

## Streszczenie rozprawy doktorskiej

pt. "Inhibitory ureazy ograniczające rozwój patogennych szczepów ureolitycznych"

Bakterie Gram-ujemne o aktywności ureolitycznej należą do najczęstszych patogenów człowieka. Ureaza, katalizująca hydrolizę mocznika do karbaminianu i amoniaku jest ich istotnym czynnikiem wirulencji, może odpowiadać zarówno za możliwość przeżycia bakterii w organizmie człowieka jak i indukowanie powstawania zmian patologicznych, głównie zależnych od lokalnego pH. Do najczęstszych patogenów o aktywności ureolitycznej należą *Helicobacter pylori* i *Proteus mirabilis*.

Celem niniejszego doktoratu było przedstawienie charakterystyki antybakteryjnej i antyureolitycznej trzech grup związków: 20 pochodnych fosforoorganicznych (**1a-20a**), 27 pochodnych selenoorganicznych (**1s-27s**) oraz 60 flawonoidów (**1f-60f**). Związki o znanej efektywności względem oczyszczonych ureaz bakteryjnych (**1a-20a**, **1s-27s**) zbadano względem całych komórek bakterii patogennych, głównie *H. pylori* i *P. mirabilis*. Flawonoidy o nieznannej charakterystyce antyureolitycznej (**1f-60f**) zbadano zarówno wobec całych komórek jak i oczyszczonej ureazy bakteryjnej.

W wykonywanych badaniach wykorzystywano zarówno metody o międzynarodowych, wystandaryzowanych protokołach (np. oznaczenia minimalnych stężeń hamujących (MIC)) jak i przeprowadzono optymalizację wybranych metod. Dużo uwagi poświęcono testowi MTT, przedstawiając aspekty jego wykorzystania w oznaczaniu żywotności bakterii. Zoptymalizowany test MTT został wykorzystany jako narzędzie zarówno w badaniach przesiewowych jak i w głównych oznaczeniach żywotności bakterii. Oprócz testu MTT żywotność bakterii była oznaczana za pomocą barwień fluorescencyjnych i wysiewów powierzchniowych. Większość z badanych związków charakteryzowała się znikomą aktywnością antybakteryjną. Żadna z pochodnych fosforoorganicznych nie posiadała wartości MIC poniżej 1 mM, natomiast większość z nich zaburzała integralność zewnętrznych błon bakteryjnych. Badania nad aktywnością związków selenoorganicznych i flawonoidów pozwoliły na identyfikację bakteriostatycznych pochodnych: **1s** (MIC = 25  $\mu$ M), **2s** (MIC = 100  $\mu$ M), **4f** (MIC = 100  $\mu$ g/mL) i **5f** (MIC = 100  $\mu$ g/mL).

Związki **1f-60f** były słabszymi inhibitorami oczyszczonej ureazy *P. mirabilis* niż znane z literatury, flawonoidowe inhibitory ureazy *H. pylori*. Najefektywniejsze z badanych związków posiadały wartości  $K_i$  w przedziale 100-200  $\mu$ g/mL, co czyniło je słabymi inhibitorami ureazy. Badane flawonoidy w większości wykazywały mieszany mechanizm inhibicji. Jedynie 5 z 60 badanych flawonoidów było aktywnych względem całych komórek bakteryjnych. Najsilniej aktywność *P. mirabilis* hamował 2'-hydroksychalkon **2f** ( $IC_{50}$  = 190  $\mu$ g/mL) i izoksantohumol **53f** ( $IC_{50}$  = 174  $\mu$ g/mL). W badanych warunkach inkubacyjnych były to związki aktywniejsze od kwercetyny, najsilniejszego znanego inhibitora ureazy *H. pylori* należącego do flawonoidów.

Pochodne fosforoorganiczne były efektywniejsze antyureolitycznie względem całych komórek *P. mirabilis* niż *H. pylori*. Najsilniejszym inhibitorem był w tym przypadku kwas *N,N*-dimetyloaminometylo-*P*-metylofosfinowy **3a** ( $IC_{50}$  = 10  $\mu$ M). Związki selenoorganiczne również hamowały aktywność ureolityczną całych komórek z wysoką wydajnością. Możliwe było ograniczenie aktywności *H. pylori* o 50% w obecności 3,69  $\mu$ M związku **2s**, 3,91  $\mu$ M **12s**, 3,31  $\mu$ M **14s** lub 3,14  $\mu$ M **15s**. Pochodne diselenowe były znacząco mniej aktywne od monoselenowych.

Przeprowadzona badania pozwoliły na zrealizowanie postawionego celu pracy doktorskiej: przedstawiono dokładną charakterystykę antybakteryjną i antyureolityczną 107 związków.