

## O prostej strategii modyfikacji struktur substancji przeciwdrobnoustrojowych

Demchuk Oleg M.,<sup>1</sup> Janeczko M.,<sup>1</sup> Kurowska A.,<sup>1</sup> Herda K.,<sup>1</sup> M. Janowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Laboratorium Nowoczesnej Syntezy i Technologii Chemicznej Substancji Aktywnych Farmaceutycznie, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Medyczny, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Konstantynów 1J, 20-708, Lublin.*

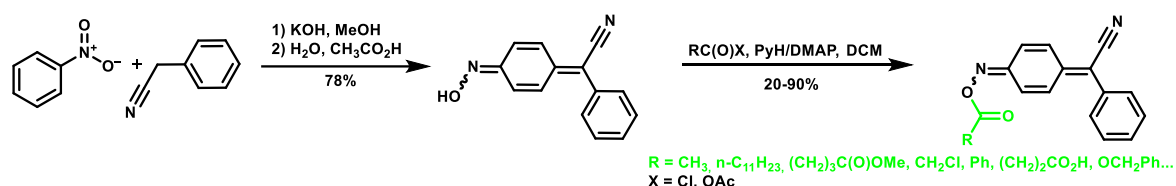
<sup>2</sup> *Szkoła Doktorska, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 7, 20-093 Lublin.*

Antybiotykooporność stanowi jedno z największych wyzwań współczesnej medycyny i mikrobiologii. Mikroorganizmy, takie jak bakterie i grzyby, wykształciły skuteczne mechanizmy obronne, co utrudnia znalezienie nowych, skutecznie działających substancji. Posiadają one szereg strategii umożliwiających przetrwanie w obecności antybiotyków. Mechanizmy te, zarówno wrodzone, jak i nabyte w wyniku mutacji genetycznych oraz transferu horyzontalnego genów oporności, można podzielić na cztery główne grupy: modyfikacja miejsca docelowego działania antybiotyku; zmniejszenie dostępności antybiotyku w komórce; inaktywacja lub modyfikacja antybiotyku; wykorzystanie alternatywnych szlaków metabolicznych. Rozwiązanie tego złożonego problemu wydaje się możliwe jedynie poprzez wprowadzenie nowych antybiotyków do praktyki klinicznej. Jednak od wielu lat obserwuje się odwrotny trend – w obliczu rosnącej nieskuteczności znanych leków nowe substancje farmaceutycznie aktywne pojawiają się coraz rzadziej. Wynika to przede wszystkim z niskiej opłacalności opracowywania i sprzedaży antybiotyków w porównaniu z lekami stosowanymi w terapii chorób przewlekłych, co zniechęca firmy farmaceutyczne do prowadzenia badań w tym kierunku. Dodatkową barierą dla rozwoju nowych antybiotyków jest szybkie powstawanie oporności – wiele nowych leków traci skuteczność już po kilku latach od wprowadzenia na rynek, co sprawia, że firmy obawiają się, iż ich inwestycja nie przyniesie długoterminowych korzyści.

U ludzi infekcje grzybicze są wywoływane przez około 20 gatunków *Candida*, z których najczęstszym jest *C. albicans*. Wraz z *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* i *C. krusei* odpowiada on za ponad 95% chorób inwazyjnych. Przykładem jednej z najczęstszych grzybic *Candida* jest kandydoza sromu i pochwy, dotykająca nawet 75% zdrowych kobiet, z tendencją do nawrotów. Niestety, wspomniana odporność na pojedyncze leki lub wielolekooporność sprawia, że terapia antybiotykowa jest częściowo nieskuteczna. Eksperymenty przeprowadzone na szczepach *Candida* wyizolowanych od pacjentów z HIV wykazały, że prawie 10% z nich było opornych na te antybiotyki. W Polsce 43,9% szczepów drożdżaków wyizolowanych z materiału pobranego od pacjentów onkologicznych wykazało oporność na ketokonazol i itrakonazol, 40,4% na flukonazol, a 24,6% na mikonazol.

W ciągu ostatnich kilku dekad obserwuje się wzmożoną tendencję w występowaniu oporności grzybów na antybiotyki, a szczególnie narażone na tego typu zagrożenia są osoby starsze, osoby z obniżoną odpornością, osoby z cukrzycą i chorobami metabolicznymi, pracownicy narażeni na kontakt z patogenami (lekarze, rolnicy). Dlatego istnieje pilna potrzeba poszukiwania i opracowywania nowych, skutecznych strategii terapeutycznych w celu przezwyciężenia tego zjawiska. Niedawno przedstawiliśmy nowe właściwości cząsteczki 4-AN (arylocjanometylowychinonoksym), takie jak wysoka aktywność przeciwko *Candida*, prowadząca do redukcji względnej ekspresji genów zaangażowanych w wirulencję grzybów. Co więcej, nie wykazuje ona toksyczności wobec ludzkich komórek.

