

SYLABUS PRZEDMIOTU Metody fizyko-chemiczne i bioanalityczne w chemii leków I/II

1.	Nazwa przedmiotu (modułu) w języku polskim oraz angielskim Metody fizyko-chemiczne i bioanalityczne w chemii leków I/II Physicochemical and bioanalytical methods in medicinal chemistry I/II
2.	Dyscyplina naukowa Nauki chemiczne
3.	Język wykładowy polski
4.	Jednostka prowadząca przedmiot Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego
5.	Rodzaj przedmiotu/modułu (<i>obowiązkowy lub do wyboru</i>) obowiązkowy
6.	Kierunek studiów Chemia Medyczna
7.	Poziom studiów II stopień
8.	Rok studiów I
9.	Semestr Zimowy/Letni
10.	Forma zajęć i liczba godzin Metody kształcenia Wykład: 98 h Laboratorium: 162 h, semestr 1 i 2 (sem. 1- 72h, sem. 2 – 90h)
11.	Wymagania wstępne w zakresie wiedzy, umiejętności i kompetencji społecznych dla przedmiotu (modułu) oraz zrealizowanych przedmiotów Brak
12.	Cele przedmiotu • <u>1. semestr</u>: Znajomość podstaw teoretycznych wybranych technik elektrochemicznych (potencjometria), spektroskopowych (CD, UV-Vis, NMR, IR) stosowanych w chemii leków i badaniach układów biologicznych, praktyczna umiejętność zastosowania w/w metod do analizy wybranych zagadnień. • <u>2. semestr</u>: Znajomość podstaw teoretycznych i zastosowania nowoczesnych metod analizy leków i substancji biologicznie aktywnych, tj. wybranych technik elektrochemicznych (woltamperometria cykliczna), spektroskopowych (EPR, spektroskopii oscylacyjnej, fluorescencyjnej) oraz metod kalorymetrycznych (DSC i ITC). Zastosowanie metod rozdziału związków biologicznie czynnych (elektroforeza kapilarna oraz żelowa).
13.	Treści programowe <u>Cz. 1. (1. semestr):</u> • Potencjometria Wykład: Stałe opisujące protonowanie ligandów i tworzenie kompleksów metali. pH-metryczne badanie równowag protonacyjnych oraz tworzenia kompleksów metali w roztworze. Czynniki określające skład i trwałość kompleksów metali. Wprowadzenie do laboratorium: budowa aparatów do miareczkowania potencjometrycznego, elektrody i ich charakterystyka. Sposoby obliczania stałych protonacji liganda i trwałości kompleksów – program Superquad. Laboratorium: Wyznaczenie potencjału oraz nachylenia elektrody. Wykonanie pomiarów miareczkowania potencjometrycznego czynnika chelatującego i układu czynnik chelatujący-żelazo(III). Obliczanie stałych protonacji liganda i tworzenia badanych kompleksów przy pomocy programu Superquad. Sporządzenie rozkładu form kompleksowych w zależności od pH w programie Hyss. Wyznaczenie wartości współczynnika podziału oktanol/woda dla powszechnie stosowanego antybiotyku. • Spektroskopia absorpcyjna (UV-Vis) Wykład: Rodzaje przejść elektronowych w cząsteczkach o znaczeniu medycznym i ich

kompleksach z jonami metali. Przykłady zastosowań spektroskopii UV-Vis, m.in. sposoby obliczania trwałości kompleksów metali.

Laboratorium: Analiza jakościowa i ilościowa widm UV-Vis. Wyznaczanie stałych protonacji ligandów i stałych trwałości kompleksów z jonami metali. Określenie profilu uwalnia substancji leczniczych oraz kinetyki tych procesów przy zastosowaniu aparatu łopatkowego.

- Spektroskopia absorpcyjna (UV-Vis) w badaniu tworzenia RFT

Wykład: Rodzaje reaktywnych form tlenu (RFT). Ednogenne i egzogenne źródła RFT oraz ich wpływ na organizm. Procesy naprawcze. Metody detekcji RFT.

Laboratorium: Przygotowanie roztworów związków o potencjalnych właściwościach generowania RFT oraz roztworów indykatorów (NDMA, NBT). Badanie wpływu popularnych antyoksydantów na generowanie RFT w roztworach. Analiza jakościowa i ilościowa otrzymanych widm.

- UV-VIS w badaniu oksydacyjnych uszkodzeń materiału genetycznego

Wykład: Grupy funkcyjne w kwasach nukleinowych podatne na uszkodzenie przez RFT. Metody detekcji promutagennych uszkodzeń.

Laboratorium: Utlenienie zasad azotowych wybranych nukleotydów i nukleozydów przez układy o właściwościach indukowania oksydacyjnych modyfikacji. Rozdział produktów z utlenionymi zasadami od substratów.

