diety, dostarczającym składników, które odgrywają znaczącą rolę w organizmie człowieka przez co wykazują działanie prozdrowotne i prewencyjne w stosunku do wielu chorób. Szczególnie cenne są ich właściwości przeciwutleniające, wpływające w zróżnicowany sposób na żywe komórki, między innymi poprzez bezpośrednią reakcję z wolnymi rodnikami i ich zmiatanie, hamowanie peroksydacji lipidów i inne. Do jednych z obiecujących związków zaliczyć należy owoce czarnego bzu głównie ze względu na bogatą zawartość antocyjanów. W medycynie ludowej powszechnie były wykorzystywane właściwości przeczyszczające, moczopędne, przeciwbólowe, napotne jak również ściągające owoców bzu czarnego. Współczesne badania potwierdzają działanie tych owoców jako wzmacniające system immunologiczny i dlatego są chętnie polecane przy przeziębieniu, infekcjach bakteryjnych i wirusowych.

Celem pracy było określenie aktywności przeciwutleniającej ekstraktu z czarnego bzu w stosunku do modelowych błon lipidowych naśladujących błony komórki nowotworowej (tzw. mimetyczne błony nowotworowe). Ponadto określono stopień wiązania ekstraktu z głównym białkiem osocza krwi – albumina ludzką oraz wpływ na ludzkie komórki nowotworu piersi (MCF-7).

Wyniki badań wykazały, że ekstrakt z czarnego bzu skutecznie chroni mimetyczną błonę lipidową przed utlenianiem indukowanym związkiem chemicznym AAPH. Na podstawie zarejestrowanych emisyjnych widm fluorescencji albuminy ludzkiej zaobserwowano obniżenie intensywności fluorescencji albuminy pod wpływem badanego związku, wraz ze wzrostem stężenia. Wyniki te sugerują, że badany ekstrakt oddziałuje z albumina ludzką wiążąc się z nią przez co powodują gaszenie jej naturalnej fluorescencji. Ponadto badania wykazały zmniejszenie podziału komórek nowotworowych piersi MCF-7 na różnych etapach cyklu komórkowego. Niektóre komórki były hamowane na etapie fazy S lub telofazy, w wielu komórkach obserwowano także zahamowanie cytokinezy.

Wykazana *in vitro* aktywność farmakologiczna ekstraktu z czarnego bzu może wskazywać na dobroczynne działanie przeciwutleniające i przeciwnowotworowe po dostarczeniu ich do organizmu np. w postaci suplementów diety.

Praca finansowana ze środków na działalność statutową Katedry Fizyki i Biofizyki
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

ANALIZA SENSORYCZNA JAKO NARZĘDZIE OCENY JAKOŚCI LEKÓW DERMATOLOGICZNYCH I KOSMETYKÓW

Katarzyna Karłowicz-Bodalska¹, Adam Wójcik², Stanisław Han¹

¹*Zakład Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

²*Przedsiębiorstwo Produkcji farmaceutycznej Hasco-lek SA, Wrocław*

Analiza sensoryczna zwana organoleptyczną jest działem analityki zajmującym się pomiarem i oceną właściwości formułacji naskórnych za pomocą zmysłów i stanowi uzupełnienie wymaganych analiz chemicznych. Pozwala ocenić cechy produktu takie jak: efekt poduszki, jednolitość, konsystencję, przyczepność oraz odczuwalne efekty na skórze tj. kleistość, rozproszczenie, wchłanianie, wygładzanie, tłustość i natłuszczenie.

Badania prowadzone są zgodnie z Normą ISO PN-EN ISO 8589:2010 przez panelistów t.j. osoby ze sprawdzoną wrażliwością sensoryczną. Zakres badań umożliwia ocenę i dobór najkorzystniejszych parametrów związanych z odczuciami podczas i po aplikacji. Obecnie znanych i stosowanych jest wiele metod analizy sensorycznej, najczęściej stosuje się: metody opisowe, różnicowe, z zastosowaniem różnego rodzaju skali i kategorii.

Na podstawie uzyskanych i uśrednionych wartości liczbowych wykonuje się tzw. profile sensoryczne w formie wykresów. Analiza sensoryczna potwierdza jakość produktu dermatologicznego na etapie prac badawczo-rozwojowych, ocenia jakość gotowych produktów oraz umożliwia udoskonalanie po wprowadzeniu na rynek. Jej zaletą są niewielkie koszty oraz możliwość wykorzystania wyników przy opracowaniu nowych produktów oraz w marketingu przy dostosowaniu produktu do potrzeb klientów, zwiększając ich konkurencyjność na rynku.

WYBRANE METODY BADANIA WŁAŚCIWOŚCI FARMACEUTYCZNYCH PÓLSTAŁYCH POSTACI LEKU

Paulina Pytel¹, Katarzyna Małolepsza-Jarmołowska²

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

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

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

Ostatnie lata w technologii postaci leku przyniosły dużą popularność formułacjom żelowym. Wśród półstałych postaci leku żele stosowane są zarówno jako odrębna postać jak i baza dla podłoża maściowych. W zależności od zastosowanej fazy rozpraszającej, wody lub oleju, możemy wyróżnić hydrożele i oleożele. Preparaty przeznaczone do leczenia powinny wykazywać szereg cech umożliwiających ich właściwe wykorzystanie.

W celu weryfikacji właściwości preparatów hydrożelowych stosuje się m.in. badania ich struktury. Analizę parametrów reologicznych przeprowadza się przy użyciu reometru. Obiektywną ocenę adhezyjności, lepkości, twardości, spoistości i konsystencji można uzyskać wykonując pomiary za pomocą analizatora tekstury. Kolejnym ważnym kryterium w badaniu preparatów stosowanych na błony śluzowe lub skórę jest ich odczyn. Metoda potencjometryczna pozwala na uzyskanie dokładnego pH. W wyniku przeprowadzonych analiz, poszczególnych parametrów dotyczących preparatów hydrożelowych, otrzymuje się dane liczbowe, charakteryzujące wykonane pomiary. W celu określenia przydatności danych formułacji w dalszych badaniach, wykorzystuje się modele symulujące warunki *in vivo*. Tego typu przyrządy służą do weryfikacji w warunkach *in vitro* preparatów i możliwości ich zastosowania w celach leczniczych.

CHROMATOGRAFIA W WALCE Z DOPINGIEM

Teresa Glomb¹, Agnieszka Bodalska², Piotr Świątek¹

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

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

Doping u sportowców od lat stanowi ogromny problem na całym świecie. Organizacją stojącą na straży „czystości” w sporcie jest Światowa Agencja Antydopingowa (WADA). Ustala ona minimalną wymaganą wartość granicznej wykrywalności dla poszczególnych substancji uznanych za dopingujące (Minimum Required Performance Levels – MRPL). Niestety u sportowców wykrywane są coraz to inne substancje niedozwolone, więc bardzo ważne jest by metody analityczne stosowane w badaniu antydopingowym posiadały jak najszersze spektrum, a także odpowiednią dokładność.

Dla laboratoriów akredytowanych przez WADA priorytetem jest rzetelność, selektywność oraz szybkość analizowania próbek. Dlatego muszą one posiadać w swoim wyposażeniu aparaturę najnowocześniejszą i posługiwać się metodami analitycznymi o najwyższej czułości. Metodami referencyjnymi w wykrywaniu dopingu są metody chromatograficzne sprzężone z tandemową spektrometrią mas. Jest to chromatografia gazowa (GC-MS/MS) oraz chromatografia cieczowa (LC-MS/MS). Najnowsze badania pokładają duże nadzieje w udoskonalonej metodzie chromatografii w obszarze nadkrytycznym (SFC). Jest to ultrasprawną chromatografią w obszarze nadkrytycznym połączoną z tandemową spektrometrią mas (UHPSLC-MS/MS). Metoda ta wykazuje dużą czułość, a także posiada liczne zalety w porównaniu z dotychczas stosowanymi metodami.

Problem z dopingiem na pewno jeszcze długo nie zostanie rozwiązany, ale udoskonalenie metod wykrywania niedozwolonych substancji może skutecznie zniechęcić sportowców do ich stosowania a tym samym przywrócić zdrową czysto sportową rywalizację.

ZASTOSOWANIE SPEKTROMETRII MASOWEJ W DIAGNOSTYCE NOWOTWORÓW JAJNIKA.

Izabela Jeśkowiak¹, Stanisław Ryng¹

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

Nowotwory jajników należą do najbardziej podstępnych, rozpoznawanych przypadkowo zwykle w znacznym stadium zaawansowania. Według bazy danych GLOBOCAN standaryzowany współczynnik zachorowalności w Polsce wynosi 13,6 na 100 tys. kobiet (2012 r.). Wczesne rozpoznanie tej choroby sprzyja przedłużeniu lub uratowaniu życia. Konieczne staje się opracowanie skutecznych metod wczesnej diagnostyki tego schorzenia. Nadzieją jest wyznaczenie nowych biomarkerów tego nowotworu, które wykryją znacznie wcześniej to schorzenie.

Dogodnym narzędziem przydatnym diagnostycznie jest spektrometria masowa pozwalająca uzyskać wiele istotnych informacji na temat badanych substancji. Głównymi zaletami spektrometrii masowej są rozdzielczość do kilku jednostek masy atomowej oraz dokładność wyznaczenia masy cząsteczkowej badanego związku chemicznego na podstawie widma, a także detekcja strukturalnych wariantów białek. Dzięki wykorzystaniu różnych technik spektrometrii masowej możliwe jest odczytanie mas cząsteczkowych peptydów i białek powyżej 200kDa w próbkach zawierających jedynie pikomolowe ilości analizowanych cząsteczek.

Gazowa chromatografia połączona ze spektrometrią masową i analizatorem czasu przelotu (ang. *gas chromatography – time of flight mass spectrometry*, GC-TOF MS) jest odpowiednią metodą badania surowicy krwi od pacjentek z nowotworem jajników. W celu wykonania analizy mieszaniny przed pomiarem widma masowego dokonuje się jej rozdziału za pomocą chromatografu gazowego. Produkty rozdziału chromatograficznego są następnie kolejno wprowadzane w fazie gazowej do źródła jonów spektrometru. Zaobserwowane zmiany profilu białek krwi u kobiet dotkniętych nowotworem jajnika są podstawą do określenia biomarkerów charakterystycznych dla tego stanu patologicznego.

Przedstawiona metoda diagnostyczna nie obciąża pacjentów, wymaga natomiast wykwalifikowanego personelu i specjalistycznej aparatury.

EUCOMMIA ULMOIDES OLIV. – SKŁAD FITOCHEMICZNY A DZIAŁANIE TERAPEUTYCZNE

Adam Kowalczyk

*Katedra i Zakład Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej,
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Eukomia wiązowata jest niewielkim, dwupiennym drzewem z rodziny Eucommiaceae występującym w stanie naturalnym w środkowych Chinach. W okresie plejstocenu zasięg tego gatunku był znacznie szerszy i sięgał aż po Europę. W Polsce odkryto kopalne szczątki tego gatunku m.in. na Śląsku. W Chinach eukomia ma bardzo szerokie zastosowanie lecznicze jako jedna z najważniejszych substancji roślinnych w medycynie tradycyjnej, w której wykorzystuje się najczęściej korę z 15-20 letnich drzew, ale także kwiaty oraz owoce. Farmakopea Polska X wymienia korę eukomii jako roślinną substancję leczniczą, która powinna zawierać nie mniej niż 0,1% diglukozydu pinorezynolu. Badania farmakologiczne tego gatunku wskazują, że może on być stosowany w leczeniu nadciśnienia, cukrzycy, otyłości, osteoporozie czy w chorobie Alzheimer'a. Z pośród licznych związków obecnych w tym gatunku na szczególną uwagę zasługują lignany, związki fenolowe oraz irydoidy, które są jej głównymi składnikami oraz są ważnymi markerami chemotaksonomicznymi. Dwa główne lignany – glukozyd- i diglukozyd pineorezynolu wykazują działanie obniżające ciśnienie krwi. Kwas genipozydowy będący głównym irydoidem eukomii odpowiedzialny jest nie tylko za działanie obniżające ciśnienie krwi, ale również za działanie neuroprotecyjne. Z kolei kwas chlorogenowy i protokatechowy będące głównymi związkami fenolowymi kory eukomii warunkują jej działanie przeciwbakteryjne, antymutagenne, przeciwutleniające oraz także neuroprotecyjne. Przy pomocy technik analitycznych HPLC/MS/MS oraz UPLC-MS opracowano metody oznaczania wybranych związków odpowiedzialnych za działanie farmakologiczne zarówno w materiale roślinnym jak i w surowicy szczurów po podaniu doustnym wyciągów z eukomii.

II.
SESJA POSTEROWA

P1

NIEINWAZYJNA DIAGNOSTYKA WAD GENETYCZNYCH PŁODU Z WYKORZYSTANIEM PRÓBEK KRWI MATKI

Agata Babst¹, Karolina Jaroszewska¹, Izabela Kokot², Katarzyna Sołkiewicz², Lilla Pawlik-Sobecka², Sylwia Płaczkowska²

¹*Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Opiekun Pracy: dr Sylwia Płaczkowska

²*Zakład Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Badania prenatalne wykonywane w celu wykrycia wad genetycznych płodu, dzielimy na inwazyjne i nieinwazyjne. Badania inwazyjne, związane są koniecznością pobrania komórek płodu i ryzykiem wystąpienia powikłań, np. poronienia, natomiast ich zaletą możliwość potwierdzenia lub wykluczenia wady z bardzo dużym prawdopodobieństwem. Badania inwazyjne są badaniami diagnostycznymi. Badania nieinwazyjne, oparte są na wskaźnikach biochemicznych oraz wynikach badań obrazowych, mogących świadczyć o obecności wad genetycznych, a ich wyniki określają ryzyko wystąpienia tych wad zaburzeń. Nieprawidłowy wynik badań nieinwazyjnych jest wskazaniem do wykonania badań inwazyjnych.

