

**Symulacje oddziaływań małych cząsteczek z celami  
molekularnymi oraz analiza lekopodobieństwa:  
od substancji o potencjale terapeutycznym  
do wdrukowanych polimerów**



**Dr n. farm. Teresa Iwona Żolek**

Warszawski Uniwersytet Medyczny  
Wydział Farmaceutyczny  
Zakład Chemii Organicznej  
ul. Banacha 1  
02-097 Warszawa

Autoreferat przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych  
do wniosku o nadanie stopnia naukowego  
doktora habilitowanego nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

**Warszawa 2021**

## 1. Prezentacja informacji ogólnych dotyczących habilitantki

**Imię i Nazwisko:** Teresa Iwona Żolek (nazwisko panięńskie: Szczepanik)

### 1.1. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

Doktor nauk farmaceutycznych,

Wydział Farmaceutyczny Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego,  
1 lipca 2008, tytuł pracy doktorskiej: *„Badanie oddziaływań analogów pentamidyny z DNA oraz poszukiwanie modeli CoMFA dla układów z 1-alkilo-4-arylopiperazyną metodami modelowania molekularnego”*

Promotor: prof. dr hab. Dorota Maciejewska

Recenzenci: prof. dr hab. Aleksander P. Mazurek  
prof. dr hab. Zdzisław Chilmończyk

Magister fizyki (specjalizacja biofizyka),

Wydział Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego, 17 czerwca 1999, tytuł pracy magisterskiej: *„Badanie oddziaływań podwójnie interkalujących antracyklin z DNA metodami modelowania molekularnego”*

Promotor: prof. dr hab. Bogdan Lesyng

Recenzent: dr hab. Maciej Geller

## 2. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

09.1999 – 09.2003 Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, asystent.

10.2003 – 09.2008 Zakład Chemii Organicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, wykładowca.

od 09.2008 Zakład Chemii Organicznej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, adiunkt.

### 3. Przebieg pracy naukowo-badawczej po uzyskaniu stopnia doktora

Dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia doktora stanowi:

- **14** pełnotekstowych artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR)
- **1** praca pogładowa w czasopiśmie nie posiadającym Impact Factor (IF)
- **1** nagroda specjalna za wynalazek
- **1** zgłoszenie patentowe
- **32** doniesień zjazdowych zaprezentowanych na konferencjach międzynarodowych (13) i krajowych (19)
- Sumaryczny Impact Factor (IF) opublikowanych prac zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **56.342**. Suma punktów MNiSW za w/w publikacje zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **887 pkt**.

### 4. Wskazanie osiągnięcia naukowego albo artystycznego wynikającego z art. 219 ust. 1. pkt 2 Ustawy.

#### 4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl powiązanych tematycznie siedmiu publikacji naukowych pod wspólnym tematem:

**Symulacje oddziaływań małych cząsteczek z celami molekularnymi oraz analiza lekopodobieństwa: od substancji o potencjale terapeutycznym do wdrukowanych polimerów**

#### 4.2. Wykaz publikacji naukowych stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego

Publikacje wchodzące w skład zgłaszanego osiągnięcia naukowego to **7** oryginalnych prac [**H1 – H7**], których sumaryczny *Impact Factor* (IF) zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **25.278** (zgodnie z rokiem 2019/2020 IF wynosi **27.736**). Łączna ilość punktów według wykazu MNiSW zgodnie z rokiem ukazania się wszystkich publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wynosi **335 pkt**.

**H1. Żolek T.**, Maciejewska D., Żabiński J., Kaźmierczak P., Rezler M. (2015) Probing the relationship between anti-*Pneumocystis carinii* activity and DNA binding of bisamidines by molecular dynamics simulations. *Molecules*, 20, 5942-5964.

IF<sub>2015</sub> = **2.465**, MNiSW = **30**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań obliczeniowych oraz praktycznym przeprowadzeniu pomiaru temperatury mięknienia DNA, wykonanie obliczeń DFT, zbudowaniu układów DNA - ligand i wykonaniu obliczeń metodą mechaniki i dynamiki molekularnej, współudział w analizie otrzymanych teoretycznych i eksperymentalnych wyników oraz w przygotowaniu części manuskryptu, a także w przygotowaniu Supplementary Data. Mój udział procentowy szacuję na 55%.*

**H2. Żolek T.\***, Qile M., Kaźmierczak P., Bloothoof M., van der Heyden M. A. G., Maciejewska D. (2019) Drug-likeness of linear pentamidine analogues and their impact on hERG K<sup>+</sup> channel – correlation with structural features. *RSC Advances*, 9, 38355-38371.

