



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

**INSTYTUT KATALIZY I FIZYKOCHEMII POWIERZCHNI
im. Jerzego Habera
POLSKIEJ AKADEMII NAUK**

Justyna Prajsnar

**Opracowanie ścieżki chemicznej oraz
enzymatycznej modyfikacji grupy aminowej kwasu
6-aminopenicylanowego poprzez wprowadzenie
do cząsteczki
3-hydroksykwasów pochodzenia bakteryjnego**

Praca doktorska

Promotorzy: dr hab. Maciej Guzik,
prof. dr hab. Andrzej Bojarski

KRAKÓW 2023

Streszczenie

Penicyliny półsyntetyczne stanowią jedną z najważniejszych i najczęściej stosowanych antybiotyków pierwszego wyboru w leczeniu zakażeń na całym świecie. Ich spektrum działania obejmuje wiele gatunków bakterii Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych. Penicyliny hamują wzrost drobnoustrojów poprzez inhibicję syntezy ich ściany komórkowej. Brak peptydoglikanu w komórkach eukariotycznych, będącego celem dla tej grupy antybiotyków, sprawia, że ich stosowanie jest nietoksyczne dla ludzi oraz zwierząt. Szybko rozprzestrzeniająca się lekooporność wśród szczepów bakteryjnych ograniczyła skuteczność terapeutyczną wielu antybiotyków β -laktamowych. Z tego względu prace nad otrzymywaniem nowych antybiotyków lub inhibitorów β -laktamaz, a także opracowanie nowych sposobów ich modyfikacji stanowi obecnie bardzo ważne zagadnienie naukowe.

Przedstawione w niniejszej pracy badania skupiają się na opracowaniu ścieżek otrzymywania nowych penicylin, poprzez wprowadzanie modyfikacji do ich łańcucha bocznego w pozycji C6. Rdzeniem β -laktamowym, będącym cząsteczką wyjściową w syntezie nowych penicylin był kwas 6-aminopenicylanowy (6-APA). Grupą związków wybraną do modyfikacji kwasu 6-APA były pochodne polihydroksyalkanianów (PHA), które stanowią zróżnicowane strukturalnie źródło chiralnych (*R*)-3-hydroksykwasów. Na drodze fermentacji bakteryjnej otrzymano dwa polimery PHA: poli-3-hydroksynonanoanian (P(3HN)) oraz poli-3-hydroksy-5-fenylowalerianian (P(3H5PV)). Monomery P(3HN) oraz P(3H5PV), a także ich odpowiedniki w formie mieszaniny racemicznej zostały połączone wiązaniem amidowym z estrem benzylovym 6-APA poprzez syntezę chemiczną z wykorzystaniem odczynnika kondensującego T3P oraz przez biosyntezę katalizowaną lipazą TL-IM pochodzącą z *Thermomyces lanuginosus*. Na drodze obu opracowanych ścieżek otrzymano sześć pochodnych 6-APA z wprowadzonymi modyfikacjami w ich łańcuchu bocznym. Nowe penicyliny zmodyfikowane pochodnymi PHA wykazały wysoką aktywność przeciwbakteryjną względem bakterii Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnym z rodzaju *Proteus*, a ich spektrum działania jest podobne do tego, które wykazuje penicylina G. Dodatkowo potwierdzono, że nowe penicyliny nie mają efektu cytotoksycznego względem komórek eukariotycznych, a wyznaczona dla nich genotoksyczność była niższa niż ta otrzymana dla penicyliny G oraz ampicyliny.

Opracowane ścieżki otrzymywania zmodyfikowanych penicylin obejmowały różne strukturalnie monomery pochodzące z PHA. Warsztat ten pozwoli w przyszłości na wykorzystanie innych monomerów PHA do modyfikacji rdzenia 6-APA, otwierając tym drogę do otrzymywania związków przeciwbakteryjnych o wyższej efektywności.

Abstract

Semi-synthetic penicillins are one of the most important and most widely used antibiotics of first choice for the treatment of infections worldwide. Their spectrum of activity includes many pathogenic species of Gram-positive and Gram-negative bacteria. Penicillins inhibit the growth of microorganisms by inhibiting the synthesis of their cell wall. The lack of peptidoglycan in eukaryotic cells, which is the target for this group of antibiotics, makes their use non-toxic to humans and animals. The rapidly spreading drug resistance among bacterial strains has limited the therapeutic effectiveness of many β -lactam antibiotics. For this reason, work on the discovery of new antibiotics or β -lactamase inhibitors, as well as the development of new methods of their modification, is currently a very important scientific issue.

The research presented in this scientific project focuses on the development of new penicillin production pathways by introducing modifications to their side chain at the C6 position. The starting molecule in the synthesis of new penicillins was 6-aminopenicillanic acid (6-APA). The group of compounds selected for the modification of 6-APA were derivatives of polyhydroxyalkanoates (PHA), which are structurally diverse source of chiral (*R*)-3-hydroxy acids. Two PHA polymers were obtained by bacterial fermentation: poly-3-hydroxynonanoate (P(3HN)) and poly-3-hydroxy-5-phenylvalerate (P(3H5PV)). P(3HN) and P(3H5PV) monomers, as well as their counterparts in the form of a racemic mixture, were linked by an amide bond with 6-APA benzyl ester by chemical synthesis using T3P condensing reagent and by biosynthesis catalyzed by TL-IM lipase derived from *Thermomyces lanuginosus*. Six 6-APA derivatives with modifications in their side chains were obtained by these pathways. The new penicillins modified with PHA derivatives showed high antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria from the genus *Proteus*, and their spectrum of action was similar to penicillin G. Additionally, it was confirmed that the new penicillins do not have a cytotoxic effect on eukaryotic cells, and genotoxicity was lower comparing to penicillin G and ampicillin.

The pathways developed to obtain modified penicillins included structurally different PHA-derived monomers. This workshop will allow, in the future, the use of other PHA monomers to modify the 6-APA core, thereby paving the way for obtaining more effective antimicrobial compounds.