- Spektroskopia dichroizmu kołowego

Wykład: Zastosowanie metod dichroizmu kołowego (CD) i magnetycznego dichroizmu kołowego (MCD) do badania związków stosowanych w diagnostyce medycznej i chemii leków.

Laboratorium: Badanie wpływu środowiska i substancji o znaczeniu farmakologicznym na temperaturę topnienia albumin. Określenie miejsca wiązania antybiotyków do albuminy ludzkiej.

- Spektroskopia NMR

Wykład: Elementy teorii NMR, podstawy eksperymentu impulsowego. Parametry widm NMR i wpływ czynników strukturalnych na parametry widm. Relaksacja jądrowa, jądrowy efekt Overhausera. Zjawiska dynamiczne w spektroskopii NMR. Techniki wieloimpulsowe, odprężanie, spektroskopia dwuwymiarowa. Aspekty praktyczne spektroskopii NMR: przygotowanie próbki – dobór rozpuszczalnika, temperatury pomiaru, wzorce. Dobór parametrów akwizycji i obróbki danych; obróbka komputerowa widm jedno- i dwuwymiarowych. Analiza problemów przy wykorzystaniu spektroskopii jedno- i dwuwymiarowej (COSY, NOESY, ROESY, TOCSY, HMQC, HMBC, DOSY).

Laboratorium: Budowa spektrometru NMR. Obsługa programu do opracowywania widm NMR (TopSpin, Sparky). Przygotowanie próbek NMR. NMR w analizie. Analiza widm jedno- i dwuwymiarowych NMR na przykładzie wybranych leków i peptydów.

- Zastosowanie spektroskopii oscylacyjnej do badania białek i modelowych błon lipidowych

Wykład: Fosfolipidy, liposomy, błona biologiczna. Amfifilowe właściwości lipidów a ich samoorganizacja. Liposomy jak kontrolowane nośniki leków. Zastosowanie spektroskopii oscylacyjnej w monitorowaniu właściwości modelowej błony biologicznej. Białka- struktura. Białkowe postacie leków. Zastosowanie spektroskopii oscylacyjnej w badaniu struktur białkowych.

Laboratorium: Preparatyka i właściwości jednowarstwowych liposomów.

Temperaturowe pomiary FTIR-ATR zawiesiny liposomowej w celu przeanalizowania termotropowych właściwości fosfolipidów. Jakościowa analiza pasm pochodzących od polarnego i niepolarnego fragmentu cząsteczki lipidu. Wpływ czynników zewnętrznych na strukturę białka/polipeptydu: badania metodą spektroskopii oscylacyjnej. Analiza jakościowa pasm amidowych.

Cz. 2. (2. semestr):

- Fluorescencja molekularna

Wykład: Prezentacja podstawowych zjawisk i technik fluorescencji molekularnej w aspekcie ich praktycznego zastosowania do wyjaśniania zjawisk chemicznych w układach medycznych.

Laboratorium: Określenie zdolności badanego leku do interkalowania pomiędzy

komplementarne pary zasad azotowych kwasu dezoksyrybonukleinowego metodą spektroskopii fluorescencyjnej. Określenie miejsca wiązania leków do albuminy ludzkiej oraz innych białek.

- **Obrazowanie chemiczne**

Wykład: Mikrospektroskopia w podczerwieni i ramanowska na tle innych technik obrazowania. Podstawy mikroskopii konfokalnej. Zastosowanie promieniowania synchrotronowego w obrazowaniu chemicznym. Pojęcie nanodiagnostyki medycznej. Porównanie obrazu histopatologicznego z obrazem mikrospektroskopowym tkanek nowotworowych. Analiza innych zmian chorobowych metodą mikrospektroskopii oscylacyjnej. Dane wielowymiarowe typu 3D hypercube, metody ich przetwarzania i analizy.

Laboratorium: Budowa i zasada działania przyrządów IR i Ramana do pomiarów mikro. Przygotowanie preparatów do pomiarów, rejestracja danych dla wybranych tkanek. Organizacja wyników pomiarów i analiza map absorbancji tkanek.

- **Spektroskopia EPR**

Wykład: Podstawy spektroskopii EPR. Widma EPR roztworów rodników i jonów metali. Parametry izotropowe g i A (oddziaływania spin elektronowy-spin jądra). Tensory g , A , i D (oddziaływania spin-spin). Wyznaczanie anizotropii symetrii lokalnej centrów spinowych; widma roztworów zamrożonych. EPR rodników trwałych i krótkożyjących w procesach biologicznych; metody znacznikowania i pułapkowania spinowego. Badania EPR aktywności przeciwnokowej substancji naturalnych i syntetycznych. Sondy spinowe w badaniach błon komórkowych. EPR kompleksów metali paramagnetycznych w procesach i układach biologicznych. Laboratorium: Działanie spektrometru EPR. Techniki pomiarowe EPR (w różnych temperaturach, próbek proszków, roztworów i roztworów zamrożonych). Widma EPR rodników trwałych jako: a) markerów właściwości antyutleniających; b) wygaszaczy i produktów pułapkowania rodników krótkożyjących; c) znaczników i próbników spinowych układów aglomerujących. Analiza widm EPR kompleksów metali paramagnetycznych z układami biologicznymi. Symulacja komputerowa eksperymentalnych widm EPR.

