

**GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY
Z ODDZIAŁEM MEDYCZYNY LABORATORYJNEJ
KATEDRA I ZAKŁAD CHEMII FIZYCZNEJ**



Krzysztof Ciura

**ZASTOSOWANIE ANALIZY QSRR W
CHROMATOGRAFII CIENKOWARSTWOWEJ**

Praca wykonana w Katedrze i Zakładzie Chemii Fizycznej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego i przedstawiona
Radzie Wydziału Farmaceutycznego z OML w celu
uzyskania stopnia doktora nauk farmaceutycznych

Kierownik Katedry i Zakładu:
prof. dr hab. n. farm. Wiesław Sawicki

Promotor:
dr hab. n. farm. Joanna Nowakowska

Gdańsk 2017

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Zależność między budową a retencją molekuł interesuje badaczy praktycznie od momentu powstania technik separacyjnych. Jednym z narzędzi umożliwiających analizę wpływu struktury na obserwowane parametry chromatograficzne jest podejście QSRR. Jego zastosowanie umożliwia nie tylko ustalenie wpływu właściwości fizykochemicznych analitów na retencję ale również szacowanie względnej aktywności biologicznej.

Tematyka niniejszej rozprawy doktorskiej dotyczy zastosowania podejścia QSRR do analizy danych retencyjnych uzyskanych za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (TLC). TLC jest techniką separacyjną, atrakcyjną z punktu widzenia zielonej chemii analitycznej. Dzięki miniaturyzacji systemu chromatograficznego następuje znaczne ograniczenie ilości zużywanych szkodliwych odczynników. Zastosowanie surfaktantów jako modyfikatorów fazy ruchomej dodatkowo pozwala w dużym stopniu na zmniejszenie ilości stosowanych rozpuszczalników organicznych. Dlatego jednym z głównych celów było porównanie zdolności do predykcji logP micelarnej chromatografii cienkowarstwowej w porównaniu z RP-TLC. Układ chromatograficzny zawierający CTAB jako modyfikator fazy ruchomej, charakteryzował się najlepszymi zdolnościami do predykcji wartości logP. Uzyskane wyniki wykazały, że dodatek CTAB pozwala na redukcję oddziaływań silanofilowych poprzez adsorpcję monomerów CTAB na wolnych grupach OH żelu krzemionkowego.

Kolejnym celem zrealizowanego tematu było zastosowanie solnej chromatografii cienkowarstwowej (SOTLC) do przewidywania aktywności biologicznej ksenobiotyków. Parametry chromatograficzne zostały wykorzystane do budowy modelu QSAR/QSRR pozwalającego na predykcję wartości log BB. Jako związki modelowe wytypowano substancje lecznicze o różnej budowie chemicznej, charakteryzujące się zarówno działaniem ośrodkowym, jak i obwodowym. Analizę chromatograficzną przeprowadzono dla trzech różnych faz stacjonarnych: żelu krzemionkowego, tlenku glinu oraz celulozy. Siarczan amonu został wybrany jako sól nieorganiczna, będąca dodatkiem do fazy ruchomej. W uzyskanym modelu QSAR/QSRR, oprócz parametru chromatograficznego C_0 uzyskanego z wykorzystaniem płytek celulozowych, znalazły się cztery deskryptory strukturalne; PSA(NO), DELS, F06[NO] oraz O-057. Model o najwyższych wartościach R^2 i Q^2 wyznaczono metodą OPLS.

Analizie podano również możliwości wykorzystania SOTLC do oceny lipofilowości i predykcji aktywności przeciwbakteryjnej antybiotyków makrocyclicznych. Zastosowanie zasadowego tlenku glinu spowodowało stabilizację antybiotyków w formie niejonowej i poprawiło zdolności predykcji logD w porównaniu z innymi badanymi fazami stacjonarnymi. Uzyskane liniowe zależności pomiędzy finalnym stężeniem hamującym wzrost bakterii a parametrami retencyjnymi, wskazują że SOTLC może być z powodzeniem stosowana jako przesiewowa metoda do oceny aktywności przeciwbakteryjnej dla tej grupy związków.

W trakcie szeregu doświadczeń otrzymano wyniki interesujące pod względem praktycznym. Okazało się bowiem, że micelarna chromatografia cienkowarstwowa oraz SOTLC są prostymi, ekologicznymi i ekonomicznymi metodami umożliwiającymi ocenę lipofilowości oraz predykcji aktywności biologicznej ksneobiotyków.

STRESZCZENIE PRACY DOKTORSKIEJ W JĘZYKU ANGIELSKIM

Relationship between structure and retention of molecule focus scientific interest since the separation techniques have developed. QSRR approach is of one of the most popular tools. It provides insight into the molecular mechanism of separation. It is worth emphasizing, that not on influences of physic-chemical molecular properties can be illustrated, but also QSRR approach allow to estimation of relative biological activity.

Topics of this work concerned application of QSRR approach in order to evaluated thin layer chromatographic data. TLC is very attractive methods for green analytical chemistry point of view. This is consequences of miniaturization of chromatographic systems. Due to this fact, it is possible to reduce using harmful organic solvents. Moreover, the application of surfactants as modifier of mobile phase contribute to additional reduction of required amounts of organic solvents. For this reason, one of the main goals of presented study was comparison of micelar thin layer chromatography and RP-TLC as potential tools for lipophilicity assessment. The best correlation between logP and retention constants was observed in case of CTAB modifier mobile phase. The obtained results indicated that adsorption of CTAB monomers on CN modified surface of silica gel and the silanol–quaternary ammonium interactions are possible. Consequently, the reduction of interaction between molecules and free silanol, contributes to the improvement of logP predictions.

Next goal of presented doctoral dissertation was investigated of SOTLC for prediction of biological activity of xenobiotics. Chromatographic parameters was used in order to construct log BB predictive QSAR/QSRR model. The model set of solutes included both drugs acting on the nervous system as well as peripheral acting drugs. As stationary phases three different sorbents: silica gel, cellulose and aluminum oxide were examined. The ammonium sulfate was chosen as an inorganic salt. The proposed QSRR/QSAR model based on topological polar surfacearea (PSA(NO)), molecular electrotopological variation (DELS), frequency of N O at topological distance 6 (F06[N O]), phenol, enol, carboxyl OH group (O-057) as well as chromatographic parameter C_0 from cellulose plates. Among the tested three regression method (MLR, PLS OPLS), the OPLS model shows the highest values of both R^2 and, more importantly, Q^2 .

Furthermore, the possibilities to apply SOTLC to lipophilicity assessment and antimicrobial activity prediction for macrocyclic antibiotics were investigated. The best correlation between chromatographic data and $\text{clog } D_{\text{pH}7.4}$ was observed when basic aluminum oxide stationary

phase and aqueous solutions of sodium chloride as the mobile phase was used. The QSAR/QSRR models were proposed, which can be used for predictions of antimicrobial activities against *Streptococcus pneumoniae*, and *Listeria monocytogenes*.

Summing up, the proposed SOTLC and micelar TLC methods may constitute as simply and not expensive instruments for the estimation of lipophilicity as well as for predicting biological activity.