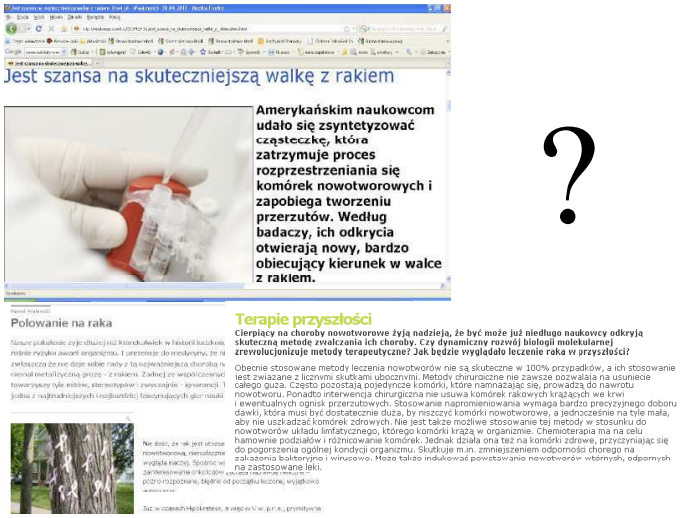
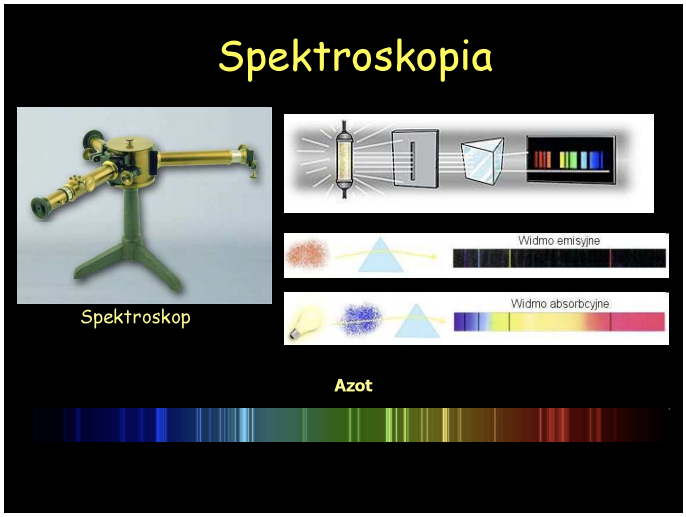
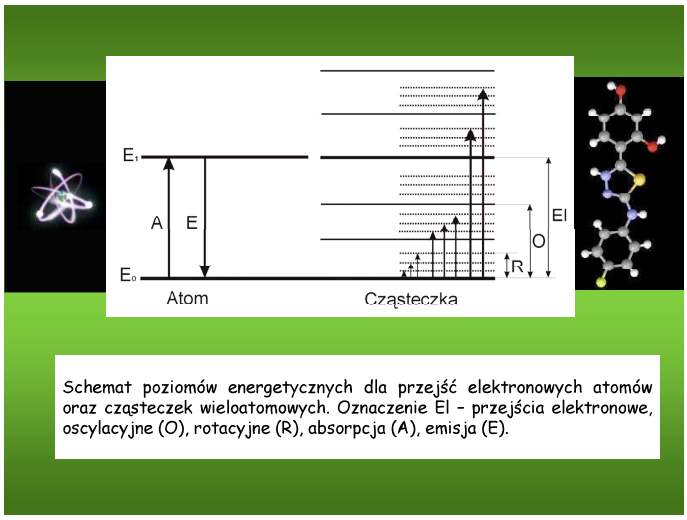
dr hab. Mariusz Gagoś, prof. UP Lublin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
"Technologie kwantowe w walce z rakiem (nowe farmaceutyki)"

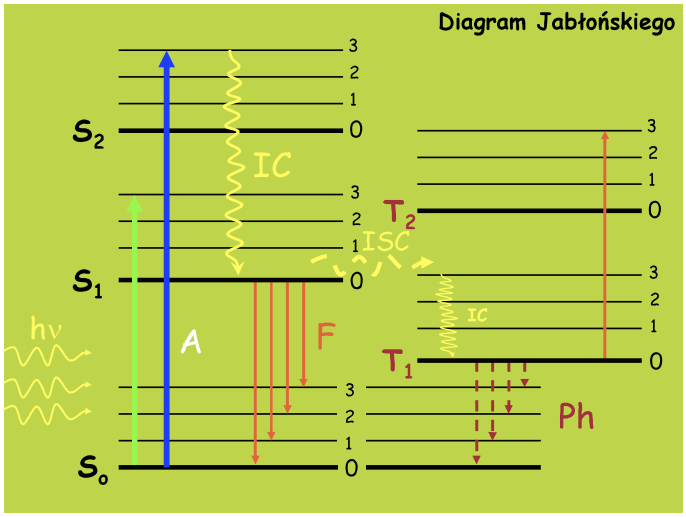


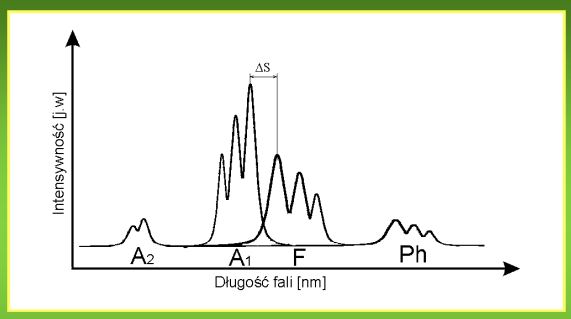
?