- **Woltamperometria cykliczna**

Wykład: Cykliczna woltametria (CV) – metoda badania mechanizmów procesów redoks i zastosowania analityczne. Podstawy metody.

Laboratorium: Paracetamol – wpływ pH na mechanizm utleniania, oznaczenie zawartości w lekach; Badanie kompleksów Fe(III) z desferrioksaminą B.

- **Elektroforeza kapilarna**

Wykład: Podstawy fizykochemiczne rozdziału, aparatura. Dobór warunków, optymalizacja i walidacja metod. Zastosowanie CE do oznaczania parametrów fizykochemicznych oraz powinowactwa. Wybrane przykłady oznaczania substancji czynnych w produktach farmaceutycznych.

Laboratorium: Wykrywanie substancji czynnych – składników leków (CE). Oznaczanie przenikania substancji przez błony (model micelarny, CE). Badanie powinowactwa składników leków do biomolekuł (CE).

- **Elektroforeza żelowa**

Wykład: Podstawy teoretyczne techniki elektroforezy żelowej. Zastosowania elektroforezy żelowej jedno- i dwuwymiarowej. Ocena oddziaływań antybiotyków z DNA oraz RNA. Ilościowe oznaczenie stopnia uszkodzeń kwasów nukleinowych poddanych działaniu leków. Analiza składu białek. Metody hybrydyzacji wykorzystujące elektroforezę żelową.

Laboratorium: Przygotowanie żeli agarozowych. Badanie oddziaływania antybiotyków z plazmidowym DNA w zależności od zastosowanego stężenia leku. Ocena ilościowa stopnia uszkodzeń plazmidu – densytometria. Detekcja reaktywnych form tlenu.

- **Metody kalorymetryczne**

Wykład: Metody kalorymetryczne stosowane w przemyśle farmaceutycznym i chemii leków tj. skaningowa kalorymetria różnicowa (DSC) oraz izotermiczna kalorymetria miareczkująca (ITC) oraz ich szczegółowe zastosowanie. Metody badania stabilności i kinetyki leków oraz wyznaczania stałych oddziaływań np. nośnik leku – lek, enzym – inhibitor. Zastosowanie technik kalorymetrycznych do badania układów chemicznych jak i biologicznych; również takich, gdzie stechiometria oddziaływania nie jest znana.

	Laboratorium: Wyznaczanie stałej wiązania oraz funkcji termodynamicznych związków wysoce selektywnych względem jonów metali z jonami metali i/lub badanie wpływu buforu oraz pH na oddziaływanie metal-ligand. Projektowanie eksperymentu kontrolnego służącego otrzymaniu tylko ciepła wiązania i dzięki temu stałej asocjacji.	
14.	Zakładane efekty kształcenia Wiedza • zna metody fizykochemiczne stosowane w chemii leków i badaniach substancji biologicznie czynnych • posiada wiedzę z zakresu nowoczesnych metod i narzędzi informatycznych stosowanych w chemii medycznej i właściwych dla danej metody fizykochemicznej • zna teoretyczne podstawy funkcjonowania aparatury pomiarowej stosowanej w chemii • posiada ogólną wiedzę o aktualnych kierunkach rozwoju i najnowszych odkryciach w metodach analizy leków • posiada aktualną wiedzę z zakresu zasad bezpiecznej pracy w stopniu umożliwiającym odpowiedzialne stosowanie nabytej wiedzy w praktyce zawodowej Umiejętności • potrafi planować i wykonywać badania fizykochemiczne związków chemicznych stosowanych w chemii leków oraz analizować wyływające z nich wnioski; potrafi w sposób krytyczny ocenić wyniki eksperymentów, obserwacji i obliczeń teoretycznych, a także przedyskutować błędy pomiarowe • potrafi posługiwać się odpowiednimi bazami danych i literaturą specjalistyczną w celu poszukiwania i weryfikacji informacji naukowych w obszarze przedmiotu Inne kompetencje: • rozumie potrzebę korzystania ze źródeł informacji naukowej w celu aktualizacji wiedzy • potrafi współdziałać i pracować w grupie	Symbole kierunkowych efektów kształcenia K_W03, K_W04, K_W07, K_W08 K_U01, K_U02, K_U03, K_U04 K_K02, K_K04
15.	Literatura obowiązkowa i zalecana (<i>źródła, opracowania, podręczniki, itp.</i>) <u>Cz. 1. (1. semestr):</u> 1. Z. Kęcki, Podstawy spektroskopii molekularnej, PWN, Warszawa 2013. 2. W. Szczepaniak, Metody instrumentalne w analizie chemicznej, PWN, Warszawa 2012 3. R. R. Crichton, Biological Inorganic Chemistry, An introduction, Elsevier Amsterdam 2008. 4. G. Bartosz, Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie, PWN, Warszawa 2006. 5. R.S. Macomber, A Complete Introduction to Modern NMR Spectroscopy, Wiley, Weinheim 1998. 6. J. Inczedy, Równowagi kompleksowania w chemii analitycznej, PWN, Warszawa 1979. 7. R. M. Silverstein, F. X. Webster, D. J. Kiemle, Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych. PWN, Warszawa 2007 <u>Cz. 2. (2. semestr):</u> 8. J. Sambrook, D. Russell. Molecular Cloning: A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor 2001 9. Liposome Technology, Vol. 1-3, ed. G. Gregoriadis, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton 2011. 10. H. H. Mantsch, D. Chapman, „Infrared Spectroscopy of Biomolecules, Wiley-Liss, New York, 1996.	

