

Autor: Aldona Jelińska

Promotorzy:

prof. dr hab. Robert Hołyst

dr hab. Renata Gadzała-Kopciuch, prof. UMK

Ewaluacja oddziaływań ligand - makromolekuła

Badanie oddziaływań niekowalencyjnych jest istotne w wielu dziedzinach nauki takich jak: chemia, biologia, farmacja i medycyna. Jest to związane z faktem, iż większość układów np. białko-lek, DNA-lek, antygen-przeciwciało itp. asocjują tworząc kompleksy. Ważnym parametrem fizykochemicznym, mającym ogromne znaczenie w analizie oddziaływań pomiędzy ligandami a makromolekułą, jest stała równowagi reakcji asocjacji. Badanie oddziaływań leków z białkami osocza pozwala na poszukiwanie nowej generacji leków. Jest to możliwe, ponieważ białka występujące w osoczu krwi pełnią ważną funkcję w ustalaniu farmakokinetycznych i farmakodynamicznych właściwości leków. Ponadto wolne cząsteczki leku są skłonniejsze do przekroczenia bariery krew-mózg i do wywołania efektu farmakologicznego. Istnieje wiele metod służących do wyznaczania stałej równowagi reakcji tworzenia kompleksów np. dializa, ultrafiltracja, ultra- wirowanie, gradientowa wstrzykowa analiza przepływowa, elektroforeza. Jednakże wszystkie wymienione metody oprócz niewątpliwych zalet posiadają także wady. W moich badaniach zainspirowałam się pracą Bielejewska, A., et al. opublikowaną w czasopiśmie Analytical Chemistry w 2010 roku. Celem mojej pracy było stworzenie szybszej, bardziej dokładnej i bardziej elastycznej metody do wyznaczania stałej równowagi tworzenia kompleksów.

W mojej rozprawie doktorskiej zaprezentowałam metodę wstrzykowej analizy przepływowej w długiej, cienkiej oraz zwiniętej kapilarze do wyznaczania stałej równowagi tworzenia różnego typu kompleksów. Moja metoda opiera się na wyznaczeniu szerokości rozkładu stężenia kompleksu oraz związków tworzących dany kompleks. W swojej pracy badałam głównie kompleksy typu ligand-białko. W swoich eksperymentach używałam albuminy wołowej jako modelowego białka osocza. Wyznaczyłam stałą równowagi asocjacji dla kilku leków z albuminą wołową. Ponadto określiłam wartość stałych asocjacji kompleksów albuminy z 3β - i 3α - pochodnymi aminopropanu (potencjalnych leków). Związki te otrzymano w poszukiwaniu nowej generacji leków przeciwpsychotycznych. Dodatkowo w swojej pracy przedstawiłam dwa sposoby prowadzenia eksperymentów. W pierwszym wariancie białko i leki wstrzykuje się do roztworu białka co powoduje, że podczas eksperymentu stężenie białka jest stałe. W drugim wariancie ligand i białko wprowadza się we wspólnym zastrzyku do buforu (wówczas stężenie białka się zmienia). Dodatkowo swoją metodę wyznaczania stałych asocjacji kompleksów zastosowałam do układów typu barwnik-micela i białko-DNA.