Metodą mogącą połączyć dokładność metod inwazyjnych z bezpieczeństwem metod nieinwazyjnych jest test NIFTY (Noneinvasive Fetal Trisomy Test). Pozwala on na wykrycie najczęściej występujących trisomii: chromosomów 13 (zespół Patau), 18 (zespół Edwardsa) oraz 21 (zespół Downa), monosomii X (zespół Turnera), XXY (zespół Klinefeltera), XXX, XYY oraz zespołu mikrodelecji: 5p (zespół kociego krzyku), 1p36, 2q33.1 na podstawie badania DNA płodu krążącego we krwi matki (cffDNA, ang. cel free fetal DNA). Wolne DNA płodu pojawia się w osoczu krwi matki w wyniku dwukierunkowej wymiany materiału genetycznego między matką a płodem, a źródłem cffDNA są prawdopodobnie komórki łożyska, które przeszły apoptozę. Metodą testu NIFTY opiera się na pobraniu krwi od matki, izolacji wolnego DNA matki i płodu, a następnie zastosowaniu metody identyfikacji i badania DNA płodowego przez wykrycie zaburzeń ilościowych lub analizę polimorfizmu pojedynczego genu. Opracowanie uzyskanych wyników wymaga zastosowania złożonego oprogramowania komputerowego zdolnego do analizy ogromnej liczby danych uzyskanych w trakcie badania.

Jednak test ten nie jest w stanie zastąpić całkowicie diagnostyki inwazyjnej, ponieważ aktualnie nie wykrywa wad innych niż opisane powyżej. Jest on jednak bardzo dobrym rozwiązaniem dla kobiet obawiających się powikłań badań inwazyjnych, a także mających przeciwwskazania do ich wykonania, po zabiegach in vitro lub jako alternatywa dla testów w PAPP-A. Nieprawidłowy wynik testu NIFTY powinien być potwierdzony testami inwazyjnymi, jednak ostateczna decyzja o wykonaniu tych badań należy do kobiety.

P3

WPLYW NARYNGENINY NA AKTYWNOŚĆ AMINOTRANSFERAZ ORAZ PROFIL LIPIDOWY U SZCZURÓW Z CUKRZYCĄ TYPU 1

Karol Bedkowski, Weronika Wojnar, Sławomir Dudek, Maria Zych, Anna Bońska, Iga Bicz,
Ilona Kaczmarczyk- Sedlak

*Katedra i Zakład Farmakognozji i Fitochemii, Wydział Farmaceutyczny z O. Medycyny
Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

Naryngenina jest związkiem pochodzenia roślinnego należącym do grupy flawanonów. Najbogatszym źródłem naryngeniny są owoce cytrusowe – grejpfrut (*Citrus paradisi*) i pomarańcza (*Citrus chinensis*). Przeprowadzone badania wykazały aktywność farmakologiczną naryngeniny obejmującą działanie przeciwzapalne i antyoksydacyjne. Poznane jest również jej oddziaływanie na układ sercowo-naczyniowy, którego wykładnikiem jest korzystny wpływ na profil lipidowy oraz działanie hepatoprotekcyjne.

Celem pracy była analiza parametrów profilu lipidowego oraz aktywności enzymów wątrobowych w surowicy u szczurów z cukrzycą typu 1, u których stosowano naryngeninę.

Badania zostały przeprowadzone na samcach szczurów szczepu Wistar (n=8-9), które zostały podzielone na 4 grupy: C-grupa kontrolna, DM-grupa z wywołaną cukrzycą, Nar50-grupa z wywołaną cukrzycą, której podawano naryngeninę w dawce 50 mg/kg *po* i Nar100-grupa z wywołaną cukrzycą, której podawano naryngeninę w dawce 100 mg/kg *po*. Cukrzyca typu 1 została wywołana metodą jednorazowego dootrzewnowego podania streptozotocyny w dawce 60 mg/kg. Naryngenina była podawana przez 4 tygodnie. Po uśmierceniu szczurom została pobrana krew, która posłużyła do oznaczenia parametrów: cholesterol całkowity (TC), frakcja lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL), frakcja lipoprotein o niskiej gęstości (LDL), triglicerydy (TG), aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AST) i aktywność aminotransferazy alaninowej (ALAT).

Indukcja cukrzycy typu 1 spowodowała wzrost wartości TC, TG, LDL oraz AST i ALAT. Nastąpił również spadek wartości HDL. W grupach Nar50 i Nar100 zaobserwowano istotny statystycznie wzrost wartości HDL oraz zmniejszenie wartości TC i LDL. Stężenie TG w grupie Nar50 również uległo zmniejszeniu. W grupie Nar100 spadek TG okazał się nieistotny statystycznie. W grupie Nar100 zaobserwowano zmniejszenie stężenia AST.

Wniosek: Na podstawie przeprowadzonej analizy parametrów lipidogramu oraz stężenia enzymów wątrobowych można potwierdzić korzystny wpływ naryngeniny u szczurów z indukowaną cukrzycą typu 1.

WPLYW DIOSMINY NA PROFIL LIPIDOWY ORAZ AKTYWNOŚĆ AMINOTRANSFERAZ W SUROWICY KRWI SZCZURÓW Z INDUKOWANĄ CUKRZYCĄ TYPU 1

Iga Bicz, Weronika Wojnar, Sławomir Dudek, Maria Zych, Anna Bońka, Karol Będkowski,
Ilona Kaczmarczyk- Sedlak

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji i Fitochemii, Katedra i Zakład Farmakognozji i Fitochemii, Wydział Farmaceutyczny z O. Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Wątroba zaliczana jest do jednych z najbardziej wrażliwych organów na stres oksydacyjny towarzyszący hiperглиkემii. Wśród biochemicznych markerów świadczących o uszkodzeniu wątroby wyróżnić można zmiany aktywności aminotransferaz: alaninowej oraz asparaginowej. Zwiększenie aktywności tych enzymów koreluje z podwyższonym poziomem triglicerydów oraz cholesterolu całkowitego we krwi.

Diosmina należąca do flawonoidów posiada udowodnioną aktywność antyoksydacyjną, przeciwzapalną, jak również antyhiperglikemiczną. Można więc przypuszczać, że jej zastosowanie może być skuteczne w leczeniu zaburzeń metabolizmu lipidów w przebiegu cukrzycy.

Celem niniejszej pracy było zbadanie zmian profilu lipidowego i aktywności aminotransferaz w przebiegu cukrzycy oraz wpływu diosminy na te zmiany w surowicy krwi szczurów z cukrzycą typu 1.

Badanie przeprowadzono na dojrzałych samcach szczurów szczepu Wistar (n=8-9). U zwierząt cukrzycę typu 1 zaindukowano za pomocą streptozotocyny w dawce 60 mg/kg *i.p.* Zwierzęta podzielono na 4 grupy doświadczalne: K- szczury kontrolne zdrowe, DM- szczury kontrolne z cukrzycą, Dio50 i Dio100- szczury z cukrzycą otrzymujące diosminę w dawce odpowiednio 50 mg/kg *po* oraz 100 mg/kg *po*.

Wpływ diosminy na profil lipidowy oceniono na podstawie wyników uzyskanych poprzez analizę zawartości cholesterolu całkowitego (TotC), frakcji triglicerydów (TG), lipoprotein wysokiej gęstości (HDL), lipoprotein niskiej gęstości (LDL) oraz aktywności aminotransferaz: alaninowej (ALAT) i asparaginowej (AspAT) w surowicy krwi zwierząt.

Wywołanie cukrzycy typu 1 spowodowało wzrost aktywności markerów świadczących o uszkodzeniu wątroby- ALAT, AspAT. Ponadto w surowicy krwi zaobserwowano wzrost stężenia TotC, TG i LDL, a zmniejszenie stężenia HDL. W grupach Dio50 i Dio100 odnotowano istotny statystycznie wzrost stężenia HDL oraz spadek LDL. Zaobserwowano również nieistotny spadek stężenia TotC i TG oraz aktywności ALAT. Obniżenie aktywności AspAT nastąpiło jedynie po podaniu diosminy w dawce 100 mg/kg.

Wyniki uzyskane na podstawie analiz mogą świadczyć o korzystnym wpływie diosminy na profil lipidowy oraz aktywność enzymów wątrobowych w surowicy szczurów z cukrzycą typu 1.

ZASTOSOWANIE CHROMATOGRAFII GAZOWEJ W OCENIE JAKOŚCI WYCIĄGÓW ROŚLINNYCH.

Agnieszka Bodalska¹, Teresa Glomb², Izabela Fecka¹

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

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

Surowce roślinne, najczęściej w postaci wyciągów, są składnikami leków i suplementów diety. W produktach leczniczych wyciągi roślinne są traktowane jak substancje czynne i muszą spełniać wymagania dla Active Pharmaceutical Ingredient (API). Aby uzyskać biologicznie aktywny wyciąg, ekstrakcję surowca roślinnego prowadzi się rozpuszczalnikami organicznymi lub ich mieszaninami.

Projektując metodę izolacji związków czynnych należy wziąć pod uwagę toksyczność i limity stężeń pozostałości rozpuszczalników w otrzymanym wyciągu. Wytyczne *International Conference on Harmonisation* (ICH Q3C R6) określają m.in. limity lotnych zanieczyszczeń organicznych, których wartości zależą od klasy toksyczności użytego do ekstrakcji rozpuszczalnika oraz od drogi podania leku. Zgodnie z wytycznymi rozpuszczalniki są podzielone na trzy klasy toksyczności, 1 - o udowodnionym i przypuszczalnym działaniu kancerogennym na ludzi (np. benzen), 2 – obejmująca rozpuszczalniki których użycie powinno być ograniczane ze względu na ich neurotoksyczność i teratogenność (metanol) i 3 klasa o niskiej toksyczności (etanol, izopropanol).

Metoda chromatografii gazowej umożliwia analizę jakościowo-ilościową pozostałości lotnych rozpuszczalników. Celem pracy był przegląd doniesień literaturowych z zakresu metod chromatografii gazowej wykorzystywanych do oznaczania pozostałości rozpuszczalników organicznych określających jakość wyciągu. Najczęściej oznaczanymi rozpuszczalnikami są: izopropanol, etanol oraz metanol. Analizę chromatograficzną przeprowadza się metodą kalibracji bezwzględnej, wzorca zewnętrznego lub z dodatkiem substancji oznaczanej. Wyniki analiz zgodne ze specyfikacją producenta muszą być zamieszczone w dokumentacji potwierdzającej jakość wyciągów.

Użycie chromatografii gazowej przez producentów leków gwarantuje, że wytworzone produkty spełniają wymagania pozwolenia na dopuszczenie do obrotu.

METODY ANALITYCZNE W BADANIACH SFALSZOWANYCH LEKÓW

Magdalena Bojzan¹, Katarzyna Karłowicz-Bodalska²

¹ *Studenckie Koło Naukowe Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Opiekun Pracy: mgr farm. Katarzyna Karłowicz-Bodalska

² *Zakład Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Sfalszowany produkt leczniczy to lek o nieodpowiedniej jakości, wyprodukowany nielegalnie, poza wiedzą podmiotu odpowiedzialnego oraz bez zgody organów Państwowej Inspekcji Farmaceutycznej. Ten proceder może dotyczyć wszystkich leków – zarówno oryginalnych, jak i generycznych. Sfalszowane leki działają zbyt słabo, nieodpowiednio lub nie działają wcale, sfalszowany lek może także zawierać inną substancję czynną niż podana na opakowaniu. Najczęściej podrabianymi lekami są sterydy anaboliczne, preparaty odchudzające, na problemy z erekcją oraz leki antykoncepcyjne. Szczególnie niebezpieczne dla życia i zdrowia jest przyjmowanie leków wydawanych na receptę, kupionych za pośrednictwem Internetu- najmniej wiarygodnego źródła produktów leczniczych.

Celem pracy był przegląd doniesień literaturowych z zakresu metod analitycznych stosowanych do oznaczania sfalszowanych leków.

Ocena jakości sfalszowanych leków jest możliwa jedynie dzięki zastosowaniu odpowiednich metod analitycznych. Wykorzystuje się techniki chromatograficzne np. HPLC, analizę dyfrakcji rentgenowskiej XRD, która umożliwia dokładne ustalenie struktury badanego związku. Metoda ta polega na przepuszczeniu promieni X przez badany materiał. Główną zaletą tej metody jest to, że materiał badany np. tabletki nie ulegają uszkodzeniu, wadą jest niska przenikalność promieni X. Inną ze stosowanych metod jest spektrometria mas wykorzystująca zależność masy do ładunku elektrycznego danego jonu. Ze względu na skalę problemu jakim jest fałszownictwo leków metody nadal są udoskonalane.

**ANALIZA ZWIĄZKÓW CZYNNYCH ORAZ WŁAŚCIWOŚCI
PRZECIWBAKTERYJNYCH WYCIĄGÓW Z *UNCARIA TOMENTOSA*,
CRYPTOLEPIS SANGUIOLENTA,
BIDENS PILOSA I *ANDROGRAPHIS PANICULATA***

Jakub Cholewa, Mateusz Grzegoszczyk, Sławomir Dudek, Ilona Kaczmarczyk-Sedlak

*Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji
i Fitochemii, Katedra i Zakład Farmakognozji i Fitochemii, Wydział Farmaceutyczny
z O. Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny
w Katowicach*

Opiekun Pracy: Sławomir Dudek

Czepota puszysta (*Uncaria tomentosa*), *Cryptolepis sanguinolenta*, uczepek owłosiony (*Bidens pilosa*) i *Andrographis paniculata* to rośliny, których właściwości lecznicze znane są od dawna. Celem badania było oznaczenie potencjału oksyredukcyjnego, analiza związków czynnych znajdujących się w surowcu roślinnym oraz określenie ich właściwości bakteriostatycznych.

