

Małgorzata Burda-Grabowska

Promotor: prof. dr hab. inż. Artur Mucha

Zakład Chemii Bioorganicznej

Wydział Chemiczny

Politechnika Wrocławska

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Synteza i aktywność fosfonowych inhibitorów kinazy polifosforanowej 2

Kwasy fosfonowe zawierające motyw P-C-P dobrze naśladują wiązanie pirofosforanowe, co czyni je obiecującymi kandydatami na inhibitory kinaz polifosforanowych – transferaz bakteryjnych zaangażowanych w liczne mechanizmy w stacjonarnej fazie wzrostu, m. in. tworzenie biofilmu, wirulencję i quorum sensing.

W rozprawie przedstawiono badania skringowe, w których testowano aktywność 23 różnorodnych strukturalnie kwasów fosfonowych wobec kinaz polifosforanowych 2 reprezentujących różne klasy i mikroorganizmy. Na podstawie testów stabilności temperaturowej białek w obecności ligandów fosfonowych wskazano trzy najbardziej stabilne enzymy. Następnie porównano dwie metody badania aktywności inhibitorowej kwasów fosfonowych wobec PPK2: metodę sprzężonych reakcji enzymatycznych oraz metodę wykorzystującą HPLC, wykazując przy tym znaczące ograniczenia pierwszej z nich. Dla najaktywniejszych związków wyznaczono IC_{50} . Cztery ligandy o wysokim powinowactwie wybrano do krystalizacji z enzymem. Na podstawie analizy struktur krystalicznych kompleksów PPK2-inhibitor racjonalnie zaprojektowano zoptymalizowane struktury inhibitorów, przewidujące modyfikacje pierścienia aromatycznego oraz grupy fosfonowej. Zgodnie z wynikami zsyntezowano 14 fosfonianów. Badane struktury poszerzono o grupę ligandów fosfinowych oraz polikwasowych uzyskując serię około 50 związków. Do testów wykorzystano nadekspresjonowany i oczyszczony enzym PPK2 z *Cytophaga hutchinsonii*, a także PPK1 z *Escherichia coli*. Na podstawie testów aktywności inhibitorowej z wykorzystaniem HPLC wskazano różnice w selektywności obu enzymów wynikające z odmiennej budowy centrum aktywnego. Zidentyfikowano 8 związków o aktywności mikromolarnej. Zaprojektowane kwasy α -aminobisfosfonowe zawierające grupę guanidynową lub aminową w pozycji *meta* pierścienia dobrze naśladowały substrat nukleotydowy, wykazując niskie wartości IC_{50} . Stwierdzono ponadto dobrą aktywność wybranych związków polikwasowych, co poszerza zakres dalszych modyfikacji strukturalnych i jest obiecującym punktem wyjścia do syntezy selektywnych inhibitorów kinaz polifosforanowych 1 i 2.