IF<sub>2019</sub> = **3.119**, MNiSW = **100**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu celu naukowego i opracowaniu koncepcji badań obliczeniowych, wykonaniu obliczeń DFT, oszacowaniu parametrów ADMET w kierunku wpływu ligandów na kardiotoksyczność, zbudowaniu kompleksów hERG - ligand i wykonaniu obliczeń metodą mechaniki i dynamiki molekularnej, interpretacji otrzymanych wyników teoretycznych, współudział w przygotowaniu manuskryptu (rozdziały badań teoretycznych) oraz redagowaniu tekstem, korespondowaniu z Edytorem oraz przygotowaniu recenzji dla Recenzentów. Mój udział procentowy szacuję na 50%.*

**H3. Żolek T.**, Maciejewska D. (2017) Theoretical evaluation of ADMET properties for coumarin derivatives as compounds with therapeutic potential. *European Journal of Pharmaceutical Science*, 109, 486-502.

IF<sub>2017</sub> = **3.466** MNiSW = **35**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań obliczeniowych, wykonaniu obliczeń DFT, oszacowaniu parametrów ADMET, zbudowaniu kompleksów hERG - ligand i wykonaniu obliczeń metodą mechaniki i dynamiki molekularnej, współudział w interpretacji otrzymanych wyników, napisaniu wstępnej wersji manuskryptu oraz współudział w korekcie pracy i przygotowaniu recenzji dla Recenzentów. Mój udział procentowy szacuję na 60%.*

**H4. Żolek T.**, Enyedy É. A., Ostrowska K., Pósa V., Maciejewska D. (2018) Drug likeness prediction of 5-hydroxy-substituted coumarins with high affinity to 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors. *European Journal of Pharmaceutical Science*, 115, 25-36.

IF<sub>2018</sub> = **3.532**, MNiSW = **35**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu celu naukowego i opracowaniu koncepcji badań obliczeniowych, wykonaniu obliczeń DFT, oszacowaniu parametrów ADMET, zbudowaniu kompleksów HSA - ligand i wykonaniu obliczeń metodą mechaniki i dynamiki molekularnej, współudział w interpretacji otrzymanych wyników teoretycznych, współudział w przygotowaniu manuskryptu (rozdziały badań teoretycznych) oraz przygotowaniu korekty pracy zgodnie z uwagami Recenzentów. Mój udział procentowy szacuję na **50%**.

**H5. Żolek T.\***, Dömötör O., Ostrowska K., Enyedy É. A., Maciejewska D. (2019) Evaluation of blood-brain barrier penetration and binding to human serum albumin of 7-O-arylpiperazinylcoumarins as potential antipsychotic agents. *Bioorganic Chemistry*, 84, 211-225.

IF<sub>2019</sub> = **4.831**, MNiSW = **100**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu celu naukowego i opracowaniu koncepcji badań obliczeniowych, wykonaniu obliczeń DFT, oszacowaniu parametrów ADMET w kierunku wpływu ligandów na OUN, zbudowaniu kompleksów HSA - ligand i wykonaniu obliczeń metodą mechaniki i dynamiki molekularnej, interpretacji otrzymanych wyników teoretycznych, współudział w przygotowaniu manuskryptu (rozdziały badań teoretycznych), redagowaniu tekstu, korespondowaniu z Edytorem oraz przygotowaniu recenzji dla recenzentów. Mój udział procentowy szacuję na **50%**.

**H6. Żolek T.\***, Trzeciak A., Maciejewska D. (2020) Theoretical evaluation of EGFR kinase inhibition and toxicity of di-indol-3-yl disulfides with anti-cancer potency. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, DOI: 10.1080/07391102.2020.1815576.