Schemat poziomów energetycznych dla przejść elektronowych atomów oraz cząsteczek wieloatomowych. Oznaczenie El - przejścia elektronowe, oscylacyjne (O), rotacyjne (R), absorpcja (A), emisja (E).





Przykładowe widma absorpcji (A_1, A_2), fluorescencji (F) oraz fosforescencji (Ph), ΔS - przesunięcie Stokesa pomiędzy maksimum w widmie absorpcji (A_1) a maksimum w widmie emisji fluorescencji (F).

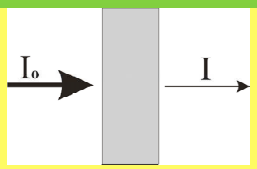
Prawa absorpcji

Natężenie promieniowania monochromatycznego (I_o) ulega osłabieniu do wartości (I) przy przejściu przez ośrodek absorbujący.

$$T = \frac{I}{I_o}$$

Stosunek natężenia promieniowania przechodzącego przez badaną próbkę do natężenia promieniowania padającego na próbkę **I/I_o** nazywany jest transmisją, transmitancją T.

Transmitancja (przepuszczalność) mówi nam o tym, jaka część promieniowania została przepuszczona przez próbkę.

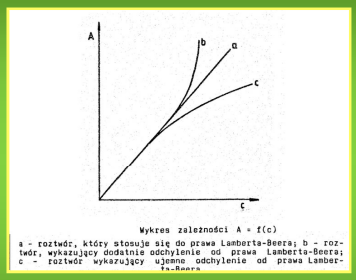


Prawo Lamberta-Beera

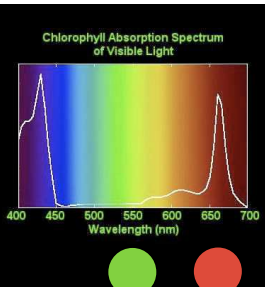
$$I = I_o 10^{-A}$$

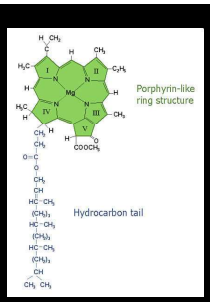
$$A = \log \frac{I_o}{I}$$

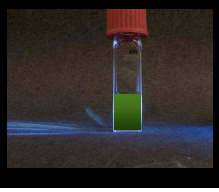
$$A = \varepsilon(\nu) c x$$



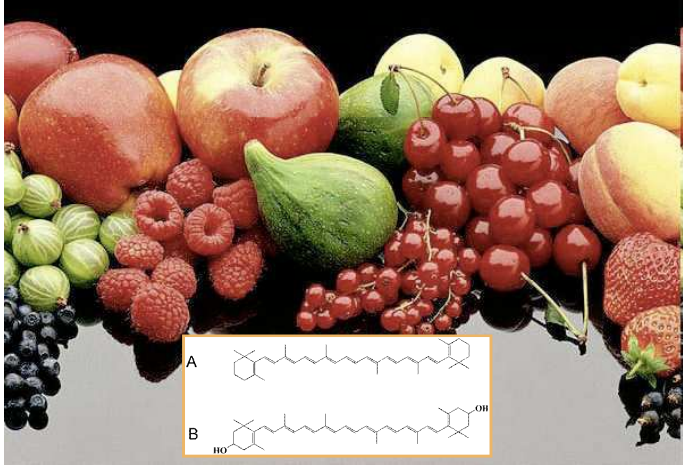
Absorbancja A jest wprost proporcjonalna do stężenia molowego roztworu c [M], molowego współczynnika ekstynkcji ε(ν) [M-1cm-1] oraz grubości warstwy absorbującej x [cm].

