

Warszawa, 01.09.2021

mgr Agata Krzak  
Pracownia Teorii i Zastosowań Elektrood  
Wydział Chemii  
Uniwersytet Warszawski

Autoreferat rozprawy doktorskiej pt.:

**„Modyfikowane cyklodekstryny jako nośniki leków i ich oddziaływania  
z DNA”**

Promotor pracy: prof. dr hab. Renata Bilewicz

Trudność w dostarczaniu odpowiedniej dawki leku do organizmu jest często związana ze słabą rozpuszczalnością leku w wodzie. Dużymi problemami dla współczesnej medycyny, szczególnie w przypadku leków przeciwnowotworowych, są również: brak selektywności, niska biodostępność a także występowanie niepożądanych skutków ubocznych po przyjęciu leku. Niezbędne jest zatem opracowanie takiego sposobu dostarczania leków, który będzie gwarantował wysoką rozpuszczalność leku, bezpieczeństwo, skuteczność oraz wygodę podawania leku. Ponadto, umożliwi selektywne dostarczenie leku do miejsca chorobowo zmienionego z pominięciem zdrowej tkanki, co zapobiegłoby występowaniu toksycznych efektów ubocznych. Przykładem takiego sposobu dostarczania leku jest zastosowanie odpowiednika nośnika leku np. badanych w mojej pracy modyfikowanych cyklodekstryn.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było zbadanie nowo syntezowanych modyfikowanych  $\beta$ -cyklodekstryn (CD) jako nośników leków przeciwnowotworowych oraz, bardziej ogólnie, - leków zawierających w swojej strukturze szkielet antrachinonowy.

W pracy doktorskiej zastosowałam cyklodekstryny zawierające jako łącznik – pierścień triazolowy, łączący cyklodekstryny z ligandami: kwasem liponowym ( $\beta$ CDLip) oraz galaktozaminą ( $\beta$ CDGAL). Pochodne  $\beta$ -cyklodekstryny zostały zsyntetyzowane przez dr Macieja Majdeckiego z Instytutu Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk. Modyfikacje cyklodekstryny miały spowodować zwiększenie stałych trwałości kompleksów leku z nośnikiem, a także zwiększyć rozpuszczalność słabo rozpuszczalnych leków. Umieszczenie we wnęce cyklodekstryny leków zawierających w swojej strukturze grupę antrachinonową, ogranicza także ich reakcje prowadzące do utworzenia reaktywnych form

tlenu, co z kolei, zmniejsza kardiotoxyczne działanie leków. Zastosowanie łącznika triazolowego wrażliwego na zmiany pH miało na celu selektywne dostarczanie leków do komórek nowotworowych, ponieważ pH zdrowych komórek jest zwykle wyższe niż pH w środowisku komórek nowotworowych. Dodatkowo, ze względu na powinowactwo galaktozaminy do receptorów występujących w błonach komórek nowotworowych, ligand ten może kierować nośnik do komórek rakowych i wnikać do ich wnętrza na zasadzie endocytozy receptorowej.

W ramach rozprawy doktorskiej zbadalam:

- Rozpuszczalność trzech modyfikowanych cyklodekstryn w wodzie oraz buforze Brittona-Robinsona o pH 7,4 i 5,5.
- Rozpuszczalność leku przeciwnowotworowego – temozolomidu (TMZ), oraz rozpuszczalność kwasu antrachino-2-karboksyowego (AQ2CA), w obecności wybranych cyklodekstryn. Na podstawie przeprowadzonych badań udowodniłam, że największy wzrost rozpuszczalności leków następuje w obecności pochodnej cyklodekstryny zawierającej w swojej strukturze galaktozaminę. Maksymalny wzrost rozpuszczalności dla temozolomidu wynosił 83%, natomiast dla AQ2CA 820%. Badania były wykonane za pomocą spektroskopii UV-Vis.
- Stałe trwałości kompleksów temozolomidu z modyfikowanymi cyklodekstrynami. Pomiary metodą spektroskopii UV-Vis pozwoliły na wyznaczenie stechiometrii kompleksu tworzonych pomiędzy temozolomidem a wybraną cyklodekstryną (stechiometria 1:1). Na podstawie badań spektroskopowych oraz elektrochemicznych wykazałam, że odpowiednia modyfikacja cyklodekstryny pozwala zwiększyć trwałość kompleksu TMZ-cyklodekstryna. Największe wartości stałych trwałości uzyskałam dla kompleksów TMZ z  $\beta$ CDGAL (siedmiokrotnie wyższe w porównaniu z innymi cyklodekstrynami). Ważnym odkryciem w tej części mojej dysertacji było stwierdzenie, że stałe trwałości kompleksów są zależne od pH roztworu: w pH 7,4 stałe trwałości kompleksów były większe niż w pH 5,5. Oznacza to, że w zdrowych komórkach stężenie uwalnianego leku jest znacznie niższe niż w nowotworowych, co może być wykorzystane do bardziej selektywnego dostarczania leku.
- Stałe trwałości kompleksów pochodnych cyklodekstryn ze związkami zawierającymi w swojej strukturze grupy antrachinonowe – AQ2CA i sól sodową kwasu antrachino-2-sulfonowego (AQ2S). Pomiary wykonane w tej części mojej pracy przy pomocy