IF<sub>2020</sub> = **3.310**, MNiSW = **70**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu celu naukowego i opracowaniu koncepcji badań obliczeniowych, wykonaniu obliczeń DFT, oszacowaniu parametrów ADMET, zbudowaniu kompleksów EGFR - ligand i wykonaniu obliczeń metodą mechaniki i dynamiki molekularnej, opracowanie modelu teoretycznego pozwalającego oszacować powinowactwo pochodnych 3,3'-ditio-bis-indolu jako inhibitorów receptora

EGFR, interpretacji otrzymanych wyników teoretycznych, współudział w przygotowaniu manuskryptu, redagowaniu tekstu, korespondowaniu z Edytorem oraz przygotowaniu recenzji dla Recenzentów. Mój udział procentowy szacuję na **70%**.

**H7. Żolek T.**, Luliński P., Maciejewska D. (2011) A computational model for selectivity evaluation of 2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethylamine (homoveratrylamine) imprinted polymers towards biogenic compounds. *Analytica Chimica Acta*, 693, 121-129.

IF<sub>2011</sub> = **4.555**, MNiSW = **40**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań obliczeniowych, wykonaniu obliczeń DFT, zbudowaniu układów i wykonaniu obliczeń metodą mechaniki molekularnej, współudział w analizie wyników obliczeń, a także w przygotowaniu manuskryptu (rozdziały badań teoretycznych). Mój udział procentowy szacuję na **40%**.

\* - prace, w których byłam autorem korespondencyjnym

Oświadczenia współautorów o udziale własnym w przygotowaniu prac wchodzące w skład osiągnięcia naukowego udokumentowano w załączniku nr 5.

#### **4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

##### **4.3.1. Wprowadzenie**

Proces odkrywania i opracowywania nowych związków o charakterze leczniczym, wykazujących pożądaną profil aktywności biologicznej oraz optymalne właściwości farmakokinetyczne jest jednym z podstawowych celów współczesnej chemii medycznej i farmacji.<sup>1-3</sup> Małocząsteczkowe ligandy wprowadzane do ustroju, zróżnicowane pod względem struktury chemicznej, biorą udział w różnych procesach biochemicznych toczących się nieprzerwanie w każdej komórce żywego organizmu, chcąc doprowadzić zakłócone procesy w stanach patologicznych do stanu fizjologicznego. Ligandy takie ze względu na swoją małą masę cząsteczkową mają szanse na dotarcie do swojego miejsca działania przechodząc przez szereg barier biologicznych, aby wywołać odpowiedź farmakologiczną. O tym jak sprawnie ulegną interakcji

z docelowym miejscem w organizmie, jak również o stopniu i czasie trwania efektu farmakologicznego decyduje nie tylko wielkość podawanej dawki, ale także takie parametry jak: droga podawania, szybkość uwalniania się substancji czynnej, jej rozpuszczalność, zdolność do przechodzenia przez błony biologiczne, profil dystrybucji, metabolizm oraz biotoksyczność.<sup>4, 5</sup>

Poznanie mechanizmu działania nowo zsyntetyzowanych cząsteczek wymaga szczegółowej znajomości ich właściwości fizykochemicznych, powierzchni molekularnej i związanych z tymi parametrami sił fizycznych, które warunkują zdolność do udziału we wszystkich zmianach, jakie może spowodować mała cząsteczka w ustroju. Możemy założyć, że aktywność wielu związków biologicznie czynnych wyraża się głównie poprzez oddziaływanie z określonym celem molekularnym takim jak enzym, receptor, kwas deoksyrybonukleinowy lub inna makrocząsteczka i jest skłonny, przez możliwość wbudowania się do wnętrza w makrocząsteczce wywołać pożądaný efekt farmakologiczny.

