

## Ocena właściwości fizyko-chemicznych modelowych błon biologicznych modyfikowanych przez 5-*n*-alkilorezorcynole

5-*n*-alk(en)ylrezorcynole, są grupą naturalnie występujących związków, będących długołańcuchowymi pochodnymi 1,3-dihydroksy-5-alk(en)ylbenzenu. Ich obecność wykazano głównie u bakterii i roślin wyższych, w tym w okrywie ziarniaków zbóż (*Graminae*), co wydaje się szczególnie istotne ze względu na ich spożycie w tzn. diecie pełnoziarnistej. W ziarniakach zbóż można znaleźć szerokie spektrum tych związków, w tym homologi o nasyconych, jedno- i dwunienasyconych nieizoprenoidowych łańcuchach węglowodorowych, o nieparzystej liczbie atomów węgla (np. w ziarnach żyta od C13 do C27). Badania potwierdziły ich wchłanianie z przewodu pokarmowego.

Alk(en)ylrezorcynole, jako związki amfifilowe mogą wbudowywać się do dwuwarstwy lipidowej i wpływać na jej właściwości i funkcje. Liczne badania aktywności biologicznej tych substancji wykazały ich działanie antybakteryjne, przeciwnowotworowe oraz antyoksydacyjne. Badania żywieniowe wskazują na korelację pomiędzy ilością i jakością spożywanych w diecie człowieka alk(en)ylrezorcynoli a zapadalnością na choroby nowotworowe, szczególnie układu trawiennego. Badania *in vitro* wykazały m.in. ich wpływ na obniżenie poziomu trójglicerydów we krwi, efekt inhibicyjny alkilorezorcynoli w stosunku do lipooksygenaz oraz rolę w procesach przemian kwasów tłuszczowych i fosfolipidów.

Przypuszcza się, że szereg aktywności biologicznych pełnionych przez te związki jest efektem ich oddziaływania z błonami biologicznymi. Ze względu na wciąż niewystarczającą wiedzę na temat wpływu alkilorezorcynoli na strukturę i właściwości fizykochemiczne błony lipidowej, niezbędne były dalsze badania tego tematu.

Głównym celem niniejszej pracy doktorskiej było scharakteryzowanie oddziaływań pomiędzy nasyconymi homologami alkilorezorcynoli o zmiennej długości łańcucha węglowodorowego (od C15:0 do C25:0) a cząsteczkami budującej dwuwarstwy lipidowe dipalmitoilofosfatydylocholino (DPPC), występowanie wiązań wodorowych między cząsteczkami alkilorezorcynoli i fosfolipidów, porównanie ich wpływu na termotropowe przejście fazowe dwuwarstwy fosfolipidowej, stopień jej uwodnienia, występowanie domen błonowych, a także wielkość agregatów liposomowych tworzonych w roztworach wodnych badanych w obecności homologów alkilorezorcynoli w funkcji wzrastającej temperatury.

Do oceny wpływu alkilorezorcynoli na dwuwarstwę fosfolipidową wykorzystane zostały techniki mikrokalorymetryczne i spektroskopowe (FTIR, fluorescencyjne) oraz analiza chemometryczna otrzymanych widm FTIR.

Badania rozpoczęto od wyznaczenia parametru  $\log P_{o/w}$  i temperatury topnienia badanych homologów alkilorezorcynoli. Wyznaczone temperatury topnienia wzrastały wraz z długością łańcucha alifatycznego w cząsteczkach alkilorezorcynoli. Zaobserwowano m.in.

wzrost hydrofobowości badanych związków wraz z długością łańcucha węglowodorowego. Dodatkowo, wyznaczone wartości współczynników podziału olej/woda mogą wskazywać na detergentopodobne właściwości badanych związków.

Badania z wykorzystaniem sondy fluorescencyjnej – Laurdan, wykazały zmiany w temperaturze głównego przejścia fazowego dwuwarstwy DPPC modyfikowanej lipidami rezorcynolowymi zachodzące wraz ze wzrostem ich stężenia w błonie dla wszystkich badanych homologów. Wzrost wewnętrzblonowego stężenia alkilorezorcynoli powodował odwodnienie jak i usztywnienie błony badanych liposomów. Badania z wykorzystaniem anizotropii fluorescencji Laurdanu wskazały na wywołany obecnością alkilorezorcynoli spadek ruchliwości sondy fluorescencyjnej w błonie DPPC. Jednocześnie nie zaobserwowano tak silnych zmian wywołanych obecnością alkilorezorcynoli w układach dodatkowo wzbogaconych o cholesterol. Wyniki otrzymane dla wszystkich badanych układów wykluczyły zjawisko separacji faz.

Niezależna analiza trzech rejonów widm w podczerwieni odpowiadających pasmom dla drgań:  $\nu\text{CH}_2$ ,  $\nu\text{C=O}$  i  $\delta\text{CH}_2$  wykazała dla liposomów DPPC skokowy wzrost konformacyjnego rozluźnienia błony w temperaturze głównego przejścia fazowego, związany z gwałtownym wzrostem ilości konformerów *gauche*. Jednocześnie następował skokowy wzrost zaburzenia w heksagonalnym bocznym upakowaniu łańcuchów alkilowych dwuwarstwy oraz skokowy wzrost uwodnienia obszaru występowania grup estrowych. Stwierdzono, że w obecności homologów alkilorezorcynoli te trzy procesy nadal zachodzą równocześnie, jednak wartość temperatury głównego przejścia fazowego błon DPPC domieszkowanych alkolorezorcynolami przesunięta jest w kierunku wyższych wartości w stosunku do czystej błony DPPC. Dodatkowo obserwowano spadek kooperatywności topnienia łańcuchów węglowodorowych wraz ze wzrostem długości łańcucha węglowodorowego inkorporowanych alkilorezorcynoli.

Badania w podczerwieni wykonane dla suchych filmów DPPC domieszkowanych homologami alkilorezorcynoli wykazały spadek temperatury topnienia w porównaniu z wartością otrzymaną dla czystego DPPC. W warunkach bezwodnych zaobserwowano tworzenie wiązania wodorowego pomiędzy grupami OH cząsteczek alkilorezorcynoli i ugrupowaniem fosforanowym cząsteczek DPPC.

Badania mikrokalorymetryczne pokazały wyraźne rozmycie głównego przejścia fazowego zarówno dla trikosylorezorcynolu (C23:0), jak i pentakosylorezorcynolu (C25:0), które wcześniej obserwowaliśmy w badaniach w podczerwieni.

Pomiary wielkości liposomów jednowarstwowych kalibrowanych przez pory 100 nm wykazały wpływ homologów alkilorezorcynoli na wielkość tworzonych pęcherzyków liposomowych. Zaobserwowano spadek ich wielkości następujący wraz ze wzrostem długości łańcucha alifatycznego w cząsteczce alkilorezorcynolu.

Wyniki prezentowane w niniejszej pracy pozwoliły na charakterystykę właściwości fizykochemicznych modelowych błony lipidowych modyfikowanych przez homologi alkilorezorcynoli. Określenie rodzaju zmian wyżej wymienionych parametrów strukturalnych i fizykochemicznych błon lipidowych pozwoli na przybliżenie błonowo-zależnego mechanizmu aktywności biologicznej wybranych do badań homologów żytnich alkilorezorcynoli oraz oceny ich przydatności, jako modyfikatorów błony liposomowych nośników leków.