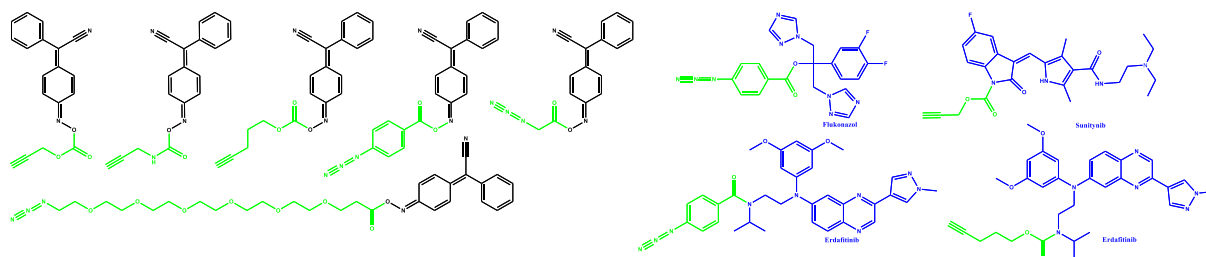
Nie bez znaczenia jest również prostota otrzymania substancji aktywnej powstającej w postaci mieszaniny stereomerów E/Z z wydajnością 78% w wyniku kondensacji nitrobenzenu z nitylem kwasu fenylooctowego. W podobnie prosty sposób otrzymać można serię pochodnych 4-AN posiadających sfunkcjonalizowaną w grupę =NOH.



**Rys. 1.** Synteza 4-AN oraz O- podstawionych pochodnych

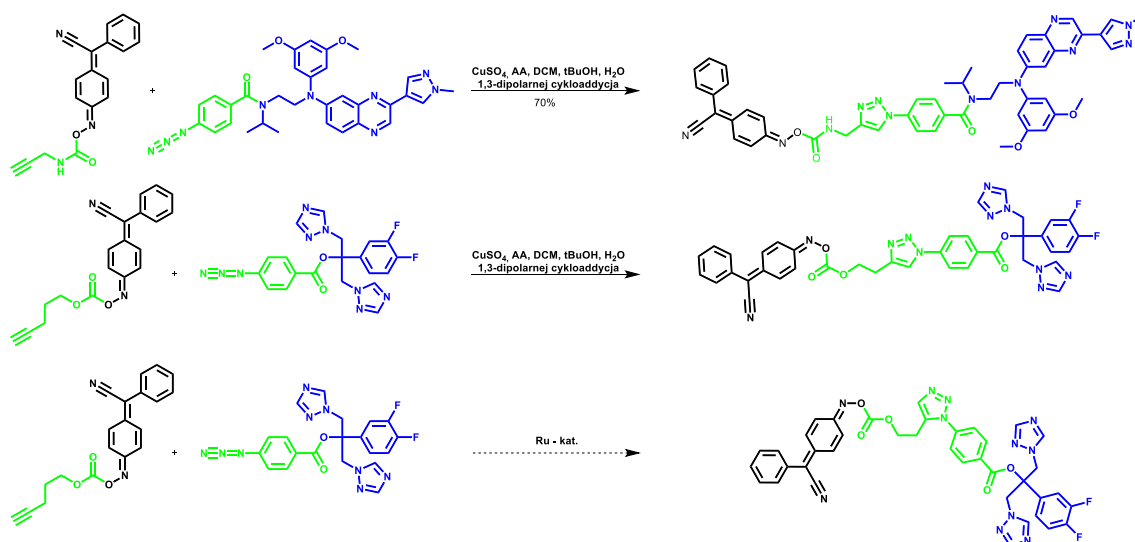
W testach biologicznych zaobserwowaliśmy znaczący efekt przeciwko 50 izolatów klinicznych *C. albicans* wywołujących kandydozę sromu i pochwy, z wartościami MIC w zakresie 2–256  $\mu\text{g/ml}$  oraz MFC w zakresie 2–256  $\mu\text{g/ml}$ . W przypadku różnych gatunków *Candida* MIC mieściło się w przedziale 2–64  $\mu\text{g/ml}$ . Jest to wynik odpowiadający poziomowi aktywności referencyjnych antybiotyków stosowanych w medycynie.

Duże możliwości dalszego otrzymywania aktywnych pochodnych daje reakcja 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena która prowadzona w warunkach katalitycznych cechuje się wysoką selektywnością. W tym celu do struktury 4-AN zostały wprowadzone podstawniki zawierające grupę azydkową jak również terminalną grupę alkinylową. Podobnie syntetyzowane zostały pochodne innych substancji aktywnych biologicznie: antybiotyków, inhibitorów kinaz.



**Rys. 2.** Przykładowe bloki budulcowe do syntezy nowych pochodnych.

Przykładowo dysponując zbiorem 10 pochodnych (Rys. 2.) w typowych warunkach reakcji z łatwością otrzymać można 25 pochodnych (Rys. 2.) oraz kolejne 25, jeżeli zostanie zastosowany katalizator rutenowy.



**Rys. 3.** Synteza połączeń o rozszerzonych właściwościach biologicznych.

Badania biologiczne otrzymanych pochodnych wykazały, że ich aktywność biologiczna nie jest właściwością addytywną, a cząsteczki nabierają nowych cech w sposób bardziej złożony, co może wskazywać na możliwość pokonania antybiotykooporności złośliwych patogenów.

*Badania zostały wykonane w ramach realizacji projektu OPUS UMO-2019/33/B/NZ7/01608.*