Rozpoznanie charakteru oddziaływań i właściwości małych cząsteczek w organizmie żywym, jest złożonym problemem badawczym. Niemniej jednak, wprowadzenie metod teoretycznych wsparte komputerowym modelowaniem molekularnym (CADD, ang. *Computer-Assisted Drug Design*)<sup>6</sup> może skrócić cykl badawczy nad rozwojem związków biologicznie czynnych umożliwiając wybór spośród olbrzymiej liczby związków podejrzanych o potencjalne działanie terapeutyczne tych, które będą najskuteczniej oddziaływać z celem molekularnym. Projektowanie nowych celów syntetycznych o potencjalnym znaczeniu terapeutycznym oraz przewidywanie ich potencjalnej aktywności biologicznej jest bardzo istotne, szczególnie biorąc pod uwagę fakt, iż zaledwie jeden z kilku tysięcy nowo zsyntetyzowanych związków ma szansę pomyślnego przejścia przez długi cykl badań przedklinicznych i klinicznych. Duża liczba związków, które zostają wykluczone na etapie badań klinicznych wynika z faktu, że większość z nich działa nieselektywnie i nie mogą być stosowane klinicznie w sposób bezpieczny dla pacjenta. Ponadto w wielu przypadkach pojawiają się problemy ze sposobem podawania, stężeniem oraz interakcjami.

CADD bazuje na podstawach mechaniki kwantowej, chemii kwantowej i mechaniki klasycznej, a także na obliczeniach, dzięki którym możliwe

jest modelowanie oraz symulacja oddziaływań cząsteczek w określonych warunkach. Projektowanie i badanie układów molekularnych odbywają się na poziomie atomowym, co pozwala na szczegółowe odtworzenie struktury i oddziaływań cząsteczek rzeczywistych, albowiem generowane są konformacje i dynamika molekuł. Ponadto, układy modelowe cząsteczek nie są traktowane tylko teoretycznie, gdyż podczas tworzenia wprowadza się szereg wartości pochodzących z badań doświadczalnych.

Określenie prawdopodobieństwa oddziaływania małych cząsteczek z konkretnym celem biologicznym wspomagane jest przez metody tzw. wirtualnego skriningu, które dzielą się na dwie grupy opierając się na obliczaniu oraz analizie właściwości małych cząsteczek. Pierwsza grupa opiera się na poszukiwaniu niskocząsteczkowego bioefektora jako komplementarnego dopełnienia receptora (ang. *receptor-based design*), która obejmuje konstrukcję małowcząsteczkowych ligandów (obliczenia kwantowo-mechaniczne np. metody półempiryczne czy metody DFT (ang. *Density Functional Theory*)), dopasowanie ligandów do miejsca aktywnego makrocząsteczki (metoda dokowania) oraz badanie dynamiki kompleksu makrocząsteczka-ligand na poziomie molekularnym (metoda mechaniki molekularnej (MM) i dynamiki molekularnej (MD)). Metody te wykorzystują informacje o budowie związku chemicznego oraz docelowej makrocząsteczki i mają na celu obliczenie zmian energii swobodnej ich kompleksów w różnych warunkach, jak również oszacować ich wkład entropowy i entalpowy.<sup>7</sup> Im niższa energia, tym wyższa stabilność kompleksu, co może świadczyć o aktywności związku chemicznego względem docelowej makrocząsteczki. Druga grupa ogranicza się do analizy zbioru aktywnych cząsteczek z wytworzeniem przestrzennej mapy oddziaływań zwanej farmakoforem (ang. *ligand-based design*).<sup>8</sup> Wykorzystywane są tu metody: QSAR (ang. *Quantitative Structure-Activity Relationship*), QSPR (ang. *Quantitative Structure-Property Relationships*) i QSRR (ang. *Quantitative Structure Retention Relationship*) pozwalające oszacować potencjalny wpływ podstawników na aktywność oraz poznać potencjalny mechanizm oddziaływania receptor-ligand.<sup>9-11</sup>

Istotnym uzupełnieniem wspomnianych wcześniej metod są przewidywania właściwości fizykochemicznych i farmakokinetycznych.<sup>12</sup>



Dzięki zastosowaniu innowacyjnych algorytmów, które umożliwiają wykorzystywanie modeli matematycznych stworzonych na podstawie wielokierunkowych analiz podobieństwa do znanych substancji leczniczych, możliwe staje się odzwierciedlenie zachowania się nowych cząsteczek w organizmie ludzkim. Pozwalają w bardzo krótkim czasie oszacować możliwość wystąpienia efektów toksycznych, jak również ocenić parametry farmakokinetyczne cząsteczki na podstawie jej wzoru chemicznego. Z dużej bazy związków jest możliwe wybranie tych, które wykazują pożądane właściwości i kontynuować badania nad nimi zmniejszając prawdopodobieństwo rozpoznania działań niepożądanych. Ma to szczególne znaczenie, gdyż już na etapie projektowania nowych analogów oprócz aktywności biologicznej bierze się pod uwagę właściwości farmakokinetyczne, takie jak prawidłowe: wchłanianie (absorpcja, ang. *absorption*, A), rozmieszczenie (dystrybucja, ang. *distribution*, D), metabolizm (ang. *metabolism*, M), wydalenie (eliminacja, ang. *excretion*, E) i toksyczność (ang. *toxicity*, T); tzw. profil ADMET.<sup>13</sup>