Wyciągi wykonano ze sproszkowanego surowca roślinnego wykorzystując do tego metanol 80%. W materiale roślinnym oznaczono zawartość fenoli w przeliczeniu na kwas galusowy, flawonoidów w przeliczeniu na kwercetynę, fenolokwasów w przeliczeniu na kwas kawowy i garbników w przeliczeniu na katechinę oraz antocyjanów. Potencjał antyoksydacyjny wyciągów roślinnych wyznaczono za pomocą metody ABTS z wykorzystaniem spektroskopii UV-VIS. W dalszej części eksperymentu ekstrakty zagęszczono na wyparce próżniowej a następnie poddano liofilizacji. Pozyskany liofilizat użyto w celu analizy właściwości przeciwbakteryjnych z zastosowaniem płytek agarowych. Próbkę kontrolną stanowiły dołki z samym agarem, kontrolą pozytywną był agar ze śliną stanowiącą źródło bakterii a kontrolę negatywną stanowił agar z antybiotykiem. Całość inkubowano przez 24 godziny.

Badania analityczne wykazały, że najwięcej substancji aktywnych znajduje się w czepocie puszystej: flawonoidy – 4,881 mg/ml, fenole – 2,713 mg/ml, fenolokwasy 9,634 mg/ml, garbniki 0,685 mg/ml. Roślina ta nie zawiera jednak antocyjanów, podobnie jak w przypadku wyciągu z *Cryptolepis sanguinolenta*. Najwyższym potencjałem antyoksydacyjnym charakteryzuje się *Uncaria tomentosa* (1,998±0,002 mmol troloksu/l). Analiza działania przeciwbakteryjnego wykazała, że jedynie w dołku zawierającym liofilizat z *Andrographis* pojawiły się kolonie bakterii.

Z przeprowadzonych analiz można wywnioskować, iż najlepszym źródłem substancji aktywnych jest czepota puszysta. Roślina ta posiada też najlepsze właściwości przeciwutleniające spośród badanych surowców roślinnych.

ULTRAMIKROELEKTRODY W ANALIZIE LEKÓW– BADANIA WSTĘPNE EFEDRYNY

Olimpia Gładysz

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

Metody elektrochemiczne takie jak polarografia i woltamperometria, są stosowane w analizie leków jako metody konkurencyjne dla innych metod analitycznych wymagających długiego czasu pomiarów i pracochłonnych etapów przygotowania próbek.

Zmniejszenie promienia elektrody dyskowej, z kilku milimetrów do kilkudziesięciu mikrometrów, poszerza możliwości zastosowań elektroanalitycznych. Definicja mikroelektrod odnosi się do elektrod o różnej geometrii, których przynajmniej jeden z wymiarów jest mniejszy od 50µm. Wymiar ten jest wówczas mniejszy od grubości warstwy dyfuzyjnej. W konsekwencji dyfuzja do elektrody zmienia się z liniowej na półsferyczną i zwiększa się transport masy. Rejestrowane wartości natężenia płynących prądów są rzędu kilku nA. Tak niskie wartości natężenia prądu umożliwiają potencjalne zastosowanie do pomiarów *in vivo*. Zaletą jest krótki czas pomiaru, możliwość stosowania małych objętości próbek oraz miniaturyzacji urządzeń pomiarowych. Ultramikroelektrody stanowią użyteczne narzędzie w oznaczeniach jakościowych i ilościowych leków w roztworach, płynach ustrojowych oraz do kontroli jakości produktów leczniczych.

Efedryna, alkaloid z gatunków *Ephedra*, wykazuje działanie sympatykomimetyczne, w efekcie podnosi ciśnienie krwi, przyspiesza czynność serca, zwęża naczynia krwionośne obwodowe, rozszerza oskrzela oraz pobudza o.u.n. Doustnie stosowana jest w leczeniu astmy. Wchodzi także w skład leków OTC, wspomagających stany zapalnych dróg oddechowych i zmniejszających obrzęk błony śluzowej nosa. Ze względu na działanie stymulujące, została uwzględniona przez World Anti-Doping Agency (WADA) na liście substancji zabronionych do stosowania podczas zawodów sportowych (zawartość w moczu powyżej 10µg/cm³). Stosowanie efedryny poza zawodami nie jest zabronione, zatem indywidualne ustalenie czasu usuwania efedryny z organizmu może zapobiec niezamierzonemu dopingowi. Wskazana jest kontrola zawartości efedryny w suplementach i preparatach ziołowych, pozostającym poza obrotem aptecznym. Szybka metoda detekcji może służyć zapobieganiu stosowania efedryny jako dopingi farmakologicznego.

Wstępne badania chlorowodoru efedryny, metodą woltamperometrii z wykorzystaniem ultramikroelektrody, wskazują na możliwość rejestrowania sygnału w postaci fali utleniania chlorowodoru efedryny w środowisku wodnym.

**ANALIZA ZWIĄZKÓW CZYNNYCH ORAZ WŁAŚCIWOŚCI
PRZECIWBAKTERYJNYCH WYCIĄGÓW Z *ARTEMISIA ANNUA*,
SCUTELLARIA BAICALENSIS I *STEPHANIA TETRANDRA***

Mateusz Grzegoszczyk, Katarzyna Szałabska, Sławomir Dudek, Ilona Kaczmarczyk-Sedlak

*Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji
i Fitochemii, Katedra i Zakład Farmakognozji i Fitochemii, Wydział Farmaceutyczny
z O. Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny
w Katowicach*

Opiekun Pracy: Sławomir Dudek

Rośliny już od najstarszych czasów były wykorzystywane jako źródło substancji leczniczych. Jednakże efekt działania wyciągów roślinnych zależy od ilości substancji biologicznie czynnych w nich zawartych.

Celem badania była analiza zawartości substancji czynnych w wyciągach z bylicy rocznej (*Artemisia annua*), tarczycy bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis*) oraz *Stephania tetrandra*, określenie ich potencjału oksydoredukcyjnego oraz zbadanie czy wyciągi te charakteryzują się działaniem przeciwbakteryjnym.

Materiał do badań stanowiły sproszkowane surowce roślinne. W pierwszym etapie wykonano wyciągi z materiału roślinnego wykorzystując metanol 80%. W wyciągach przeprowadzono analizę zawartości fenoli w przeliczeniu na kwas galusowy, flawonoidów w przeliczeniu na kwercetynę, fenolokwasów w przeliczeniu na kwas kawowy, garbników w przeliczeniu na katechinę oraz antocyjanów. Potencjał antyoksydacyjny wyciągów roślinnych wyznaczono za pomocą metody ABTS przy użyciu spektroskopii UV-VIS. Otrzymane wyciągi zagęszczono przy zastosowaniu wyparki próżniowej. Następnie zagęszczone ekstrakty poddano procesowi liofilizacji. Tak otrzymany produkt wykorzystano do badania właściwości przeciwbakteryjnych, które wykonano na płytce w dołkach wypełnionym agarem. Próbę kontrolną stanowiły dołki, w których umieszczono sam agar (kontrola negatywna), agar ze śliną będącej źródłem bakterii (kontrola pozytywna) oraz agar z antybiotykiem (kontrola negatywna). W kolejnych dołkach umieszczono liofilizaty oraz dokonano posiewu bakterii ze śliny. Całość inkubowano 24 godziny.

Spośród badanych roślin najwyższe stężenie antocyjanów (3,368 mg/ml), flawonoidów (2,075 mg/ml), fenoli (1,874 mg/ml) i fenolokwasów (1,089 mg/ml) oznaczono w wyciągu z tarczycy bajkalskiej. Wyciąg z tarczycy hamował również rozwój bakterii na płytce z agarem. Wartości potencjału oksydoredukcyjnego *Scutellaria baicalensis* i *Stephania tetrandra* były zbliżone i wynosiły ok. 2,0 mmol troloksu/l, natomiast bylicy rocznej – 1,3±0,024 mmol troloksu/l.

**ANALIZA FIZYKOCHEMICZNA I FUNKCJONALNA
LIZOSOMOTROPOWYCH SURFAKTANTÓW ODDZIAŁUJĄCYCH
Z CYTOCHROMEM C**

Tomasz Janek¹, Przemysław Czeleń², Jacek Łuczyński³

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

²*Katedra i Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum w
Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu*

³*Zakład Technologii Organicznej i Farmaceutycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika
Wrocławska*

Związki lizosomotropowe są aktywnymi biologicznie substancjami o zróżnicowanej budowie strukturalnej, które ze względu na swoje właściwości kumulują się w lizosomach komórek nowotworowych. Duże stężenie związków lizosomotropowych prowadzi do zniszczenia błony lizosomów i wypływu enzymów niszczących komórkę. W błonie lizosomów, analogicznie jak w błonie zewnętrznej mitochondrium powstają kanały przepuszczające substancje zgromadzone w lizosomach. Dochodzi do zakwaszenia środowiska komórki, co wtórnie aktywuje mitochondrialną ścieżkę apoptozy. Spośród mitochondrialnych białek proapoptotycznych wiele uwagi poświęcono cytochromowi *c*.

Szerokie spektrum aktywności biologicznej surfaktantów lizosomotropowych było podstawą do przeprowadzenia badań oddziaływań kationowych związków powierzchniowo czynnych z cytochromem *c*, sygnałowym białkiem procesu apoptozy. W celu określenia właściwości fizykochemicznych kompleksów surfaktant – cytochrom *c* przeprowadzono analizę ilościową i jakościową adsorpcji w układzie woda/powietrze. Mikroskopowe mechanizmy oddziaływania cytochromu *c* z kationowymi surfaktantami, w tym zbadanie zmian struktury drugorzędowej pod wpływem surfaktantów analizowano za pomocą *dichroizmu kołowego*, spektroskopii fluorescencyjnej oraz metodą dynamicznego rozpraszania światła. Cennym uzupełnieniem badań eksperymentalnych było komputerowe modelowanie zachowania się cytochromu *c* w obecności kationowych surfaktantów. Do opisu oddziaływań użyte zostały pola siłowe AMBER.

P11

METODY SPEKTROSKOPOWE W BADANIU ZWIĄZKÓW O POTENCJALNYM ZNACZENIU FARMACEUTYCZNYM

Anna Janicka-Kłos

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

Szereg metod powszechnie stosowanych w badaniach farmaceutycznych jak i w badaniach medycznych opartych jest na oddziaływaniu promieniowania elektromagnetycznego z materią. Metody spektroskopowe służą między innymi do identyfikacji substratów, określania budowy i oznaczania ilościowego produktów reakcji czy oznaczania zanieczyszczeń w produktach leczniczych. Można je pogrupować i podzielić ze względu na rodzaj promieniowania, zastosowanie czy koszt badań. Do najpopularniejszych zalicza się między innymi technikę spektroskopii w zakresie widzialnym i bliskiego nadfioletu (UV-Vis), podczerwieni (IR, FTIR), spektroskopię Rammana, dichroizmu kołowego (CD), fluorymetrię, spektroskopię jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR) czy paramagnetycznego rezonansu elektronowego (EPR). Techniki te, wzajemnie się uzupełniając dają pełen obraz analizowanych substancji umożliwiając ich identyfikację ilościową, jakościową, strukturalną a nawet pozwalają określić sposób ich wiązania z innymi substancjami *in vivo* i *in vitro*.

Podczas syntezy i prac badawczych nad lekami mogą powstawać substancje wywołujące efekt niekorzystny, a wręcz toksyczny dla organizmów żywych, w związku z czym bardzo ważne jest aby związki te były „czyste” pod względem jakości jak i ilości produktu. Ponadto wiele związków o identycznej budowie lecz różnej stereochemii wykazuje różne właściwości farmakokinetyczne i farmakodynamiczne, dlatego też istotna jest dokładna analiza zależności pomiędzy budową a aktywnością farmakologiczną substancji leczniczych, w oparciu o nowoczesne techniki analityczne.

Niezmiernie ważnym aspektem zastosowania metod spektroskopowych w analizie farmaceutycznej i medycznej jest niewątpliwie szerokie spektrum możliwości doboru odpowiedniej techniki w zależności od warunków i potrzeb. Jedną z ciekawszych jest możliwość badania powinowactwa, sposobu i mechanizmu wiązania substancji z białkami transportującymi, błonowymi czy docelowym miejscem działania leku w organizmie żywym.

DIAGNOSTYKA MOLEKULARNA ALERGII IGE ZALEŻNYCH

Aleksandra Kiraga, Aneta Filipek¹, Izabela Kokot², Katarzyna Sołkiewicz², Lilla Pawlik-Sobecka²,
Sylwia Płaczkowska²

¹ *Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Opiekun Pracy: dr Sylwia Płaczkowska

² *Zakład Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Alergia IgE zależna jest to stan nadmiernej odpowiedzi układu immunologicznego, u podstaw którego leżą reakcje alergenu (antygeny) z przeciwciałami klasy IgE. Obecnie stanowi ona powszechny i wciąż narastający problem zdrowotny we wszystkich grupach wiekowych. Może się manifestować różnymi stanami klinicznymi, od niegroźnego, lecz uciążliwego kataru siennego, po będący stanem bezpośredniego zagrożenia życia - wstrząs anafilaktyczny. Z tego powodu, bardzo ważna jest jej precyzyjna diagnostyka, która pozwala na unikanie kontaktu z konkretnym alergenem oraz wdrożenie odpowiedniego leczenia.