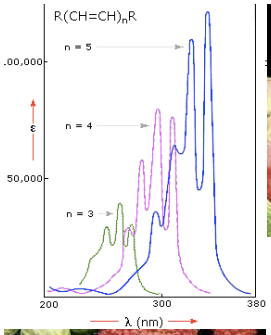


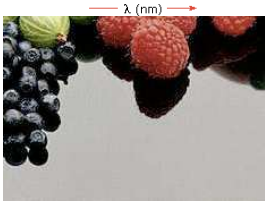


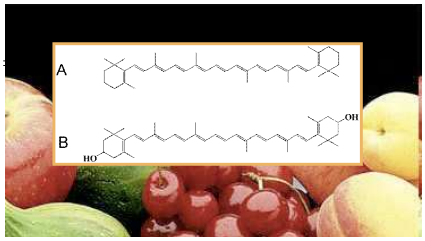


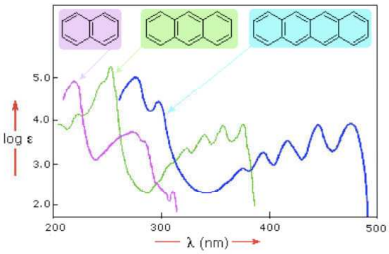
Karotenoidy



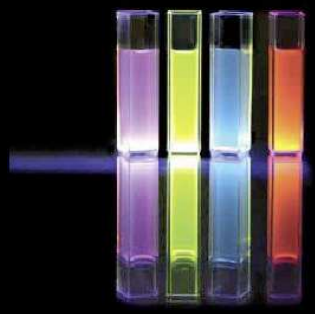


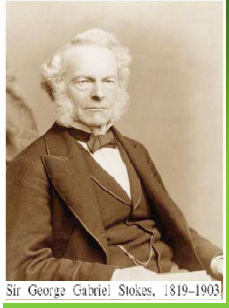


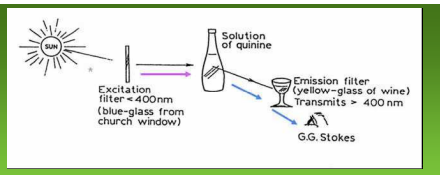


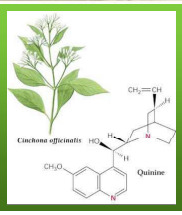


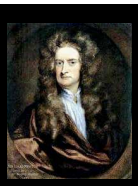
Zjawisko fluorescencji




Sir George Gabriel Stokes, 1819–1903

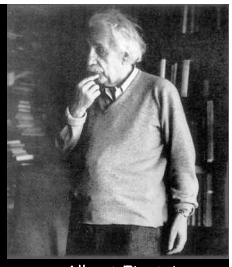






Izaak Newton
1642-1727

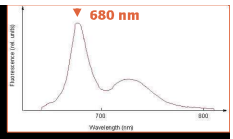
Korpuskularna natura światła

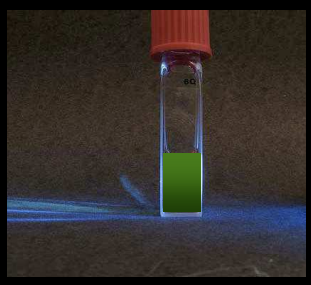


Albert Einstein
1879-1955

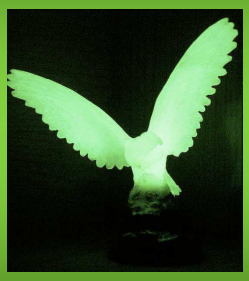
Zjawisko uznaje się za fluorescencję, gdy po zaniku czynnika pobudzającego następuje szybki zanik emisji w czasie około 10^{-8} s, gdy czas zaniku jest znacznie dłuższy, to zjawisko jest uznawane za fosforescencję.

Fluorescencja Chlorofilu

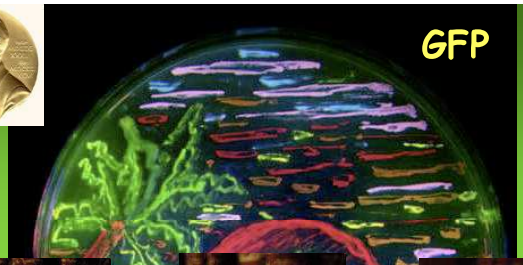


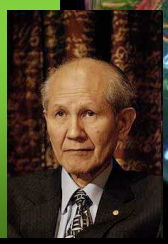


Fosforescencja

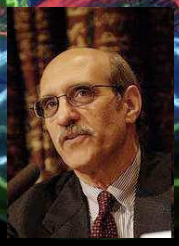


Szczególnym przypadkiem chemiluminescencji jest bioluminescencja czyli emisja światła towarzysząca reakcjom chemicznym zachodzącym w organizmach żywych.
Znane są świecące bakterie i grzyby; zdolność świecenia posiadają niektóre gatunki owadów i ryb.





Osamu Shimomura

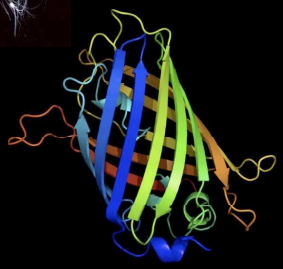


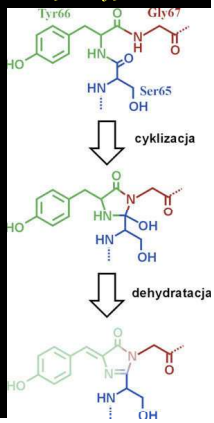
Martin Chalfie

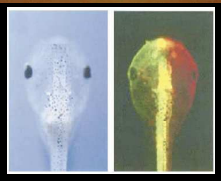
Roger Yonchien Tsien

Martin Chalfie and me

Zielone białko fluoryzujące (ang. *green fluorescent protein*, *GFP*) – naturalnie występujące białko wykazujące fluorescencję.
GFP jest małym białkiem (238 aminokwasów, 26,9 kDa) pochodzącym z meduzy *Aequorea victoria*, u której pełni nie do końca zrozumiałą funkcję.