Warto wspomnieć, że w ostatnich latach CADD stało się istotnym elementem w pracach nad każdym nowym lekiem. Istnieją już dostępne na rynku leki, podczas projektowania których, wykorzystano techniki modelowania molekularnego. Najbardziej spektakularnym przykładem są m.in. Kaptopril (inhibitor konwertazy angiotensyny (ACE-inhibitor)), Sakwinawir (inhibitor proteazy HIV (ang. *Human Immunodeficiency Virus*)) oraz Tirofiban (antagonista receptorów glikoproteinowych (GPIIb/IIIa)),<sup>14, 15</sup> co potwierdza wartość szerokiego wdrażania CADD w badaniach nad nowymi substancjami leczniczymi.

#### **4.3.2. Cel naukowy prowadzonych badań**

Zakres tematyczny prac przedstawionych w cyklu habilitacyjnym wpisuje się w nurt współczesnych badań substancji leczniczych i materiałów polimerowych metodami hybrydowymi łączącymi w sobie elementy badań teoretycznych i eksperymentalnych. Dodatkowo rozważa ważny aspekt związany z modelowymi efektami farmakokinetycznymi (modele ADMET), czyli w tej dziedzinie nauk farmaceutycznych, w której badania

eksperymentalne są bardzo kosztowne i dlatego trudno jest je uzyskać dla związków, które są potencjalnymi lekami, a nie substancjami leczniczymi.

Motywacją do podjęcia badań w tym obszarze była chęć wyjaśnienia w dostępnym zakresie, roli celów biomolekularnych w organizmie ludzkim oraz ich modulacji przez wybrane małowcząsteczkowe ligandy. Pod uwagę zostały wzięte cele, które są istotne z punktu widzenia leczenia oraz modyfikujące przebieg choroby. Kluczowym elementem pozwalającym na poznanie mechanizmu działania nowo zsyntetyzowanych pochodnych pentamidyny oraz określenie ich wpływu na aktywność biologiczną jest ocena charakteru ich oddziaływania z DNA. Informacje na temat siły tego oddziaływania pozwala określić efektywność ewentualnych kationowych leków. Dlatego niezwykle istotne jest znalezienie cech charakterystycznych dla tej grupy związków oraz uchwycić subtelny wpływ sekwencji zasad na szerokości rowka do przestrzennie rozmieszczonych grup funkcyjnych badanych związków. Ponadto zaobserwowano, że pentamidyna jako struktura wiodąca zmniejsza ekspresję powierzchniową sercowego kanału potasowego hERG (ang. *human ether-à-go-go related gene*), który jest wrażliwy na wiązanie leków, a także na zmniejszone stężenie potasu w płynie pozakomórkowym, co może skutkować osłabieniem funkcji kanału i wywołanym przez lek zespołem LQTS (LQTS ang. *Long QT Syndrome*). A zatem ważne jest wczesne zbadanie czy wybrane nowo zsyntetyzowane związki mogą wpływać na aktywność kanału hERG K<sup>+</sup> wykorzystując symulację modelowych układów. Z kolei, szybki i intensywny rozwój terapii przeciwnowotworowej daje szansę celom biomolekularnym, które należą do kinaz tyrozynowych receptorów znajdujących się na powierzchni komórek śródbłonna (głównie EGFR ang. *Epidermal Growth Factor Receptor*), które wchodzi w interakcje z lekami. Do tej grupy inhibitorów zaliczono związki z dwoma ugrupowaniami indolowymi, dlatego bardzo ważne staje się poznanie ich mechanizmu i sprawdzenie czy tworzą one kluczowe oddziaływania z receptorem.