Złotym standardem diagnostyki alergologicznej jest wykonywanie prób prowokacyjnych oraz testów skórnych z wykorzystaniem naturalnych ekstraktów alergenowych, które w rzeczywistości są mieszaniną wielu alergenów, a dokładniej wielu komponent alergenowych składających się z dużej liczby epitopów specyficznych i niespecyficznych gatunkowo. Te pierwsze odpowiedzialne są za uczulenia pierwotne, natomiast drugie mogą być powodem reakcji krzyżowych. Testy z zastosowaniem takich ekstraktów nie pozwalają na odróżnienie tych dwóch mechanizmów, co stwarza potrzebę wdrożenia metod bardziej specyficznych.

Molekularna diagnostyka alergii IgE zależnych jest metodą oceniającą obecność i miano swoistych przeciwciała klasy IgE, skierowanych przeciwko alergenom rekombinowanym (uzyskanych przy użyciu inżynierii genetycznej) lub wysokooczyszczonym naturalnym składnikom alergenu. Opiera się głównie na technikach wykorzystujących mikromacierze i jednoczesną analizę nawet kilkuset epitopów, pochodzących z różnych źródeł alergenowych. Testy te pozwalają wykryć nie tylko rodzaj alergenu, ale również konkretne białko lub jego fragment, na które pacjent jest uczulony i określić indywidualny profil immunologiczny alergii. Zastosowanie tej innowacyjnej metody daje możliwość odróżnienia uczulenia pierwotnego od reakcji krzyżowych oraz oszacowania ryzyka wystąpienia poszczególnych objawów chorobowych. Pozwala również na personalizację terapii, polegającej na dostosowaniu leczenia i zaleceń dietetycznych do potrzeb konkretnego pacjenta, a w konsekwencji, ogólną poprawę jakości życia alergików.

KAPILAROSKOPIA JAKO NIEINWAZYJNA METODA DIAGNOSTYCZNA W CHOROBYCH REUMATYCZNYCH

Izabela Kokot¹, Sylwia Płaczowska², Katarzyna Sołkiewicz¹, Lilla Pawlik-Sobecka¹

¹*Zakład Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

²*Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Choroby reumatyczne należą do zapalnych chorób tkanki łącznej, w przebiegu których dochodzi do zmian morfologicznych, głównie w obrębie małych i średnich naczyń krwionośnych, określanymi mianem *vasculitis*. Obserwowane zmiany morfologiczne nie są swoiste dla określonej jednostki chorobowej, występują np.: w zapaleniu skórno-mięśniowym, zespole Sjögrena, toczeniu rumieniowatym układowym, reumatoidalnym zapaleniu stawów czy krioglobulinemii.

W medycynie poszukuje się nieinwazyjnych metod diagnostycznych, które pozwalają na wczesne wykrywanie nieprawidłowości – w tym przypadku naczyniowych. Jedną z takich metod jest kapilaroskopia, która jest stosunkowo prostą i tanią metodą, o dużej powtarzalności, pozwalającą przyżyciowo zobrazować najczęściej zmiany w obrębie mikrokrążenia obecne w skórze wale paznokciowego. Badanie wykonuje się przy użyciu technik powiększających, tj. mikroskopu świetlnego (powiększenie 10-100x) lub wideokapilaroskopu, z dodatkowym źródłem światła zimnego oraz olejku immersyjnego. W celu prawidłowego przeprowadzenia badania, pacjent w ciągu 3-4 tygodni poprzedzających planowane badanie nie powinien usuwać naskórka znajdującego się przy wale paznokciowym, ani stosować zabiegów prowadzących do jego uszkodzenia (np. manicure, tipy). Rutynowo badaniu poddawane są cztery palce obu rąk (II-V). Na badanie kapilaroskopowe składa się nie tylko ocena morfologiczna naczyń włosowatych, ich liczba, kształt, rozmiar, architektura, lecz również np.: stopień wypełnienia kapilar, ocena przepływu erytrocytów oraz widoczność podbrodawkowego splotu żylnego.

Największe znaczenie diagnostyczne kapilaroskopii wśród chorób reumatycznych obserwuje się w przypadku twardziny układowej, ze względu na charakterystyczne cechy morfologiczne naczyń włóściwkowych. Kapilaroskopia jest jednym z kryteriów wczesnego rozpoznania twardziny układowej, a także koreluje z aktywnością choroby, umożliwiając monitorowanie efektów leczenia. Zaobserwowano, że również w przebiegu toczenia rumieniowatego układowego kapilaroskopia koreluje z obecnością autoprzeciwciał i powikłań narządowych oraz aktywnością choroby. Kapilaroskopia ma szczególne zastosowanie w diagnostyce i różnicowaniu pierwotnego i wtórnego objawu Raynauda. Obserwowane zmiany w obrębie mikrokrążenia, znacznie wyprzedzają rozwój powikłań narządowych, umożliwiając wczesną prewencję u tych pacjentów.

**OCENA SKŁADU LEKU RECEPTUROWEGO NA BAZIE
*SALVIAE FOLIUM***

Adam Kowalczyk¹, Maria Francesca Batzella², Izabela Fecka¹

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

²*Ersamus student, Faculty of Biology and Pharmacy, University of Cagliari, Italy*

Jednym z najczęściej wykorzystywanych w lecznictwie gatunków roślin leczniczych jest szalwia lekarska - *Salvia officinalis* L zawierająca ponad 160 związków czynnych z takich grup chemicznych jak kwasy fenolowe, flawonoidy, związki terpenowe czy olejki eteryczne. Z różnorodności składu chemicznego wynika wielokierunkowość jej działania. Może być stosowana m.in. jako *remedium adstringens, antiphlogisticum, antihydroticum, cholagogum et cholericum*.

Celem podjętej pracy badawczej było porównanie zawartości wybranych związków polifenolowych (kwas rozmarynowy, kwas kawowy, luteolina, 7-O-glukuronid luteoliny) w tradycyjnym leku recepturowym na bazie liścia szalwii oraz w różnych przetworach otrzymywanych z tego gatunku takich jak: wyciąg alkoholowy, napar, odwar metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Przeprowadzona analiza wykazała, że 50% wyciąg alkoholowy zawierał największą, a lek recepturowy najmniejszą ilość sumy oznaczanych polifenoli. W leku recepturowym poniżej poziomu detekcji była luteolina oraz 7-O-glukuronid luteoliny, zawartość kwasu rozmarynowego ulegała znacznemu obniżeniu. Obecność kwasu bornego i altacetu miała istotny wpływ na zawartość analizowanych polifenoli w mieszaninach modelowych substancji wzorcowych jak i skład leku recepturowego.

**ODDZIAŁYWANIE NOWYCH POCHODNYCH PIRIDYNO-1,3(2H)
DIONÓW Z ALBUMINĄ. BADANIA SPEKTROSKOPOWE
I DOKOWANIE**

Edward Krzyżak¹, Aleksandra Marciniak¹, Dominika Szkatuła²

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

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

Pochodne 1H-pirololo[3,4-c]pirydyno-1,3(2H)-dionu są ważnymi związkami o stwierdzonym działaniu analgetycznym. Z biofarmaceutycznego punktu widzenia jedną z najważniejszych funkcji biologicznych albumin jest ich zdolność do przenoszenia leków. Oddziaływanie Lek-Albumina może doprowadzić do tworzenia stabilnego kompleksu. W toku niniejszych badań otrzymano trzy nowe pochodne różniące się podstawnikiem w pierścieniu fenylowym. Stosując metody spektroskopii fluorescencyjnej i spektroskopię dichroizmu kołowego zbadano interakcje analogów z albuminą. Stwierdzono tworzenie się stabilnych kompleksów i wyznaczono stałe wiązania. Stosując markery, określono miejsca wiązania. Metodami obliczeniowymi przeprowadzono dokowanie molekularne badanych związków do albuminy. Wyznaczono preferowane miejsca powstawania kompleksu, charakter oddziaływania i energię wiązania.

P16

NOWE AMINOBISFOSFONIANY - BADANIA KOORDYNACYJNE WZGLĘDEM BIOLOGICZNIE AKTYWNYCH JONÓW METALI

Katarzyna Lipke¹, Hanna Czapor-Irzabek², Ewa Chmielewska³, Joanna Gałęzowska¹

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

Opiekun Pracy: dr Joanna Gałęzowska

² *Pracownia Analizy Elementarnej i Badań Strukturalnych, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

³ *Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej, Politechnika Wroclawska*

Przedmiotem powyższych badań są dwa nowe związki bisfosfonianowe (L¹, L²) o potencjalnych właściwościach biologicznych. Bisfosfoniany znajdują zastosowanie w medycynie jako leki antyresorpcyjne w chorobach kości, głównie osteoporozie. W niniejszej pracy przebadano ich właściwości chelatujące względem jonów metali. Do badań wybrano kationy o dużym znaczeniu dla organizmu ludzkiego oraz patogenezie osteoporozy.

Właściwości fizyko-chemiczne badanych ligandów zostały zbadane za pomocą trzech metod analitycznych: miareczkowania potencjometrycznego, spektroskopii UV-Vis oraz spektroskopii mas. Głównym celem badań było ustalenie zdolności koordynacyjnych ligandów względem biologicznie aktywnych jonów metali z grupy mikro- i makroelementów, jakimi są Ca²⁺ oraz Cu²⁺ oraz zbadania trwałości utworzonych kompleksów, ich stechiometrii jak również określenia atomów donorowych uczestniczących w wiązaniu ligandów

WYKORZYSTANIE SPEKTROMETRII RAMANOWSKIEJ W ANALIZIE SUROWCÓW FARMACEUTYCZNYCH PRZEZNACZONYCH DO PRODUKCJI WIELKOTONAŻOWEJ

Anna Lisik, Ewa Pilch, Witold Musiał

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

Obecnie istnieje wiele różnych metod służących identyfikacji surowców farmaceutycznych, a często opracowuje się je z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), chromatografii cienkowarstwowej (TLC) chromatografii gazowej (GC) oraz spektroskopii w podczerwieni i bliskiej podczerwieni (FTIR i NIR). Niestety problemem przy wykorzystaniu tych metod jest stosunkowo długi czas niezbędny do przygotowania analizowanych próbek, jak i odpowiedni czas samej analizy. Dlatego coraz częściej, chcąc szybko potwierdzić tożsamość analizowanego związku, próbuje się wykorzystywać spektrometrię ramanowską.

Spektrometria Ramana, komplementarna z popularną metodą spektroskopii w podczerwieni, polega na zjawisku rozpraszania światła, w którym badana próbka zostaje naświetlona intensywnym światłem monochromatycznym - najczęściej światłem z lasera. Natężenie światła rozpraszanego przez tą próbkę zostaje zarejestrowane w zależności od zmian częstotliwości tego światła, względem światła padającego na próbkę. Dzięki obu tym technikom możliwa jest obserwacja drgań molekularnych w cząsteczkach badanych substancji.

Do głównych zalet spektrometrii Ramana należy szybkość i łatwość pomiaru. W tym wypadku zazwyczaj nie ma konieczności przygotowania próbki i aparatury do analizy. Wytwórcy często wykorzystują lekkie, przenośne, łatwe w obsłudze spektrometry ramanowskie, które umożliwiają badanie surowca w różnego rodzaju opakowaniu, np. szklanym, plastikowym, a nawet w blistrach. Ułatwia to znacznie identyfikację oczekiwanego surowca farmaceutycznego.

Badania prezentowaną metodą były przez długie lata utrudnione ze względu na silny efekt fluorescencji - zjawiska powstającego przy wykorzystaniu lasera w trakcie naświetlania próbki. Często sygnał fluorescencyjny był na tyle silny, że przysłaniał sygnał pochodzący od właściwej próbki, a wówczas identyfikacja związku była niemożliwa. Obecnie jednak stosuje się lasery, które działają w długości fali, w której zmniejszenie energii promieniowania lasera pozwala na zredukowanie efektu fluorescencji i tym samym identyfikację dużo większej ilości związków chemicznych.

Spektrometry Ramana są korzystnym rozwiązaniem w szczególności w produkcji wielkotonażowej, ponieważ znacząco minimalizują czas przyjęcia większości surowców farmaceutycznych do magazynu, często zapobiegają reklamacjom, są bardzo łatwe w obsłudze i zawierają ogromną bazę danych. Sprawia to, że mogą być używane rutynowo w pracy operacyjnej magazynów i działów produkcyjnych.

SYNTEZA, CHARAKTERYSTYKA I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA WYBRANYCH AMIDÓW I IMIDÓW

Marcin Listowski¹, Dorota Pogoda², Agnieszka Matera-Witkiewicz¹,
Veneta Videnova-Adrabińska²

¹*Pracownia Przesiewowych Testów Aktywności Biologicznej i Gromadzenia Materiału Biologicznego. Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej. Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

²*Zakład Chemii Nieorganicznej i Strukturalnej. Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej, Politechnika Wroclawska*

Synteza w stanie stałym (*ang. Solid-State Synthesis, S³*) jest atrakcyjną metodą syntezy nowych związków chemicznych, opartej na zasadach zielonej chemii. Synteza ta, umożliwia otrzymywanie nowych molekuł z wysoką wydajnością i selektywnością reakcji, przy jednoczesnym ograniczeniu lub całkowitej eliminacji szkodliwych produktów ubocznych.

Głównym celem naszych badań była synteza i ocena aktywności biologicznej nowych związków amidowych i imidowych o potencjalnych właściwościach przeciwbakteryjnych lub przeciwnowotworowych. Zarówno amidy, jak i imidy wykazują szerokie spektrum aktywności biologicznej, m.in. właściwości przeciwgrzybiczne czy przeciwzapalne. Stąd też, skupiono się na zasady inżynierii krystalicznej, umożliwiającej projektowanie i syntezę nowych molekuł o potencjalnych właściwościach farmakologicznej.