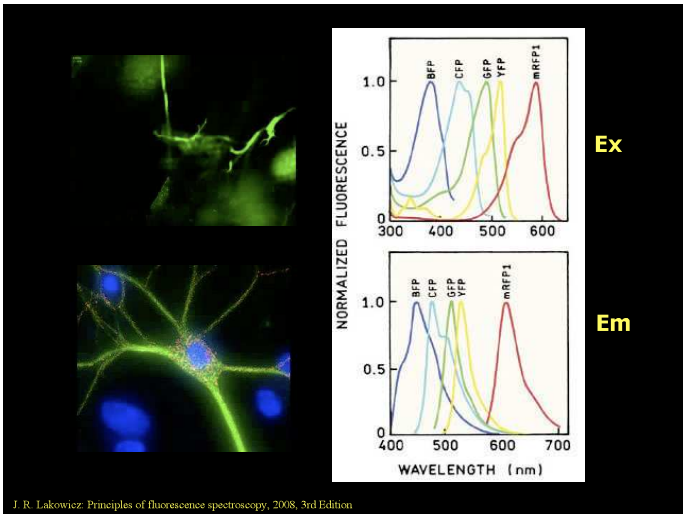






J. R. Lakowicz. Principles of fluorescence spectroscopy, 2008, 3rd Edition

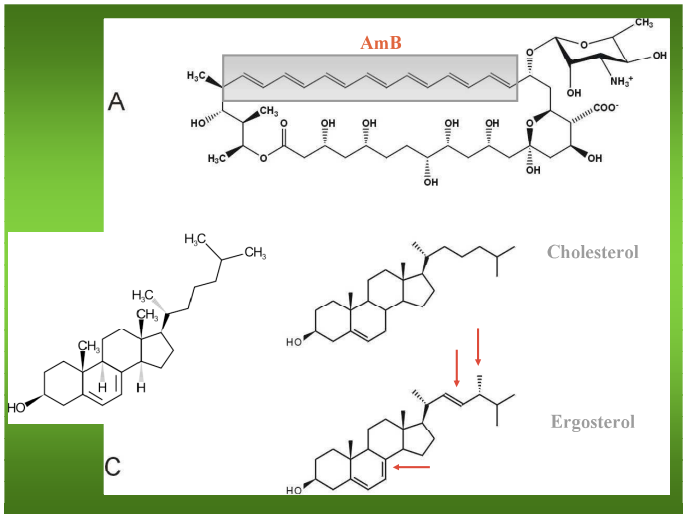
Made in China

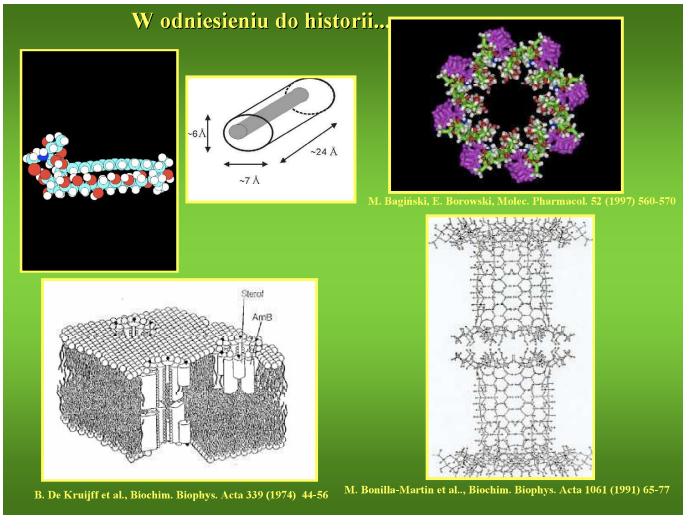


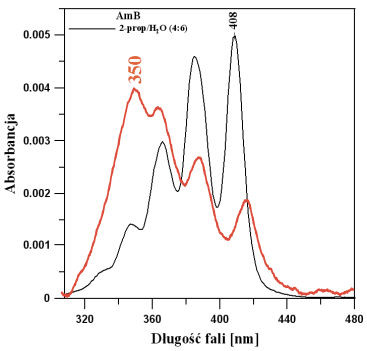
Badania własne

Badania Biofizyczne

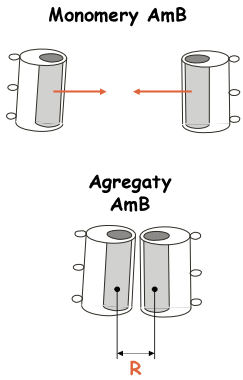
- Organizacja molekularna związków biologicznie czynnych w modelowych układach biologicznych pozwala zrozumieć mechanizmy działania leków.
- Może to mieć znaczący wpływ na zmniejszenie efektów toksycznych oraz w połączeniu z modyfikacjami chemicznymi poprawę właściwości farmakologicznych leków.





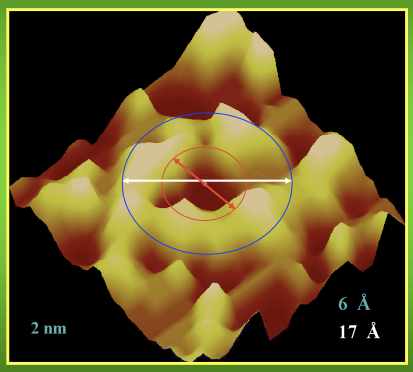


$$\nu_m = \nu_{mon} + 2\beta\cos\left(\frac{m\pi}{N+1}\right) \qquad R = 1.71\sqrt[3]{\frac{\mu^2\kappa}{\eta^2\beta}}$$



AFM

(90 % mol AmB w DPPC)



Gruszecki W. I., Gagoś M., Kernen P. FEBS Lett. 524 (2002) 92-96

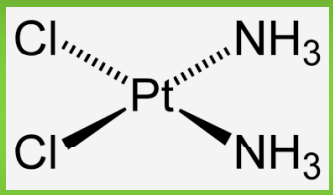
Ojciec chemioterapii

Paul Ehrlich (ur. 14 marca 1854 w Strzelinie, zm. 20 sierpnia 1915 w Bad Homburg) – niemiecki chemik i bakteriolog. Wynalazca salwarsanu – pierwszego w miarę skutecznego lekarstwa przeciwko kile stosowanego przed wynalezieniem antybiotyków. Uważany jest za twórcę podstaw chemioterapii. Paul Ehrlich jest laureatem Nagrody Noblą w dziedzinie medycyny za rok 1908 za prace nad immunologią. Momentem przełomowym dla hematologii stały się badania Ehrlicha, który jeszcze jako student zapoczątkował barwienie rozmazów krwi barwnikami anilinowymi (1874 r.). Wyodrębnił on w 1877 roku komórki zasadochłonne, kwasochłonne w 1878 i obojętnochłonne, które słusznie uznał za najliczniejsze. Wyodrębnił również limfocyty. Ehrlich w swoich badaniach używał triacid zawierający oranż G, kwaśną fuksynę i zasadową zieleń metylową. W badaniach krwi nie poprzestał jedynie na odkryciu limfocytów, posunął się krok dalej rozpoznając limfocyty małe i duże oraz segmentowane neutrofile, eozynofile i bazofile. Jego podobizna widniała na dwustumarkowym banknocie.

