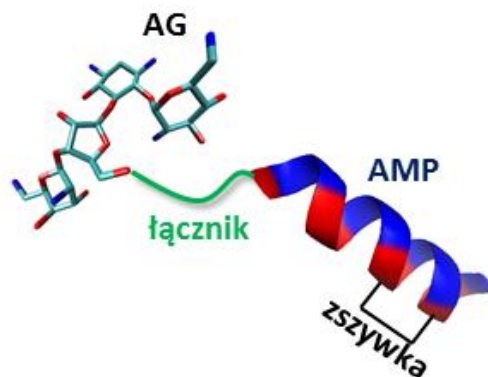


## Koniugaty aminoglikozydów z peptydami amfipatycznymi jako środki przeciwbakteryjne

Z uwagi na ograniczoną liczbę leków przeciwbakteryjnych oraz problem wielolekooporności bakteryjnej, nieustannie poszukuje się nowych skutecznych związków antybakteryjnych. W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie peptydami przeciwdrobnoustrojowymi (AMP). Uważamy, że stosowanie peptydów jako nośników antybiotyków jest obiecującą strategią projektowania nowych, potencjalnych środków przeciwbakteryjnych. W projekcie tym zaproponowaliśmy wykorzystanie strategii konia trojańskiego w projektowaniu nowych związków antybakteryjnych. AMP i ich „zszywane” pochodne zostaną wykorzystane, jako transportery antybiotyków do wnętrza bakterii. Zaplanowaliśmy zbadanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej nowych, racjonalnie zaprojektowanych związków bifunkcyjnych, których elementami składowymi są: aminoglikozydy (AG) i pochodne krótkich sekwencji peptydowych. Zaprojektowaliśmy sposoby dzięki którym AG, te od dekad stosowane leki, będą mogły narodzić się na nowo, w szczególności w zastosowaniu do szczepów na nie opornych.



Celem badań przedstawionych w niniejszej projekcie jest chemiczna synteza koniugatów AG-AMP (patrz rysunek) oraz określenie ich aktywności przeciwbakteryjnej. Syntetyzowane koniugaty będą zawierały jeden z czterech antybiotyków aminoglikozydowych: neomycynę B, amikacynę, tobramycynę lub kanamycynę B. Peptydami przeciwdrobnoustrojowymi wykorzystywanymi w badaniach będą peptydy oddziałujące z błoną bakteryjną. Związki te dzięki swojej strukturze i właściwościom fizykochemicznym skutecznie penetrują bakterie. Chemiczna synteza segmentów peptydowych i aminoglikozydowych prowadzona będzie oddzielnie. W przypadku peptydów będą to syntezy na nośniku stałym, metodą Merrifield. Oczyszczone i scharakteryzowane odpowiednie pochodne aminoglikozydów i peptydów zostaną poddane reakcją koniugacji.

Zaprojektowaliśmy bardzo wydajne sposoby syntezy koniugatów AG-AMP za pomocą chemii „click” (specyficznej cykloaddycji między azydkiem i alkinem w koniugowanych segmentach) oraz poprzez utworzenie wiązania disulfidowego pomiędzy segmentami koniugatów. Strategie te umożliwią otrzymanie kombinacji koniugatów z wykorzystaniem różnych pochodnych substratów: AMP i AG. Dzięki zastosowaniu dwóch różnych metod koniugacji (poprzez linker degradowalny i nie degradowalny), będziemy w stanie ocenić znaczenie uwalniania transportowanego AG z koniugatu. Sprawdzimy wpływ zastosowanych łączników i „zszywanych” peptydów na stabilność koniugatów. Zbadamy również strukturę i interakcje AMP i koniugatów z mimetyką błony bakteryjnej, oceniając znaczenie helicycyjności i amfipatyczności peptydów w koniugatach. Projekt obejmuje zbadanie aktywności otrzymanych AG-AMP wobec wybranych szczepów bakterii *Escherichia coli* (*E. Coli*) opornych na AG, a także określenie toksyczności wybranych koniugatów względem komórek eukariotycznych. Zbadamy również przepuszczalność membran zewnętrznych i wewnętrznych *E. coli* oraz określimy potencjał uzyskania oporności bakteryjnej na potencjalne antybiotyki. Nasze wstępne, niepublikowane badania pokazują, że połączenie aminoglikozydów z odpowiednio zaprojektowanymi sekwencjami peptydowymi może polepszyć działanie przeciwbakteryjne antybiotyków, na które szczepy *E. coli* stały się odporne.

Opracowanie skutecznej metody dostarczania aminoglikozydów do opornych bakterii pozwoli na ponowne wykorzystanie tych obiecujących związków, jako substancji przeciwbakteryjnych. Opracowana strategia będzie mogła być wykorzystana w wielu dziedzinach badawczych: chemii, biotechnologii, biologii molekularnej, diagnostyce. Projekt ten może otworzyć nowe możliwości zastosowania peptydów jako nośników biologicznie aktywnych cząsteczek w komórkach bakteryjnych. Może to również doprowadzić do odkrycia nowych środków antybakteryjnych i nowego spojrzenia na walkę z opornymi bakteriami.