Uzyskane związki poddano ocenie ich aktywności cytotoksycznej na linię nowotworową HeLa oraz linię prawidłową L929. Uzyskane wyniki z testów przesiewowych wskazują na potencjalną aktywność przeciwnowotworową badanych związków. Wykazują one większą toksyczność w kierunku linii nowotworowych niż prawidłowych. Dalsze badania nad otrzymanymi związkami przyczynią się do poznania mechanizmu ich działania oraz określenia ich ewentualnego zastosowania terapeutycznego.

ZASTOSOWANIE RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ (DSC) DO BADANIA WPLYWU NOWYCH POCHODNYCH OKSYKAMÓW NA WŁAŚCIWOŚCI DWUWARSTW FOSFOLIPIDOWYCH

Jadwiga Maniewska¹, Berenika Szczęśniak-Sięga¹,
Kamila Środa-Pomianek², Krystyna Michalak²

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

² *Katedra i Zakład Biofizyki, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Metoda różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC, *Differential Scanning Calorimetry*), należy do grupy metod termicznych (kalorymetrycznych), polegających na pomiarach efektów cieplnych związanych z przemianami fazowymi zachodzącymi w badanych układach (np. fosfolipidach). W analizie DSC mierzy się ciepło przemiany zachodzącej w próbce badanej podczas jej ogrzewania w warunkach liniowego wzrostu temperatury i rejestruje te zmiany w funkcji czasu lub temperatury. Zasada jej działania polega na pomiarze kompensacji energii koniecznej do eliminacji różnicy temperatur między próbką badaną a substancją wzorcową.

Fosfolipidy charakteryzują się polimorfizmem termotropowym, co oznacza, że wraz ze zmianą temperatury zmianom ulega także struktura tworzonej przez nie dwuwarstwy. W układach zawierających ponad 20% wody, zbudowanych z dipalmitoilofosfatydylocholin (DPPC) istnieją następujące formy upakowania dwuwarstwy lipidowej: struktura żelu, struktura pofałdowanego żelu, struktura ciekłego kryształu. Przejścia fazowe między poszczególnymi odmianami termotropowymi są endotermiczne i mogą być rejestrowane metodą DSC. Pierwsza z przemian to przedprzejście, które jest spowodowane fałdowaniem się dwuwarstwy i zmianą uwodnienia fosfolipidu. Drugie przejście to główna przemiana fazowa, wynikająca ze znacznego zwiększenia płynności dwuwarstwy, a co za tym idzie nasilenie swobody ruchu łańcuchów węglowodorowych fosfolipidów.

Związki, które wpływają na płynność lipidów błonowych, temperaturę i entalpię przejścia fazowego z żelu do stanu ciekłego kryształu mogą być zastosowane, jako modulatory oporności wielolekowej (MDR, *Multidrug Resistance*) w terapii przeciwnowotworowej. Wpływ modulujący na białka oporności wielolekowej wykazują leki z różnych grup farmakologicznych, m.in. niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ). NLPZY, oprócz działania przeciwbólowego i przeciwzapalnego, wykazały alternatywne właściwości chemoprewencyjne, co może zostać wykorzystane w onkologii [3]. Jedną z grup chemicznych należących do NLPZów są *oksykamy*, czyli pochodne *piroksykamu*, o strukturze benzo- lub tienotiazyny.

Celem naszych badań było określenie siły oddziaływania nowych pochodnych *oksykamów* na modelowe dwuwarstwy fosfolipidowe oraz ustalenie zależności struktura - aktywność w tej grupie związków.

P20

BADANIE KONKURENCYJNOŚCI WIĄZANIA JONÓW MIEDZI (II) PRZEZ ALBUMINĘ ORAZ CYKLICZNE HISTYDYLOWE ANALOGI SOMATOSTATYNY –ANALIZA SPEKTROSKOPOWA

Kamil Nowak, Aleksandra Marciniak

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

Opiekun Pracy: dr hab. Justyna Brasuń

Somatostatyna to hormon białkowy występujący w organizmie człowieka. Obecnie w medycynie używane są trzy jej analogi: oktreotyd, lanreotyd i pasyreotyd. Wykorzystuje się je m. in. w leczeniu choroby Cushinga, akromegalii czy guzów neuroendokrynych. Analogi stosowane są również w diagnostyce i terapii celowanej. Miedź jest mikroelementem niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Znanych jest 27 radionuklidów tego pierwiastka. Najistotniejszy z punktu widzenia stosowania go w medycynie jest ^{64}Cu . Izotop ten, w połączeniu z analogiem somatostatyny, może być użyty do diagnostyki i terapii chorób nowotworowych. Aktualnie nie ma radiofarmaceutyków zawierających radioizotopy miedzi, które są dopuszczone do powszechnego stosowania u ludzi.

Przedmiotem przeprowadzonych badań były dwa nowe analogi somatostatyny o sekwencjach: Ac-Asp-His-c(Cys-Phe-Trp-Lys-Thr-Cys)-Asp-His-NH₂ oraz Ac-His-Asp-c(Cys-Phe-Trp-Lys-Thr-Cys)-His-Asp-NH₂, które efektywnie koordynują jon miedzi(II). Obecność histydyny zwiększa skuteczność wiązania jonów metalu przez badane cząsteczki. Dzieje się tak, ponieważ w łańcuchu bocznym tej reszty aminokwasowej występuje silny donor dla jonów metali – azot z pierścienia imidazolowego.

Albumina to białko produkowane przez wątrobę, będące głównym składnikiem krwi. Pełni funkcje transportujące, m.in. transportuje jony miedzi (II). W związku z tym celem przeprowadzonych badań było określenie konkurencyjności wiązania kationów Cu(II) przez albuminę oraz cykliczne histydyłowe analogi somatostatyny. W tym celu zastosowano spektroskopię UV-Vis. Doświadczenie przeprowadzono w fizjologicznym zakresie pH.

WYKORZYSTANIE DANYCH Z LC-DAD I TESTÓW AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ W STATYSTYCZNEJ ANALIZIE GŁÓWNYCH SKŁADOWYCH - PCA

Agnieszka Nowicka¹, Izabela Fecka¹

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

Analiza głównych składowych (ang. *Principal Component Analysis*, PCA) – jest jedną ze statystycznych metod analizy czynnikowej stosowaną do zmniejszania rozmiaru zbioru danych bez straty zawartych w nich informacji a także stwierdzenia prawidłowości między zmiennymi. Test ten oparty jest na macierzy korelacji utworzonej ze zbioru wejściowego. Analiza znajduje m.in. wykorzystanie w określaniu zależności pomiędzy obecnością i zawartością składników oznaczonych metodami chromatograficznymi a ich aktywnościami biologicznymi.

Metody chromatografii cieczowej (LC, LC-DAD, LC-MS) umożliwiają ilościowe i jakościowe oznaczanie związków. Współcześnie wykorzystywane systemy chromatograficzne zapewniają zautomatyzowany i precyzyjny rozdział, powtarzalność czasów retencji i uzyskanych wyników. Dotychczas opracowano również szereg metod, które pozwalają określić potencjał przeciwutleniający wyciągów roślinnych. Należą do nich m.in. testy: DPPH, ABTS, ORAC, FRAP, CRA. W przytoczonych testach *in vitro* wykorzystywana jest zdolność antyoksydantów do dezaktywacji rodników. Reakcje te mogą przebiegać według dwóch mechanizmów: przeniesienia atomu wodoru lub pojedynczego elektronu.

Test PCA umożliwia powiązanie danych uzyskanych metodami chromatograficznymi z pomiarem aktywności biologicznych. W badaniach własnych posłużył określeniu, które grupy składników aktywnych lub indywidualne związki odpowiadają za działanie przeciwutleniające owoców poziomki truskawki *Fragaria x ananassa* (Weston) Duchesne.

Podczas wystąpienie przedstawiona zostanie analiza głównych składowych z wykorzystaniem wyników z oznaczeń ilościowych metody LC-DAD a także pomiaru aktywności przeciwutleniającej mierzonej testami ABTS i DPPH uzyskanych dla 90 odmian uprawnych owoców *F. ananassa*. Test PCA przeprowadzono przy pomocy programu Microsoft Office Excel z dodatkiem XLSTAT (Addinsorf, Francja).

ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII UV-Vis DO PORÓWNIANIA SIŁY WIĄZANIA JONÓW MIEDZI (II) PRZEZ CYKLOPEPTYDY Z MOSTKIEM DISIARCZKOWYM I ALBUMINĘ

Julia Olszewska-Kubiak, Aleksandra Kotynia

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

Opiekun Pracy: dr hab. Justyna Brasuń

Jednym z mikroelementów niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania organizmu jest miedź. Wzbudza ona duże zainteresowanie ze względu na możliwe wykorzystanie farmaceutyczne jej radionuklidów w celach diagnostycznych i terapeutycznych. Pierwiastek ten należy wprowadzić do organizmu w odpowiedniej postaci, dlatego poszukuje się związków chemicznych, które z miedzią utworzą kompleks o odpowiedniej trwałości. Peptydy posiadają duże znaczenie biologiczne, m.in. jako hormony, neuroprzekaźniki oraz regulatory transportu jonów. Struktura cykliczna może zwiększać powinowactwo wiązania do receptora w porównaniu z analogicznym peptydem liniowym. Dodatkowo w peptydach cyklicznych promowane jest wiązanie jonów metali przez łańcuchy boczne aminokwasów, dzięki czemu kompleksy te dobrze mimikują centra aktywne metaloenzymów. Obecność mostków disiarczkowych zwiększa także odporność peptydu na czynniki biochemiczne.

Do badania wybrano związki o sekwencji: CH β AHLKC oraz CH β A^DHKC, które w swej strukturze posiadają mostek disiarczkowy między resztami cysteinyłowymi. Związki te mogą wiązać jony miedzi z utworzeniem stabilnych form kompleksowych. Albumina jest białkiem stanowiącym ok. 60% wszystkich białek osocza krwi. Odpowiada między innymi za transport hormonów, kwasów tłuszczowych, leków oraz jonów metali przejściowych. Białko to może konkurować z wiązaniem jonów miedzi z innymi czynnikami chelatującymi, jak na przykład peptydy. Eksperyment polegał na zbadaniu konkurencyjności wiązania peptyd-miedź w fizjologicznym zakresie pH i sprawdzeniu czy albumina jest w stanie w tych warunkach wyprzeć miedź z badanego kompleksu peptydowego. Do porównania siły wiązania jonów miedzi (II) przez cyklopeptydy z mostkiem disiarczkowym i albuminę wykorzystano metodę spektroskopii UV-Vis.

OCENA INSULINOPORNOŚCI I INSULINOWRAZLIWOSCI W OPARCIU O POŚREDNIE METODY LABORATORYJNE

Lilla Pawlik-Sobecka¹, Izabela Kokot¹, Katarzyna Sołkiewicz¹, Sylwia Płaczkowska²

¹*Zakład Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

²*Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Zaburzenia węglowodanowe coraz częściej dotyczą młodych osób. U podstawy ich rozwoju leży stan oporności tkanek na insulinę, objawiający się hiperglikemią na czczo lub po posiłku. Jednak oporność tkanek na insulinę można wykryć znacznie wcześniej poprzez zastosowanie pośrednich wskaźników insulinooporności lub insulinowrażliwości. Idea obliczania wskaźników w stanie czynnościowym oparta jest na założeniu, że wartość iloczynu stężeń glukozy i insuliny mierzonych w trakcie doustnego testu obciążenia glukozą (DTTG) odpowiada insulinooporności całego organizmu. Występowanie wysokich stężeń insuliny, którym towarzyszy prawidłowa glikemia świadczy o zmniejszeniu zdolności tkanek do utylizacji glukozy, która jest kompensowana zwiększeniem wydzielania insuliny.

Wskaźniki HOMA

Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistant jest oparty na teoretycznym założeniu, że w okresie poresorbcyjnym, występuje wzajemna równowaga między wytwarzaniem glukozy przez wątrobę i sekrecją insuliny przez komórki β trzustki na zasadzie sprzężenia zwrotnego między tymi narządami. Wartości stężeń glukozy i insuliny na czczo podstawione do odpowiednich wzorów matematycznych służą obliczeniu wskaźników określających insulinooporność (HOMA1-IR, HOMA2-IR), insulinowrażliwości (HOMA S%) oraz wydolność komórek β trzustki (HOMA B%). Stałe współczynniki zastosowane w równaniach służących obliczaniu tych parametrów pozwalają na uzyskanie wyników, które w idealnej sytuacji metabolicznej powinny wynosić 1 dla HOMA1-IR oraz 100% dla HOMA B% i HOMA S%.

Matsuda Index

Może być obliczony na podstawie minimalnie dwóch oznaczeń glukozy i insuliny: na czczo oraz w 120 min. testu DTTG. Jednak im więcej punktów pomiarowych, tym większa wartość diagnostyczna wyniku, ze względu na uzyskanie precyzyjnego profilu insulinemii i glikemii w okresie resorbcyjnym.

Stosowanie wskaźników w codziennej praktyce medycznej jest możliwe, ponieważ oznaczanie glukozy i insuliny oraz przeprowadzanie DTTG są badaniami rutynowymi i małowyciecznymi. Obliczanie wskaźników wymaga jedynie wprowadzenia odpowiednich algorytmów do oprogramowania systemów laboratoryjnych. Wiedza na temat wartości omawianych wskaźników niesie istotną informację kliniczną, która może umożliwić szybkie wdrożenie działań prewencyjnych chorób metabolicznych, szczególnie u młodych osób.