Etapy prowadzące od pomysłu do zastosowania nowego preparatu:

1. Wybór jednostki chorobowej
2. Określenie miejsca działania
3. Określenie testu biologicznego
4. Znalezienie struktury wiodącej
5. Określenie zależności między budową a działaniem biologicznym (QSAR)
6. Zidentyfikowanie grupy farmakoforowej
7. Poprawienie oddziaływania między strukturą a miejscem działania
8. Poprawienie właściwości farmakokinetycznych
9. Patentowanie
10. Badanie metabolizmu
11. Badanie toksyczności
12. Opracowywanie procesu technologicznego
13. Badania kliniczne
14. Wprowadzenie leku do obrotu
15. Czerpanie zysków finansowych

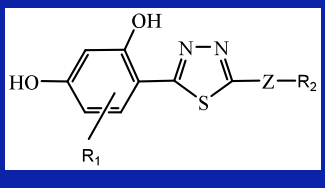
Cisplatyna



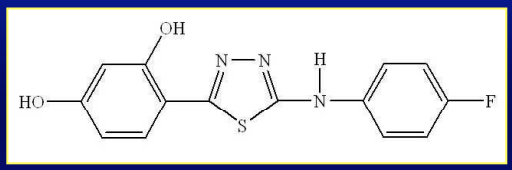
rak jądra
rak płuca
rak pęcherza moczowego
rak jajnika
rak szyjki macicy i rak trzonu macicy
nowotwory w obrębie głowy i szyi
czerniak złośliwy
mięsaki
rak kory nadnerczy
Istnieją doniesienia o skuteczności cisplatyny w trakcie leczenia u chorych na raka sutka z istniejącą mutacją BRCA1

Nowe leki

1,3,4-tiadiazole



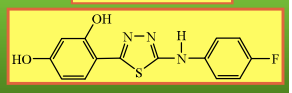
2 -(4-fluorophenylamino)-5-(2,4-dihydroxybenzeno)-1,3,4-thiadiazole (**FABT**)



Aktywność antyproliferacyjna *in vitro* wobec ludzkich komórek nowotworowych (pęcherza moczowego HCV29T, płuc A549, odbytnicy SW707, piersi T47D) jednocześnie przy tych stężeniach nie działają na komórki prawidłowe. Zwiększają żywotność neuronów, działają neuroprotekcyjnie oraz posiadają właściwości fungistatyczne.

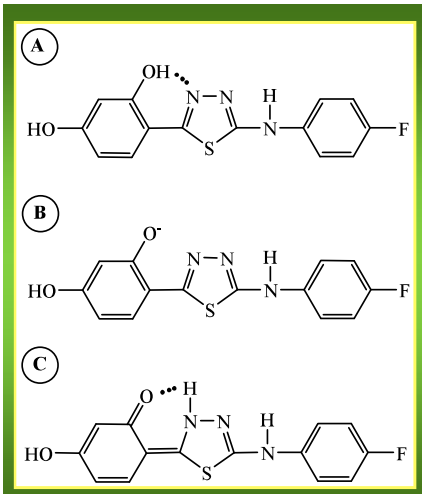
Porównanie wielkości guzów

Po podaniu FABT



21 dni po implantacji komórek glejaka C6 u 6-cio dniowego szczura

W. Rzeski, J. Matysiak, M. Kandefer-Szerszen, Anticancer, neuroprotective activities and computational studies of 2-amino-1,3,4-thiadiazole based compound, Bioorg Med Chem 15 (2007) 3201-3207.

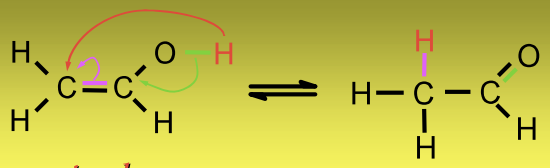


FABT

Formy
A - enolowa
B - zjonizowana
C - ketonowa

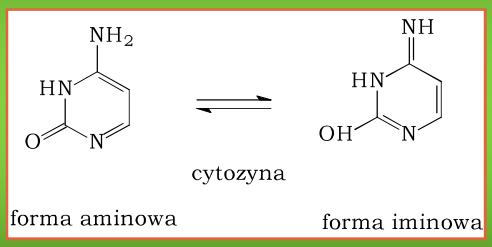
TAUTOMERIA – zjawisko występowania związków organicznych o tym samym wzorze sumarycznym w dwóch odmianach izomerycznych, nazywanych tautomerami i pozostających ze sobą w równowadze. Zjawisko tautomerii występuje w związkach, które zawierają grupy: $-CH_3$ $-CH_2-$ $-\overset{|}{C}H-$ $-NH_2$ $>NH$ związane z grupą nienasyconą. Następuje wówczas ODSZCZEPIENIE KATIONU H^+ I PRZENIESIENIE GO, DO NIENASYCONEJ GRUPY, z jednoczesnym przesunięciem podwójnego wiązania.

Wzór sumaryczny:
C_2H_4O



etenol C_2H_3OH — *aldehyd octowy* CH_3CHO

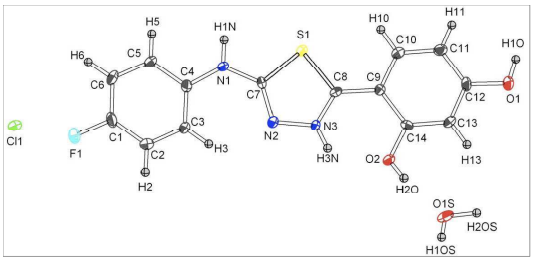
Tautomeria amino-iminowa w zasadach pirymidynowych - związkach heterocyklicznych mających ważne znaczenie biologiczne.