spektroskopii UV-Vis wykazały, że lek tworzy z badanymi cyklodekstrynami kompleksy o stechiometrii 1:1. Najtrwalszy kompleks inkluzyjny powstawał w przypadku pochodnej  $\beta$ CDGAL. W badaniach porównałam wartości stałych trwałości uzyskane w fizjologicznym pH (7,4) oraz w pH soków żołądkowych (3,0). Udowodniłam, że badane kompleksy były trwalsze w pH 3,0, co ogranicza ich uwalnianie w tym środowisku i jest korzystne przy podawaniu leku do organizmu.

- Stale trwałości kompleksów leków przeciwnowotworowych - doksorubicyny (DOX) i daunorubicyny (DNR), z modyfikowanymi cyklodekstrynami. Na podstawie badań elektrochemicznych udowodniłam, że pochodne  $\beta$ CD, w tym szczególnie  $\beta$ CDGAL, tworzą silne kompleksy inkluzyjne z DOX i DNR. Ponadto, stałe trwałości kompleksu lek-CD w pH 7,4, odpowiadającym fizjologicznemu pH, były większe niż przy pH 5,5 – charakterystycznym dla środowiska komórek nowotworowych oraz dla endosomów powstałych podczas endocytozy receptorowej w komórkach nowotworowych. Ta różnica sprzyja uwalnianiu leku w komórkach nowotworowych, co stwarza korzystne warunki do bardziej selektywnego dostarczania leku i zapobiegania tworzeniu się reaktywnych form tlenu tak szkodliwych dla pacjentów poddawanych terapii. Kolejnym etapem badań przedstawionych w dysertacji było określenie wpływu cyklodekstryn na oddziaływanie leków przeciwnowotworowych z kwasami nukleinowymi. Wykorzystując spektroskopię UV-Vis wykazałam, że obecność odpowiedniej cyklodekstryny sprzyja silniejszemu wiązaniu leku do dsDNA. Otrzymane przeze mnie wyniki sugerują, że zastosowanie cyklodekstrynowego nośnika zawierającego galaktozaminę wzmacnia terapeutyczny efekt leków przeciwnowotworowych. Nośnik ten mógłby zostać wykorzystany do celowanej terapii przeciwnowotworowej, gdzie uwolnienie leku z wnęki cyklodekstryny powinno nastąpić w komórce nowotworowej.

Wyniki przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej oraz inne uzyskane podczas trwania studiów doktoranckich zostały opublikowane w 7 pracach w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowych w tym 1 - w monografii o zasięgu krajowym:

1. O. Świąć, M. Majdecki, A. Debiński, A. Krzak, T.M. Stępkowski, G. Wójciuk, M. Kruszewski, R. Bilewicz, „Competition between self-inclusion and drug binding explains the pH dependence of the cyclodextrin drug carrier – molecular modeling and electrochemistry studies”, *Nanoscale*, 8 (2016) 16733-16742.

2. A. Krzak, O. Święch, M. Majdecki, R. Bilewicz, „Complexing daunorubicin with  $\beta$ -cyclodextrin derivative increases drug intercalation into DNA”, *Electrochimica Acta*, 247 (2017) 139-148.
3. A. Krzak, O. Święch, M. Majdecki, R. Bilewicz, Rozdział w książce pokonferencyjnej „Współczesne metody i sensory elektrochemiczne” pod redakcją B. Basia, M. Jakubowskiej, W.W. Kubiaka, pt. „Badania trwałości kompleksów inkluzyjnych modyfikowanych cyklodekstryn z lekami anrachinonowymi”, Wydawnictwo Naukowe AKAPIT, Kraków 2018, 275-282.
4. M. Majdecki, A. Krzak, K. Żelechowska, O. Święch „Monosubstituted hydrazone  $\beta$ -cyclodextrin derivatives for pH-sensitive complex formation with aromatic drugs”, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 93 (2019) 77-83.
5. A. Krzak, R. Bilewicz, „Voltammetric/UV-Vis study of temozolomide inclusion complexes with cyclodextrin derivatives”, *Bioelectrochemistry*, 136 (2020) 107587-107593.
6. O. Święch, A. Krzak, M. Majdecki, A. Trębińska-Stryjewska, M. Wakula, P. Garbacz, W. Gasiorowska, R. Bilewicz, „Water-soluble galactosamine derivative of  $\beta$ -cyclodextrin as protective ligand and targeted carrier for delivery of toxic anthracycline drug”, *International Journal of Pharmaceutics*, 589 (2020) 119834-119847.
7. A. Bartkowiak, D. Matyszewska, A. Krzak, M. Zaborowska, M. Broniatowski, R. Bilewicz, „Incorporation of simvastatin into lipid membranes: Why deliver a statin in form of inclusion complex with hydrophilic cyclodextrin”, *Colloids and surfaces B: Biointerfaces* 204 (2021) 111784.