ZASTOSOWANIE FTIR W ANALIZIE SUBSTANCJI LECZNICZYCH

Ewa Pilch, Anna Lisik, Witold Musiał

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

Spektroskopia FTIR (Fourier Transformed Infrared Spectroscopy) jest narzędziem stosowanym w laboratoriach badawczych do określania struktur związków chemicznych. Zastosowanie metody polega na obserwacji drgań atomów i wiązań pomiędzy atomami w cząsteczkach w spektrogramach zawartych w zakresie długości fal od 780 nm do 1 mm czyli w podczerwieni. Metoda spektroskopii w podczerwieni jest jedną z najwcześniejszych metod stosowanych do analizy drugorzędowej struktury białka. Stosuje się ją również w badaniach mikrobiologicznych do oceny biofilmów bakteryjnych. Skład biofilmu określany jest przez identyfikację łańcuchów oligo- i polisacharydowych, grup karboksylowych oraz grup estrowych. Prezentowana metoda analityczna znalazła również zastosowanie w badaniu mechanizmów adsorpcji. W przemyśle farmaceutycznym metodę spektroskopii FTIR stosuje się w analizie procesów krystalizacji, również w obecności zanieczyszczeń, w szerokim zakresie temperatur. Metoda pozwala na ilościowe określanie zawartości substancji leczniczej w gotowym preparacie leczniczym, jednak nie jest zalecana dla roztworów wodnych. Wynika to z faktu uzyskiwania szerokiego, przesłaniającego widma dla wody ze względu na występujące liczne drgania pochodzące z wiązań O-H. Wprowadzenie transformacji metodą Fouriera do spektroskopii w podczerwieni wpłynęło na poprawę jakości wyników badań związków chemicznych. Uzyskano większą dokładność badanych częstotliwości, zmniejszono ilość zakłóceń otrzymywanych widm oraz przyspieszono zapis wyników. Wpłynęło to na wzrost dokładności i powtarzalności wykonywanych badań. Poszczególne wiązania chemiczne charakteryzują się określonym zakresem widmowym. Do interpretacji widm przyjmuje się, że grupy funkcyjne absorbują w częstotliwości pomiędzy 4000 a 1500 cm^{-1} . Wiązania podwójne oraz potrójne w cząsteczkach charakteryzują się wyższymi liczbami falowymi niż wiązania pojedyncze. Zakres widma o częstotliwości poniżej 1500 cm^{-1} często jest bardzo specyficzny dla konkretnego typu podstawnika, stąd nazywany jest jako region odcisku palca. Otrzymany interferogram jest wynikiem interferometrycznej modulacji otrzymanego sygnału z całego zakresu podczerwieni.

ZASTOSOWANIE METODY TLC W POŁĄCZENIU Z DENSYTOMETRIĄ DO WYZNACZENIA LIPOFILOWOŚCI EPLERENONU

Karolina Raczek¹, Karolina Sośnierz¹, Katarzyna Syc¹, Małgorzata Dołowy²,
Alina Pyka-Pająk²

¹*Koło Naukowe Zakładu Chemii Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny z O. Medycyny
Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

Opiekun pracy: dr hab. Małgorzata Dołowy

²*Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny z O. Medycyny Laboratoryjnej
w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

Aktywność biologiczna związków organicznych, w tym również steroidów wiąże się bezpośrednio z ich właściwościami fizykochemicznymi. Jednym z podstawowych parametrów determinujących działanie substancji biologicznie aktywnych jest lipofilowość. Parametr ten jest często wykorzystywany w procesie projektowania nowych leków. Wśród wielu technik analitycznych stosowanych do wyznaczania lipofilowości, najbardziej uniwersalną metodą jest chromatografia cieczowa w odwróconym układzie faz tj. chromatografia cienkowarstwowa (RP-TLC) oraz wysokosprawną chromatografią cieczową (RP-HPLC).

W niniejszej pracy zastosowano metodę chromatografii cienkowarstwowej (RP-TLC) w połączeniu z densytometrią do wyznaczenia chromatograficznego parametru lipofilowości (R_{MW}) eplerenonu. Związek ten to przedstawiciel steroidów, który podobnie jak spironolakton wykazuje korzystne działanie w leczeniu nadciśnienia tętniczego. Dane literaturowe wskazują na brak eksperymentalnej wartości parametru lipofilowości eplerenonu. W związku z tym w powyższej pracy przeprowadzono analizę lipofilowości eplerenonu stosując metodę TLC i różne układy chromatograficzne, takie jak: płytki chromatograficzne pokryte żelem krzemionkowym RP-18F₂₅₄, RP-18WF₂₅₄, RP-2F₂₅₄ oraz metanol-woda, aceton-woda i dioksan-woda w różnym stosunku objętościowym jako fazy ruchome. Uzyskane w tych warunkach wartości chromatograficznego parametru lipofilowości zgodnie ze wzorem Soczewińskiego-Wachtmeistersa porównano z wartościami teoretycznymi współczynnika podziału logP uzyskanymi za pomocą różnych algorytmów obliczeniowych. Zaobserwowano zgodność pomiędzy wynikami R_{MW} otrzymanymi techniką RP-TLC oraz niektórymi wartościami logP.

Uzyskane wyniki wskazują na przydatność metody RP-TLC do wyznaczenia eksperymentalnej wartości parametru lipofilowości dla badanego eplerenonu.

Podziękowania

Badania finansowane przez Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach w 2017r.

ZASTOSOWANIE METOD SPEKTROSKOPOWYCH (¹H NMR, ¹³C NMR, IR, MS) ORAZ ANALIZY RENTGENOGRAFICZNEJ DO IDENTYFIKACJI O I N METYLOWYCH POCHODNYCH PIROLO[3,4-D]PIRYDAZYNONÓW

Aleksandra Redzicka¹, Andrzej Kochel²

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

² *Zakład Dydaktyczny Podstaw Chemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski*

W celu określenia przebiegu reakcji metylowania pirolo[3,4-*d*]pirydazyonów wykonano szereg eksperymentów z zastosowaniem jodku metylu (CH₃I). Reakcje prowadzono w różnych warunkach (K₂CO₃/acetonitryl, NaH/DMF, NaOEt/etanol). Produktami reakcji w każdym przypadku była mieszanina N i O izomerów.

Budowę nowych izomerycznych połączeń potwierdzono metodami spektralnymi (IR, ¹H NMR, MS), metodą krystalografii oraz analizy elementarnej.

Rozróżnienie izomerów na podstawie widma ¹H NMR było dość oczywiste w przypadku 2-β-hydroksyetylo pochodnych dla których w N-izomerach sygnały grup metylowych pierścienia pirolowego 5,7-CH₃, z uwagi na symetrię cząsteczki, występowały w formie sześcioprotonowych singletów. Natomiast w widmach ich O-izomerów protony 5,7-CH₃ obserwowano w formie dwóch trójprotonowych singletów.

Problem z rozróżnieniem izomerów pojawił się natomiast w przypadku 2-arylowych pochodnych pirolpirydazyonów dla których sygnały grup metylowych pierścienia pirolowego 5,7-CH₃ w obu przypadkach występowały w formie dwóch trójprotonowych singletów. Celem jednoznacznego ustalenia budowy tych izomerów wykonano analizę krystalograficzną związku, dającego przydatne do pomiaru kryształę. Wyniki pomiaru krystalograficznego dowiodły, że analizowany związek posiada strukturę N-izomeru. Budowa O-izomeru potwierdzona została widmem masowym EI. Dla otrzymanych związków wykonano również widma ¹³C NMR oraz IR.

Zastosowane metody analizy pozwoliły na jednoznaczne ustalenie struktur badanych N i O metylowych pochodnych pirolpirydazyonów.

ANALIZA ILOŚCIOWA ZWIĄZKÓW W FAZIE GAZOWEJ Z WYKORZYSTANIEM SPEKTROSKOPII FTIR

Przemysław Skibiński, Dariusz Sarzyński, Sebastian Szymański, Irena Majerz

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

Zaproponowana metoda analityczna bazuje na pomiarze FTIR w kuwecie napełnionej gazową formą badanego związku. Ciśnienie analitu określano z dokładnością do 0,1 Tr ($1,3 \cdot 10^{-4}$ atm). Badany zakres pomiarowy obejmował przedział od 0,5 do 100 Tr. Analiza ilościowa wykonana została dla następujących związków: metanol, etanol, izopropanol, furan, tetrahydrofuran, 2,3-dihydrofuran, 2,5-dihydrofuran oraz izopren. Liniowe zależności ciśnienia od absorbancji dla wybranych długości fal z zakresu $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ wykazywały średnią korelację 0,99 dla większości badanych związków, co wskazuje na potencjalne wykorzystanie wartości absorbancji pasm IR do precyzyjnych pomiarów ilościowych.

Badania zależności ciśnieniowej absorbancji dla furanu i jego protonowanych pochodnych zostały poszerzone o porównanie widm eksperymentalnych z obliczonymi teoretycznie. W celu otrzymania widm teoretycznych jak najbardziej zbliżonych do eksperymentalnych, zoptymalizowano szereg różnorodnych dimerów badanych związków a porównanie ich widm IR z widmami eksperymentalnymi pozwoliło na wskazanie, jakie dimery występują najczęściej w fazie gazowej. Następnym etapem badań była teoretyczna analiza oddziaływań międzycząsteczkowych determinujących ułożenie cząsteczek furanów w fazie gazowej.

METODY ANALITYCZNE STOSOWANE W OZNACZANIU ŻELAZA W DOUSTNYCH FORMULACJACH LIPOSOMOWYCH

Michał Smoleński¹, Żaneta Rakowska¹, Julia Fereir¹, Katarzyna Karłowicz-Bodalska²

¹*Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Opiekun Koła: mgr farm Katarzyna Karłowicz-Bodalska

²*Zakład Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Wprowadzanie na rynek leków i suplementów diety w formie formułacji liposomowych zawierających żelazo wymaga opracowania metod analitycznych, potwierdzających deklarowaną zawartość pierwiastka na etapie badawczym i w gotowym produkcie.

Celem niniejszej pracy był przegląd literatury z zakresu metod analitycznych, w celu opracowania i zwalidowania metody analitycznej do oznaczania zawartości żelaza. Dokonano analizy publikacji z lat 2004 - 2017 pochodzących z baz Scopus i Web of Science.

Do oznaczania zawartości żelaza całkowitego i zamkniętego w liposomach wykorzystuje się metody: kolorymetryczną z wykorzystaniem betafenaantroliny, spektroskopię Mössbauera, spektrofotometrię UV. Zastosowanie metod instrumentalnych pozwala na zautomatyzowanie oznaczeń, skrócenie czasu ich wykonania. Spektroskopia Mössbauera, oprócz wysokiej dokładności pozwala jednocześnie na rozróżnienie zawartości jonów Fe^{2+} i Fe^{3+} , co może być wykorzystywane w badaniach stabilności doustnych preparatów handlowych zawierających żelazo. Zaletą metod kolorymetrycznych i spektrofotometrii UV jest niska cena. Wadą mniejsza specyficzność i ryzyko zafałszowań wyników (betafenaantrolina, ferrozyna są specyficzne wobec jonów Fe^{2+}). Zwiększenie dokładności pomiarów może zostać uzyskane poprzez zastosowanie odpowiednich modyfikacji. Zaproponowane metody wymagają dalszych badań i walidacji.

NOWOCZESNE SYSTEMY POBIERANIA KRWI ŻYLNEJ DO BADAŃ DIAGNOSTYCZNYCH

Katarzyna Solkiewicz¹, Sylwia Płaczkowska², Izabela Kokot¹, Lilla Pawlik-Sobecka¹

¹*Zakład Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

²*Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

W przeciągu ostatniej dekady problem ekspozycji na czynniki zakaźne został w Polsce zauważony i zaadresowany. Zarówno Ministerstwo Zdrowia jak i Unia Europejska wydały rozporządzenia wymuszające na wszystkich podmiotach, których dotyczy zjawisko narażenia na czynniki zakaźne wprowadzenie stosownych procedur, okresowych szkoleń , a także używanie dostosowanego do tych regulacji sprzętu.

Obecnie na rynku medycznym jest dostępnych wiele rozwiązań służących do pozyskiwania krwi żyłnej do badań diagnostycznych. Do najbardziej popularnych systemów należą zamknięte systemy próżniowe i aspiracyjno-próżniowe. Szeroki zakres objętości probówek, zastosowanie różnych koagulantów i antykoagulantów pozwala na optymalny dobór odpowiednich probówek do wykonywanych analiz. Wykorzystanie próżni w probówkach umożliwia uzyskanie próbek krwi o ściśle określonej objętości, przez co zachowane są odpowiednie proporcje: krew – koagulant/antykoagulant, ograniczając równocześnie ryzyko powstania błędów w fazie przedanalizycznej. Natomiast system aspiracyjno-próżniowy dodatkowo daje możliwość pracy na dwa sposoby. W zależności od sytuacji i potrzeb, może być używany jak probówka próżniowa, bądź też jak strzykawko-probówka, co może być przydatne zwłaszcza u pacjentów z „trudnymi żyłami”.

Igły dedykowane do systemów, o których wyżej mowa, dzięki specjalnej konstrukcji i różnym modyfikacjom zapewniają zwiększenie komfortu pacjentów i osób pobierających. Na uwagę zasługują igły wziernikowe, które zaopatrzone są w specjalne okienka umożliwiające kontrolę przepływu krwi. Innym udogodnieniem są specjalne igły motylkowe z wężykiem. Specjalne skrzydełka, dają osobie pobierającej lepszą kontrolę nad wkłuciem i większą stabilizację podczas samego pobierania materiału.

Najważniejszą kwestią, której nie sposób pominąć są specjalne zabezpieczenia igieł w postaci osłonki. Ergonomiczna konstrukcja umożliwia sprawne wykonanie tej czynności jednym palcem. Tak zabezpieczone igły nie nadają się do ponownego użycia, są bezpieczne nie tylko dla pacjenta, ale przede wszystkim dla osób narażonych na ryzyko ekspozycji zawodowej w codziennej pracy z materiałem zakaźnym.