Tautomeria dotyczy podstawowych zagadnień związanych z:

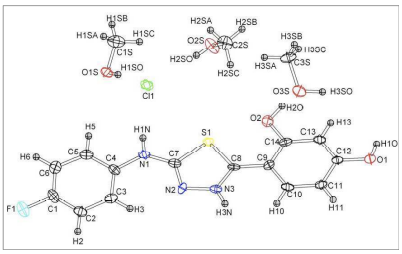
1. Mutacją, replikacją kwasów nukleinowych, aktywnością enzymatyczną, [1, 2].
2. Prawidłowym funkcjonowaniem organizmów żywych [3].
3. Zastosowaniem analogów zasad kwasów nukleinowych w rolnictwie [4].
4. W medycynie jako leki antywirusowe i przeciwnowotworowe [5, 6].

1. Rak J., Voityuk AA, Michel-Beyerle M-E., Rösch N., "Effect of proton transfer on the anionic and cationic pathways of pyrimidine photodimer cleavage. A computational study", J Phys. Chem. A, 103,3569, 1999.
2. Cheung H.T.A, Birdsall B., Frenkiel TA, Chan D.D., Feeney J., "Carbon-13 NMR determination of the tautomerie and ionization states of folate in its complexes with Lactobacillus casei dihydrofolate reductase", Biochemistry, 32, 6846, 1993.
3. Roberts Ch., Bandaru R, Switzer Ch., "Theoretical and experimental study of isoguanine and isocystosine: base pairing in an expanded genetic system", J Am. Chem. Soc., 119,4640,1997.
4. Hassall KA, The Biochemistry and Uses oJ Pesticides, VCH: New York, 1990.
5. Huryn D.M., Okabe M., "AIDS - driven nucleoside chemistry", Chem. Rev., 92, 1745, 1992.
6. Foye W.O., LemIe T.L., Williams D.A, Principles oj Medicinal Chemistry, Wiliams & Wilkins: Baltimore, 1995.

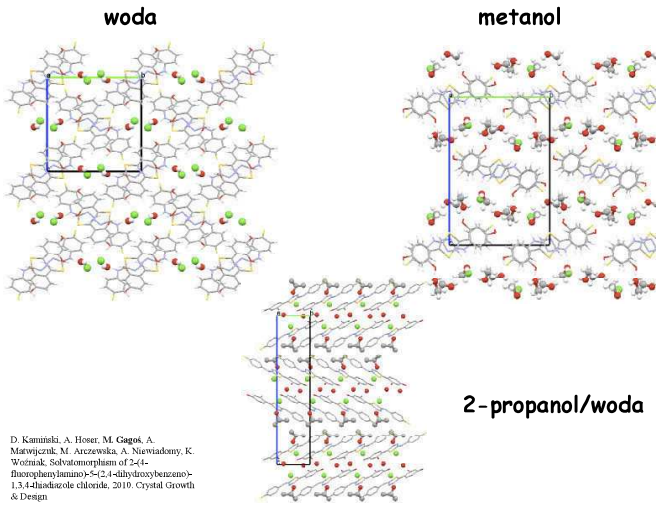


Woda

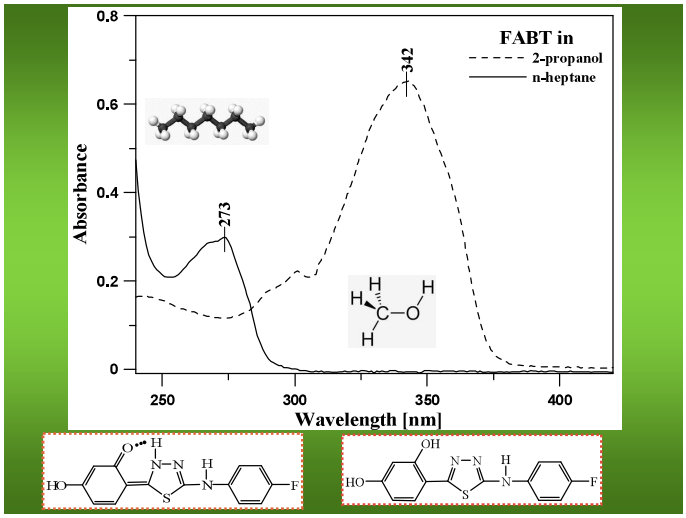
Metanol



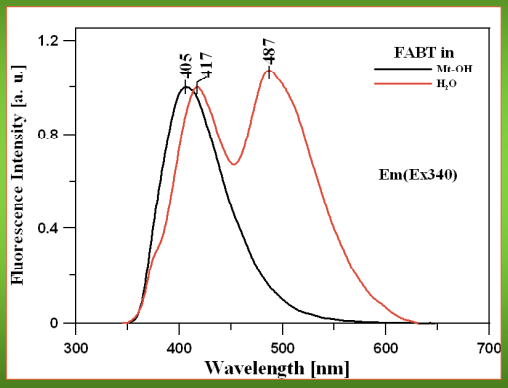
D. Kamiński, A. Hoser, **M. Gagoś**, A. Matwijczuk, M. Arczewska, A. Niewiadomy, K. Woźniak: Solvatomorphism of 2-(4-fluorophenylamino)-5-(2,4-dihydroxybenzeno)-1,3,4-thiadiazole chloride, 2010. Crystal Growth & Design