	11. Handbook of capillary electrophoresis applications, eds. H. Shintani, J. Polonsky, Chapman& Hall BAP, London 1997. 12. A. A. Elkordy, Applications of Calorimetry in a Wide Context – Differential Scanning Calorimetry, Isothermal Titration Calorimetry and Microcalorimetry, InTech 2013. 13. J. Twardowski, Biospektroskopia, vol. 4, PWN, 1990. 14. Farmakopea Polska X. Warszawa: Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, 2014 15. A Kiswa, Elektrochemia II , WNT, 2001. 16. J.A.Well, J.R.Bolton, J.E.Wertz, Electron Paramagnetic Resonance, Elementary theory and Practical Applications, Ed. J. Wiley and Sons, 1994. 17. J. Jezierska, Zastosowania strukturalne Sspektroskopiia EPR; materiały pomocnicze do wykładu i laboratorium dostępne w wersji numerycznej.	
16.	Metody weryfikacji zakładanych efektów kształcenia: K_W04: ciągła kontrola umiejętności praktycznych podczas zajęć laboratoryjnych, egzamin (pisemny) K_W03: sprawozdanie z wykonanego eksperymentu, ciągła kontrola umiejętności praktycznych podczas zajęć laboratoryjnych, egzamin (pisemny) K_W07: przygotowanie i prezentacja wskazanego zagadnienia w referacie, sprawozdaniu, egzamin K_W08: kolokwium, sprawozdanie K_U01: sprawozdanie z wykonanego eksperymentu K_U02: sprawozdanie z wykonanego eksperymentu K_U03: opracowanie rozwiązania problemu analitycznego (praca wstępna), K_K02: opracowanie rozwiązania problemu analitycznego (praca wstępna), sprawozdanie z wykonanego eksperymentu K_K04: sprawozdanie z wykonanego eksperymentu	
17.	Warunki i forma zaliczenia poszczególnych komponentów przedmiotu/modułu, sposób sprawdzenia osiągnięcia zamierzonych efektów kształcenia: Cz. 1. (1. semestr): <u>Wykład</u>: egzamin pisemny złożony z części dotyczących poszczególnych metod fizyko-chemicznych używanych w chemii leków <u>Laboratorium</u>: kolokwia cząstkowe, prawidłowe wykonanie eksperymentów i analiz oraz sprawozdania dotyczące teoretycznej i praktycznej wiedzy na temat metody, której dane zajęcia dotyczą. Cz. 2. (2. semestr): <u>Wykład</u>: egzamin pisemny – zadania i zagadnienia do rozwiązania z całego programu przedmiotu, możliwe ustne poprawienie oceny. <u>Laboratorium</u>: prawidłowe wykonanie pomiarów i analiz, raporty, referaty. Końcowa ocena, zarówno z zajęć laboratoryjnych, jak i z egzaminu jest średnią wszystkich ocen cząstkowych.	
18.	Nakład pracy studenta	
	forma działań studenta	liczba godzin na realizację działań
	Godziny zajęć (wg planu studiów) z prowadzącym:	
	- wykład:	98
	- laboratorium:	162
	praca własna studenta (w tym udział w pracach grupowych) np.:	
	- przygotowanie do zajęć:	30
	- opracowanie wyników:	80
	- napisanie raportu z zajęć:	60
	- czytanie wskazanej literatury:	40
	- przygotowanie do kolokwiów i egzaminu:	100
	Łączna liczba godzin	570
	Liczba punktów ECTS	22