Podsumowując stosowanie nowoczesnych zamkniętych systemów do pobierania krwi żyłnej niesie wiele korzyści, do najważniejszych możemy wymienić: komfort, ergonomię, dokładność, a przede wszystkim bezpieczeństwo w codziennej pracy.

ANALIZA POLIFENOLI ZIELA *LUDWIGIA ERECTA* METODĄ LC-MS

Adrian Pona¹, Maciej Włodarczyk², **Katarzyna Stoj**¹, Izabela Fecka²

¹*English Division, Faculty of Medicine, Wrocław Medical University*

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

Ludwigia erecta (L.) H. Hara, z rodziny *Onagraceae*, jest rośliną zielną spotykaną głównie w Ameryce Południowej i Środkowej, a także w środkowej części Afryki, na terenach nadrzecznych i podmokłych. Liście tej rośliny bywają wykorzystywane jako warzywo lub dodatek do posiłków. W Polsce zarówno rodzima jak i egzotyczne ludwigie traktowane są dotąd głównie jako wodne i akwariowe rośliny ozdobne.

Spośród opisywanych w literaturze właściwości wymienić należy aktywność przeciwdrobnoustrojową *L. erecta*, manifestowaną np. podczas zastosowań przeciwko pleśniawkom czy malarii (aktywność potwierdzona *in vitro*). Na potencjalną obecność istotnych ilości garbników w tym rodzaju wskazywać mogłyby tradycyjne zastosowania *L. abyssinica* i innych w przypadku krwotoków poporodowych, nieswoistego bólu w jamie brzusznej, czerwonki i robaczyc przewodu pokarmowego czy rozmaitych doległości skórnych.

Niniejsza praca miała na celu wykazanie jakie związki lub grupy związków chemicznych można wskazać w profilu wyciągów alkoholowo-wodnych słabo zbadanej *L. erecta* za pomocą metody UHPLC-ESI-MS/MS. Ponieważ roślina ta w miejscach swojego występowania jest postrzegana jako chwast (co dobrze świadczy o jej możliwościach wytwarzania biomasy), po potwierdzeniu wskazań ludowych i poszerzeniu wiedzy o jej fitochemii, mogłaby być szerzej propagowana jako roślina lecznicza.

Stosując wyżej wymienioną metodę wykazano duże podobieństwo profili wyciągów sporządzonych różnymi stężeniami metanolu w wodzie, za optymalny dla ekstrakcji uznając 30% MeOH. W wyciągach tych stwierdzono wstępnie obecność szeregu analogów strukturalnych będących prawdopodobnie garbnikami hydrolizującymi typu geraniny. Obecność geraniny (MW = 952,0818 Da), a także kwasu galusowego i galusanu metylu potwierdzono przez kochromatografię z substancją wzorcową. Zaobserwowano również sygnały pochodzące prawdopodobnie od kwasów chebulaginowego (MW = 954,0974 Da) i chebulinowego (MW = 956,1131 Da) oraz trzech innych izomerycznych połączeń kwasu galusowego (MW = 448,1010 Da).

ZASTOSOWANIE METODY TLC W POŁĄCZENIU Z DENSYTOMETRIĄ W ANALIZIE EPLERENONU

Denis Swolana¹, Małgorzata Dołowy², Alina Pyka-Pająk²

¹*Koło Naukowe Zakładu Chemii Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny z O. Medycyny
Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

Opiekun Pracy: dr hab. Małgorzata Dołowy

²*Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny z O. Medycyny Laboratoryjnej w
Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

Spośród wielu znanych technik analitycznych, techniki separacyjne do których należy chromatografia cieczowa odgrywają istotną rolę w opracowaniu nowych procedur analitycznych wykorzystywanych w analizie farmaceutycznej związków chemicznych o różnej budowie, w tym również steroidów. Liczne prace pochodzące z ostatnich kilku lat, a także monografie farmakopealne świadczą o tym, że chromatografia cienkowarstwowa (TLC) z uwagi na prostotę i dostępność nadal cieszy się ogromną popularnością w analizie związków biologicznie aktywnych w różnych preparatach farmaceutycznych.

Celem niniejszej pracy było opracowanie optymalnych warunków chromatograficznych umożliwiających szybką i efektywną analizę eplerenonu, steroidu o działaniu hipotensyjnym stosowanego w leczeniu nadciśnienia tętniczego. W trakcie badań przetestowano wiele różnych układów chromatograficznych tj. różne fazy ruchome i płytki chromatograficzne, a także wykorzystano różne metody detekcji eplerenonu badanego z użyciem techniki TLC w połączeniu z densytometrią. Za najbardziej optymalne warunki chromatograficzne do analizy eplerenonu uznano mieszaninę aceton-toluen w stosunku objętościowym 25:25 i płytki chromatograficzne produkcji E. Merck pokryte mieszaniną żelu krzemionkowego 60 oraz ziemi okrzemkowej F₂₅₄ (Art. 1.05567) lub płytki pokryte żelem krzemionkowym 60F₂₅₄ (Art. 1.05554). W warunkach tych uzyskuje się na chromatogramach TLC zwarte i symetryczne plamki widoczne w świetle UV o wartości R_F=0,80 i 0,71.

Zaprezentowana w niniejszej pracy nowa procedura oznaczania eplerenonu przy użyciu techniki TLC w połączeniu z densytometrią może być w przyszłości użyta jako alternatywna do metody spektrofotometrycznej lub wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) zalecanej przez innych autorów.

Podziękowania

Badania finansowane przez Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach w 2017r.

**ANALIZA ZWIĄZKÓW CZYNNYCH ORAZ WŁAŚCIWOŚCI
PRZECIWBAKTERYJNYCH WYCIĄGÓW Z *WITHANIA SOMNIFERA*,
ASTRAGALUS MEMBRANACEUS,
OPHIOCORDYCEPS SINENSIS I *POLYGONUM CUSPIDATUM***

Katarzyna Szalabska, Jakub Cholewa, Sławomir Dudek, Ilona Kaczmarczyk-Sedlak

*Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji
i Fitochemii, Katedra i Zakład Farmakognozji i Fitochemii, Wydział Farmaceutyczny
z O. Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny
w Katowicach*

Opiekun Pracy: Sławomir Dudek

Ashwagandha (*Withania somnifera*), traganek błoniasty (*Astragalus membranaceus*), kordyceps chiński (*Ophiocordyceps sinensis*) i rdestowiec japoński (*Polygonum cuspidatum*) to rośliny oraz grzyb znane ze swoich właściwości przeciwzapalnych i przeciwbakteryjnych, często uważane za adaptogeny i czynniki przeciwnowotworowe. Celem niniejszej pracy była ocena zawartości związków czynnych obecnych w wyciągach wyżej wymienionych surowców, ich potencjału oksyredukcyjnego oraz właściwości przeciwbakteryjnych.

Badaniu poddano wyciągi sporządzone z wykorzystaniem metanolu 80%. W materiale badanym oznaczono zawartość: fenoli w przeliczeniu na kwas galusowy, flawonoidów w przeliczeniu na kwercetynę, fenolokwasów w przeliczeniu na kwas kawowy, garbników w przeliczeniu na katechinę oraz antocyjanów. Potencjał antyoksydacyjny wyciągów roślinnych wyznaczono za pomocą metody ABTS z zastosowaniem spektroskopii UV-VIS. W celu oceny właściwości przeciwbakteryjnych wyciągi zagęszczono na wyparce próżniowej, a następnie zliofilizowano. Liofilizaty nakładano na płytkę z agarem oraz wykonano posiew ze śliny w celu namnożenia bakterii. Próby kontrolne zawierały: agar (kontrola negatywna), agar z antybiotykiem (kontrola negatywna) oraz agar, na którym wykonano posiew (kontrola pozytywna). Całość inkubowano 24 godziny.

Rdestowiec japoński charakteryzował się największą zawartością garbników (0,441 mg/ml), fenoli (1,789 mg/ml), fenolokwasów (3,473 mg/ml), flawonoidów (1,489 mg/ml), antocyjanów (1,417 mg/ml) oraz największym potencjałem antyoksydacyjnym (2,003±0,002 mmol troloksu/l). Ashwaganda wykazywała najmniejszą zawartość garbników (0,069 mg/ml), fenolokwasów (0,271 mg/ml), flawonoidów (0,103 mg/ml) i antocyjanów (0,164 mg/ml). W wyciągu z kordycepsa chińskiego nie wykryto antocyjanów, a ponadto wykazywał on najmniejszą zawartość fenoli (0,353 mg/ml). Najmniejszy potencjał antyoksydacyjny wykazywał traganek błoniasty (0,535±0,039 mmol troloksu/l), jednak jako jedyny zahamował wzrost bakterii na płycie agarowej.

Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, że wyciąg z rdestowca japońskiego jest najbogatszym źródłem związków czynnych w porównaniu z pozostałymi ekstraktami.

ANALIZA WPŁYWU EDUKACJI NA DECYZJE TERAPEUTYCZNE LEKARZY W ZAKRESIE ANTYBIOTYKOTERAPII OSTREGO ZAPALENIA GARDŁA U DZIECI

Martyna Szwejkowska, Katarzyna Wzorek, Ernest Kuchar

Klinika Pediatrii z Oddziałem Obserwacyjnym, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Ostre zapalenie gardła jest jedną z najczęstszych przyczyn zlecenia antybiotyków przez pediatrów i lekarzy rodzinnych, choć większość zachorowań wywołują wirusy, a paciorkowce beta-hemolizujące odpowiadają jedynie za około 13-30% przypadków zachorowań u dzieci. Zgodnie z aktualnymi rekomendacjami lekiem I rzutu jest fenoksymetylopenicylina, jednak w praktyce stosowane są różne antybiotyki.

Analiza wpływu interwencji edukacyjnej w formie podyplomowego kursu doskonalącego na wybór antybiotyku przez lekarzy.

29 lekarzy (w tym 26 kobiet, 25 pracujących w mieście) w trakcie specjalizacji z pediatrii lub medycyny rodzinnej (średnia wieku 28 lat, staż pracy śr. 2,8 lat) przebadano dwukrotnie, przed i po interwencji przy użyciu kwestionariusza zawierającego pytania otwarte oraz oceny w liniowej skali analogowej (0-10).

Choć najczęściej stosowanym lekiem I rzutu była fenoksymetylopenicylina (n=26, 89,7%), leczenie zgodne z rekomendacjami stosowało 15 lekarzy (51,7%). Prawie połowa ankietowanych (n=14, 48,1%) stosowała również inne antybiotyki, najczęściej amoksycylinę (n=12, 41,4%). Rekomendowane leczenie stosowali młodszy lekarze z krótszym stażem pracy (wiek: 28,3 vs 29,3 lat; staż pracy 2,2 vs. 3,4 lat). Tylko 3 (10%) osoby badane wskazały poprawnie leczenie lekiem II rzutu. Po interwencji edukacyjnej badani ocenili, że ich wiedza zwiększyła się o 28%. Po szkoleniu lekarze niżej oceniali skuteczność antybiotyków w zapaleniu gardła (5,0 vs 3,0), natomiast nie zmieniła się ocena bezpieczeństwa terapii (8,0 vs 8,0) i ocena częstości występowania powikłań anginy (8,0 vs 8,0). O ile przed szkoleniem badani deklarowali, że antybiotykoterapia w "niewielkim stopniu" zmniejsza ryzyko powikłań, po szkoleniu uznali, że nie ma wpływu na ich rozwój (3,0 vs 2,0). Wszyscy badani zgodnie uznali, że ich koledzy lekarze nieprawidłowo stosują antybiotyki w ostrym zapaleniu gardła.

WNIOSKI

1. Interwencja edukacyjna w niewielkim stopniu wpływa na wiedzę lekarzy na temat leczenia ostrego zapalenia gardła.
2. Młodszy i mniej doświadczony lekarze są bardziej podatni na wpływ interwencji edukacyjnej i częściej stosują się do rekomendacji.
3. Interwencje edukacyjne powinny skupić się na młodszych lekarzach.

ZASTOSOWANIE METODY LANGENDORFFA ORAZ SYSTEMU DO OCENY KURCZLIWOŚCI KARDIOMIOCYTÓW W BADANIACH NAD USZKODZENIEM TKANKI SERCOWEJ W WYNIKU NIEDOKRWIENIA I REPERFUZJI

Magdalena Ślęk, Malwina Jurczyk, Monika Kawęcka, Emilia Kizys, Monika Trzpiot

*Studenckie Koło Naukowe przy Pracowni Perfuzji Serca
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Opiekun Pracy: Dr hab. n. farm. Iwona Bil-Lula, dr. n. farm. Anna Krzywonos-Zawadzka

Patofizjologia niewydolności skurczowej serca w czasie niedokrwienia i/lub reperfuzji (I/R) nadal pozostaje niewyjaśniona. Wiadomo jednak, że uszkodzenie mięśnia sercowego w czasie I/R jest złożonym i wieloczynnikowym procesem obejmujący niekontrolowaną fosforylację, nitrację/nitrozylację białek kurczliwych oraz ich degradację przez metaloproteinazę macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-2).

MMP-2 znajduje się w komórkach śródbłonna naczyniowego, mięśni gładkich, fibroblastów oraz w kardiomiocytach. Oprócz degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej wykazano również jej aktywność wewnątrzkomórkową związaną z degradacją białek kurczliwych, takich jak: troponiny I, łańcuchów lekkich miozyny (MLC1, MLC2), aktyny i tininy. Obecnie do badań nad mechanizmami oraz skutkami I/R wykorzystywane są dwa modele *ex vivo*: metoda Langendorffa i metoda izolowanych kardiomiocytów.