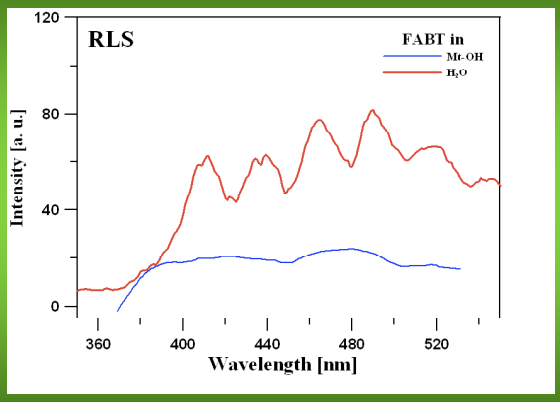


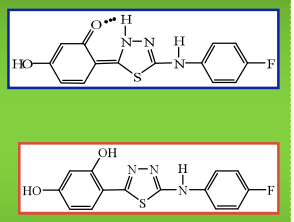
D. Kaminski, A. Hoser, M. Gagoś, A. Matwijczuk, M. Arczewska, A. Niewiadomy, K. Woźniak, Solvatomorphism of 2-(4-fluorophenylamino)-5-(2,4-dihydroxybenzeno)-1,3,4-thiadiazole chloride, 2010. Crystal Growth & Design

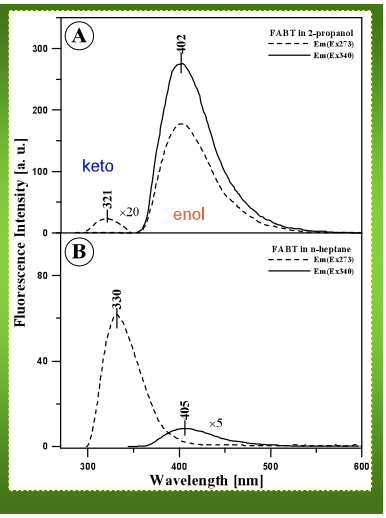


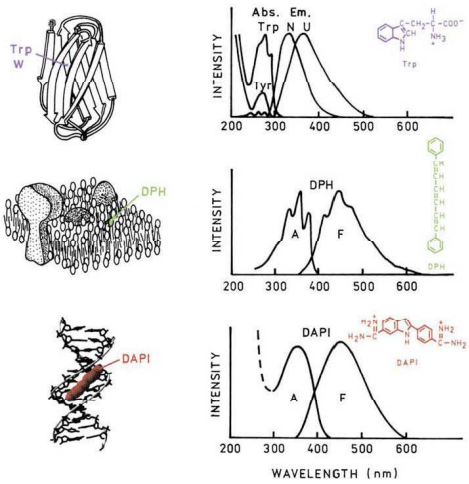
Fluorescencja FABT









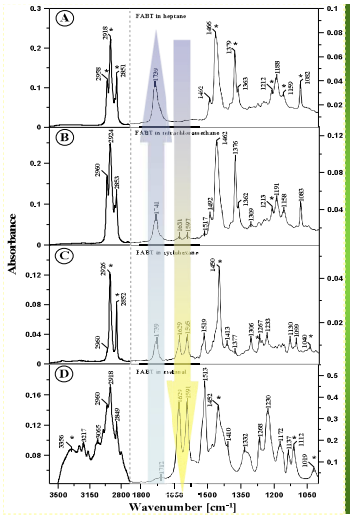


Emisja tryptofanu

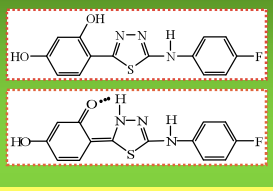
Emisja DPH – znacznik błonowy

Emisja DAPI – znacznik DNA

J. R. Lakowicz: Principles of fluorescence spectroscopy, 2008, 3rd Edition

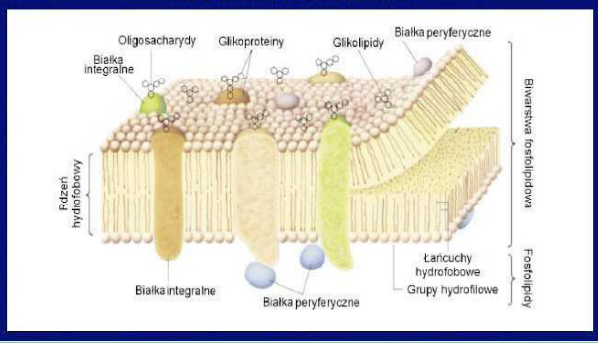


FABT



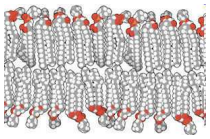
Widma ATR-FTIR FABT rozpuszczonego w n-heptanie (Panel A), CCl_4 (Panel B), cykloheksanie (Panel C) i w metanolu (Panel D).

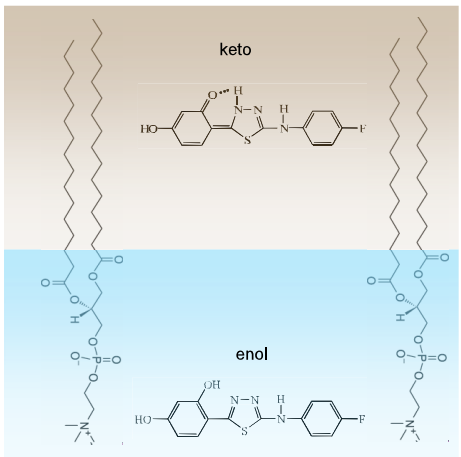
BŁONA BIOLOGICZNA

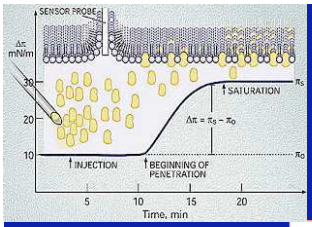


Błona biologiczna, inaczej biomembrana, kompleks białkowo-lipidowy będący jedną z podstawowych struktur budowy komórki organizmów prokariotycznych i eukariotycznych.

http://pl.wikipedia.org

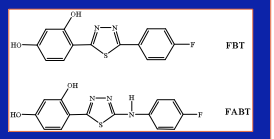


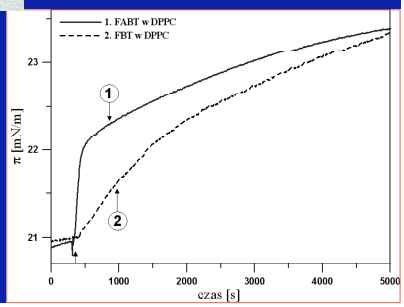


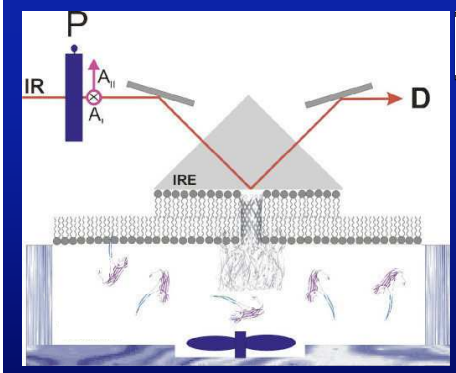


Quantitative structure-activity relationship (QSAR)

czyli poszukiwanie zależności pomiędzy strukturą i właściwościami fizykochemicznymi a toksycznością (aktywnością biologiczną) rożnych związków chemicznych.

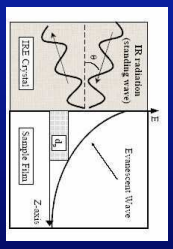




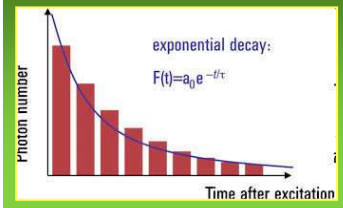


$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi n_1 \sqrt{\left(\sin^2\theta - n^2_{21}\right)}}$$

0.5 - 1.5 µm

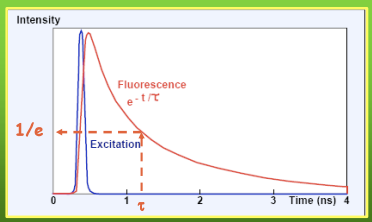


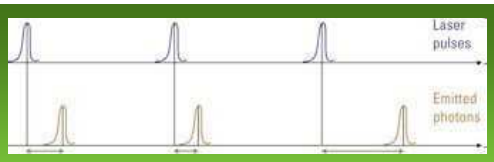
Czas życia fluorescencji



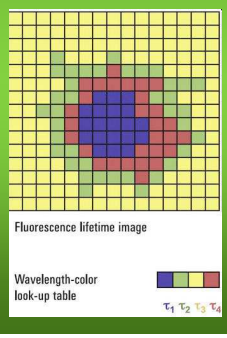
Fluorescencję cząsteczek charakteryzuje:

- intensywność emisji
- spektrum emisji
- czas trwania emisji (fluorescence lifetime).





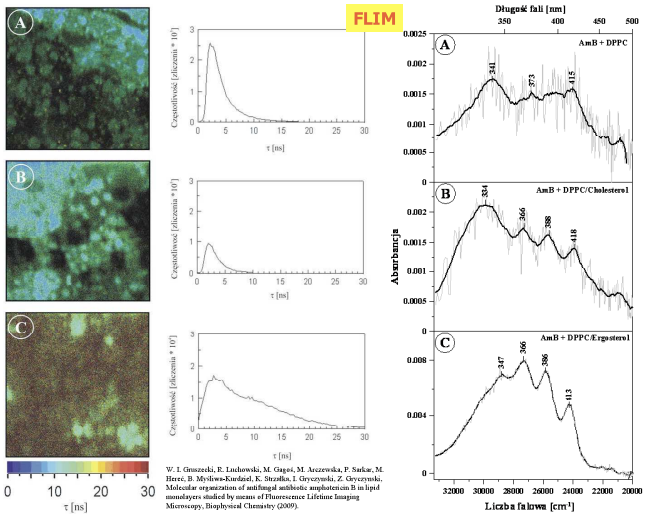
FLIM



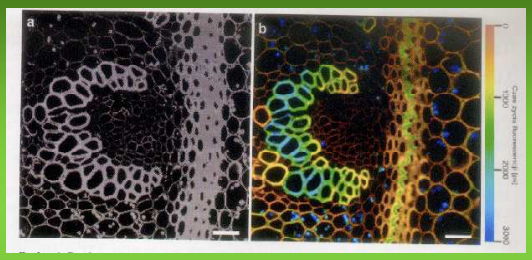
Mikroskopy szerokiego pola działania: domena częstości

Mikroskopy skaningowe: domena czasowa

http://www.leica-microsystems.com



W. I. Gruszecki, E. Luchowski, M. Gagoś, M. Arczewska, P. Sarkar, M. Hereć, B. Mysliwa-Kurdziel, K. Strzałka, I. Gryczynski, Z. Gryczynski, Molecular organization of antifungal antibiotic amphotericin B in lipid monolayers studied by means of Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy, Biophysical Chemistry (2009).



Przekrój przez ogonek liściowy konwalji majowej
a) Obraz intensywności autofluorescencji,
b) Obraz FLIM
Skala 30μm

Postępy biochemii, 2010. 4 (55) 434-440

Dziękuję za uwagę