Metoda Langendorffa polega na perfundowaniu wyizolowanego serca poprzez wprowadzenie cewnika do aorty. Przez kaniulę wprowadzany jest płyn perfuzyjny uprzednio nasycony tlenem w temp. 37°C. Przepływ wsteczny (w stosunku do fizjologicznego) powoduje zamknięcie zastawki aortalnej i przemieszczenie perfuzatu do tętnic wieńcowych. Wywołanie niedokrwienia odbywa się poprzez całkowite odcięcie przepływu wieńcowego lub lokalną okluzję naczynia wieńcowego. Ostatecznie opuszcza on krążenie poprzez zatokę wieńcową oraz otwarty, prawy przedsionek. Wyróżnia się dwa rodzaje perfuzji: przy stałym ciśnieniu hydrostatycznym i stałym przepływie. Wprowadzenie przez zastawkę mitralną do lewej komory balonika oraz zastosowanie elektrod umożliwiających monitorowanie potencjału elektrycznego serca pozwala na ocenę funkcji skurczowej, tętna, czynności elektrycznej serca oraz funkcji naczyń wieńcowych. Do zalet metody należą: prostota wykonania, możliwość analizy szerokiego spektrum parametrów biochemicznych i farmakologicznych, eliminacja wpływu układu neurohormonalnego *in vivo* oraz możliwość implikacji metody u różnych gatunków.

W celu eliminacji wpływu komórek serca, innych niż kardiomiocyty, stosuje się system izolowanych kardiomiocytów. Wyizolowane serca poddaje się tlenowej perfuzji połączonej z trawieniem enzymatycznym w celu pozyskania pojedynczych komórek. W miocytach poddanych hipoksji i reoksygenacji oceniany jest stopień kurczliwości komórek i funkcja kanałów wapniowych.

Zastosowanie obu modeli pozwala na rozwój farmakologicznych i nefarmakologicznych metod prewencji i/lub leczenia skutków ostrego uszkodzenia mięśnia sercowego.

**BADANIA AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ
NANOHYDROKSYAPATYTU AKTYWOWANEGO JONAMI Li⁺
I DOMIESZKOWANEGO JONAMI Eu³⁺**

Krzysztof Marycz^{1,2}, Paulina Sobierajska³, Agnieszka Smieszek², Monika Maredziak²,
Katarzyna Wiglusz⁴, Rafal J. Wiglusz³

¹*Wrocławskie Centrum Badań EIT+*

²*Katedra Biologii Eksperymentalnej, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet
Przyrodniczy we Wrocławiu*

³*Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu*

⁴*Katedra i Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej,
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Uszkodzenia rdzenia kręgowego (SCI, ang. *Spinal cord injuries*) często wymagają jednoczesnej regeneracji tkanki nerwowej i kości. Hydroksyapatyty jako materiały bioresorbowalne o odpowiedniej zgodności biologicznej i właściwościach osteoindukcyjnych znajdują zastosowanie w chirurgii kręgosłupa.

Przedmiotem badań jest synteza nanokrystalicznych hydroksyapatytów wapnia zmodyfikowanych strukturalnie za pomocą jonów Li⁺ (nHAP: Li⁺). Uzyskane biomateriały zostały scharakteryzowane pod względem właściwości fizyko-chemicznych. Wykazano, że nHAP: Li⁺ domieszkowany jonami europu (Eu³⁺) może służyć jako środek do teranostyki, co dodatkowo może mieć znaczenie w leczeniu SCI. Biozgodność nHAP: Li⁺ określano przy użyciu ludzkich komórek glejowych (hOECs) izolowanych z opuszki węchowej oraz multipotentnych komórek zrębu izolowanych z tkanki tłuszczowej (hASCs). Te populacje komórek są często stosowane w terapiach SCI, głównie ze względu na ich parakrynną aktywność.

Wyniki badań *in vitro* wskazują, że nHAP: Li⁺ wzmacnia aktywność proliferacyjną komórek i ich żywotność, dodatkowo promując interakcje komórka-komórka. Otrzymane wyniki są obiecujące i mogą mieć potencjalne zastosowanie w medycynie regeneracyjnej z uwzględnieniem medycyny personalizowanej – co jest ważne w leczeniu SCI.

**ANALIZA WPŁYWU WYBRANYCH FLAWONOIDÓW NA
NIEENZYMATYCZNE MARKERY STRESU OKSYDACYJNEGO
W SOCZEWKACH SZCZURÓW W CUKRZYCOWYM MODELU
IN VIVO**

Weronika Wojnar, Maria Zych, Sławomir Dudek, Anna Bońska, Ilona Kaczmarczyk- Sedlak

*Katedra i Zakład Farmakognozji i Fitochemii, Wydział Farmaceutyczny z O. Medycyny
Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

Opiekun Pracy: Ilona Kaczmarczyk-Sedlak

Za jedną z przyczyn rozwoju zaćmy uważa się stres oksydacyjny wywołany reaktywnymi formami tlenu (RFT), prowadzącymi do utlenienia tłuszczów, białek i DNA. Jedną z chorób, w której występuje nadprodukcja RFT jest cukrzyca. U diabetyków obserwowana jest zwiększona zachorowalność na zaćmę, która może prowadzić do utraty wzroku.

Współczesne metody analityczne pozwalają na badanie markerów stresu oksydacyjnego w przebiegu cukrzycy oraz wpływu leków na zmiany tych markerów. Związki pochodzenia roślinnego, w tym flawonoidy, wykazują silne działanie przeciwutleniające, co może być korzystne w walce z nadmiarem RFT w przebiegu cukrzycy.

Celem pracy była analiza zawartości nieenzymatycznych markerów stresu oksydacyjnego w soczewkach szczurów z cukrzycą typu 1 po stosowaniu wybranych flawonoidów. Badanie przeprowadzono *in vivo* na samcach szczurów szczepu Wistar podzielonych na 10 grup: K – szczury kontrolne, DM – szczury z cukrzycą typu 1 oraz grupy zwierząt z cukrzycą typu 1 otrzymujące przez 4 tygodnie flawonoidy w dawkach 50 i 100 mg/kg *po*: diosminę (Dio50, Dio100), naryngeninę (Nar50, Nar100), hesperydynę (Hes50, Hes100) i chryzynę (Chr50 i Chr100). Cukrzycę wywołano poprzez jednorazowe podanie streptozotocyny w dawce 60 mg/kg *ip*. W homogenatach pozyskanych soczewek oznaczono stężenie glutationu (GSH), grup tiolowych (SH), produktów utleniania białek (AOPP), malonyldialdehydu (MDA) oraz witaminy C (VC).

W soczewkach szczurów DM stwierdzono istotne obniżenie stężenia GSH, SH i VC oraz wzrost AOPP i MDA. W żadnej z grup szczurów, którym podawano flawonoidy nie stwierdzono wzrostu stężenia GSH, a istotny wzrost stężenia VC zaobserwowano jedynie w grupie Chr100. Jedynie w grupach Dio50, Dio100 i Hes50 nie stwierdzono istotnych zmian w stężeniu SH, w pozostałych grupach stężenie to istotnie wzrosło. Istotne obniżenie stężenia AOPP zaobserwowano we wszystkich grupach oprócz Nar50 i Nar100, a w przypadku MDA nie stwierdzono istotnego obniżenia tego markera jedynie w grupie Chr100.

Na podstawie analizy markerów stresu oksydacyjnego można wnioskować, że badane flawonoidy wykazują działanie przeciwutleniające w obrębie soczewek szczurów z cukrzycą typu 1.

Badanie sfinansowano z umowy KNW-2-O04/D/6/K.

OCENA STOPNIA WYSYCENIA ORGANIZMU WITAMINĄ D I JEJ PODAŻY W DIETACH STUDENTÓW WROCŁAWSKICH UCZELNI WYŻSZYCH

Natalia Zawisłak¹, Maria Drzewicka², Lilla Pawlik-Sobecka³, Sylwia Płaczkowska⁴, Marta Janik⁵, Halina Grajeta²

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

Opiekun Pracy: dr Maria Drzewicka

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

³*Zakład Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

⁴*Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

⁵*Euroimmun Polska Sp. z o. o. Wrocław*

Witamina D jest składnikiem o kluczowej roli w prawidłowej regulacji gospodarki wapniowo-fosforanowej i w procesach metabolicznych kości. Wykazuje ona również wielokierunkowe plejotropowe działanie poza układem kostnym i zapobiega powstawaniu licznych schorzeń autoimmunologicznych, nowotworowych czy układu sercowo-naczyniowego. Skutki długotrwałych niedoborów tej witaminy mogą być długofalowe i prowadzić w kolejnych latach życia do wielu zaburzeń zdrowotnych. Celem pracy była ocena stopnia pokrycia zapotrzebowania witaminy D w całodziennych racjach pokarmowych studentów wrocławskich uczelni wyższych w okresie zimy oraz oznaczenie jej poziomu w surowicy krwi. W badaniach wzięło udział 99 studentów wrocławskich uczelni wyższych. U 79 studentów wykonano oznaczenie stężenia witaminy D w surowicy krwi. Na przeprowadzenie powyższych badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu. Badania zostały przeprowadzone za pomocą ankiety – wywiadu żywieniowego, uwzględniającego zwyczajnie żywieniowe studentów i częstotliwość spożycia produktów bogatych w witaminę D oraz jej suplementację. Stężenie witaminy D w surowicy wykonano za pomocą testu firmy Euroimmun. Na podstawie wyników ankiety stwierdzono, iż podaż witaminy D w całodziennych racjach pokarmowych u kobiet jak i u mężczyzn, była bardzo niska i odpowiednio u kobiet stanowiła zaledwie 12,3%, zaś u mężczyzn 15,3% realizacji normy RDA. Wyniki oznaczeń stężenia witaminy D w surowicy krwi wykazały, iż tylko u 27% studentek stwierdzono optymalne (>30-50 ng/ml) stężenie tej witaminy, a aż u ok. 56% mężczyzn i 32% kobiet badanie wykazało jej deficyt. Suboptymalne stężenie witaminy D wykazano u 41,3 % kobiet i 43,8% mężczyzn. Spośród badanych studentów suplementację tej witaminy stosowało ok. ¼ kobiet i mężczyzn. Wyniki powyższych badań wskazują na znaczny deficyt witaminy D w organizmach studentów, co może w przyszłości prowadzić do negatywnych następstw zdrowotnych.

**WPLYW KWASU ROZMARYNOWEGO NA PROFIL LIPIDOWY
ORAZ POZIOM ESTRADIOLU W SUROWICY SZCZURÓW
W MODELU CUKRZYCY WYWOŁANEJ DIETĄ
WYSOKOTŁUSZCZOWĄ I STREPTOZOTOCYNĄ**

Maria Zych, Weronika Wojnar, Sławomir Dudek, Iga Bicz, Anna Bońska, Ilona Kaczmarczyk-Sedlak

*Katedra i Zakład Farmakognozji i Fitochemii, Wydział Farmaceutyczny z O. Medycyny
Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

Kwas rozmarynowy (RA) - ester kwasu kawowego z kwasem α -hydroksydihydrokawowym - występuje w wielu powszechnie stosowanych substancjach roślinnych jak np.: *Melissae folium*, *Menthae piperitae folium*, *Rosmarini folium*. Dane literaturowe donoszą o jego wielokierunkowym działaniu: przeciwutleniającym, przeciwzapalnym, antyproliferacyjnym, przeciwbakteryjnym i przeciwwirusowym.

Celem niniejszej pracy była ocena, przy pomocy nowoczesnych metod analitycznych, wpływu kwasu rozmarynowego na profil lipidowy oraz poziom estradiolu w surowicy szczurów w modelu cukrzycy wywołanej dietą wysokotłuszczową i streptozotocyną (STZ).

Badanie przeprowadzono na 12 tygodniowych samicach szczurów szczepu Wistar podzielonych na 4 grupy: K (szczury kontrolne), DM (szczury kontrolne z eksperymentalnie wywołaną cukrzycą), RA10 i RA50 (szczury z eksperymentalnie wywołaną cukrzycą, którym podawano kwas rozmarynowy w dawkach odpowiednio 10 mg/kg i 50 mg/kg). Zwierzęta z grup DM, RA10 i RA50 karmiono przez 2 tygodnie paszą zawierającą 32% tłuszczu, a następnie wstrzyknięto dootrzewnowo 40 mg/kg STZ. Po 7 dniach od podania STZ rozpoczęto podawanie RA sondą dożołądkową grupom RA10 i RA50 i kontynuowano przez 4 tygodnie. Po tym czasie szczury uśmiercono przez podanie ketaminy z ksylazyną i pobrano krew z serca celem otrzymania surowicy.

Metodami kolorymetrycznymi oznaczono w surowicy cholesterol całkowity (TC), lipoproteiny wysokiej gęstości (HDL), lipoproteiny niskiej gęstości (LDL) i triglicerydy (TG), natomiast stężenie estradiolu zmierzono metodą immunoenzymatyczną.

W grupie DM stwierdzono podwyższony poziom TC, LDL i TG w porównaniu do grupy K, stężenie HDL uległo nieznacznemu obniżeniu. Tym zmianom towarzyszyło nieistotne statystycznie obniżenie stężenia estradiolu. Podawanie RA w dawce 50 mg/kg spowodowało spadek stężenia TC, TG i LDL i nieistotne statystycznie podwyższenie poziomu estradiolu w surowicy. Nie zaobserwowano zmian badanych parametrów w grupie RA10.

Podsumowując, RA w dawce 50 mg/kg wywiera korzystny wpływ na profil lipidowy u szczurów z eksperymentalnie wywołaną cukrzycą oraz wykazuje tendencję do podwyższenia stężenia estradiolu w surowicy.