Z drugiej strony, oddziaływania leków z różnymi biomolekułami w organizmie przed dostarczeniem leku do miejsca jego działania stwarza

dotkliwe trudności w zrozumieniu zachodzących procesów. Zjawisko wiązania leku z albuminą surowicy ludzkiej (HSA ang. *Human Serum Albumin*) wpływa zarówno na eliminację leku, jak i na skuteczność, czas działania oraz toksyczność. Wobec tego, badanie takich oddziaływań i określenie mechanizmu na przykładzie pochodnych kumaryny może stanowić cenny materiał do optymalizacji struktur efektywnych i biodostępnych. Dodatkowo szczególnie ciekawym kierunkiem badań są związki makrocząsteczkowe nazywane polimerami. Polimery ze śladem molekularnym stanowią klasę nowoczesnych materiałów wykazujących zdolność do selektywnej i wielokrotnej adsorpcji określonych cząsteczek, które znalazły zastosowanie jako nośniki uwalniania substancji leczniczej czy jako składniki czujników do oznaczania substancji leczniczych.

Wobec powyższego, podjęte przeze mnie badania pozwoliły na realizację celu poznawczego poprzez objaśnienie czterech ważnych problemów:

1. Opracowanie nowego podejścia metodycznego do zbadania korelacji między aktywnością biologiczną a strukturą pochodnych pentamidyny. Dotychczas prowadzone były próby znalezienia tej korelacji dla analogów pentamidyny posiadających aktywność przeciw *Pneumocystis carinii* a powinowactwem do kwasu deoksyrybonukleinowego z wykorzystaniem metod teoretycznych i eksperymentalnych, ale jej nie uzyskano, chociaż badania eksperymentalne wskazywały na jej istnienie.<sup>16-20</sup> Opracowany przeze mnie nowy model matematyczny na podstawie danych eksperymentalnych i dzięki uwzględnieniu efektu entropowego oraz odwzorowaniu pełnego efektu hydratacyjnego, pozwala identyfikować elementy struktury chemicznej odpowiedzialne za aktywność biologiczną przeciw *Pneumocystis carinii* liniowych pochodnych pentamidyny.

2. Opracowanie metody oceny potencjału terapeutycznego związków o podanej budowie chemicznej w oparciu o techniki obliczeniowe, które łączą strategie deskryptorów molekularnych QSPR i symulacji MM/MD oraz, które pozwalają zapoznać się z istotnymi właściwościami fizykochemicznymi, biologicznymi i biotoksycznymi (przede wszystkim hepatotoksycznością i kardiotoxycznością) cząsteczek aktywnych, a nawet z dużym prawdopodobieństwem wskazywać procesy, jakimi ulega związek po podaniu

do organizmu ludzkiego, zanim dotrze on do miejsca docelowego. Stanowi to istotny postęp w stosunku do dotychczasowych badań pochodnych pentamidyny i kumaryny realizowanych na modelu zwierzęcym.<sup>21-24</sup> Na podstawie dostępnych doniesień literaturowych wynika, że znacząca grupa pochodnych pentamidyny nie przechodzi przez fazy badań klinicznych ze względu na pojawiający się efekt toksyczności.<sup>25</sup>

3. Opracowanie podejścia metodycznego do zbadania korelacji między aktywnością biologiczną a strukturą związków z dwoma ugrupowaniami indolowymi, które wykazują działanie przeciwnowotworowe w badaniach *in vitro*. Opracowany przeze mnie nowy model matematyczny na podstawie danych eksperymentalnych i dzięki zastosowaniu odpowiednio dobranych metod i parametrach symulacji, umożliwia ocenić jak modyfikacja struktury wiodącej wpływa na inhibicję kinazy tyrozynowej (TKI) związaną z receptorem naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) oraz może zostać wstępnie użyty w poszukiwaniu skutecznych inhibitorów do leczenia chorób nowotworowych związanych z EGFR. Obecnie na podstawie dostępnych doniesień literaturowych wiemy, że EGFR i pokrewny receptor ludzkiego naskórka czynnika wzrostu HER2 są obiecującymi celami terapii przeciwnowotworowej ze względu na swoją rolę we wzroście komórek nowotworowych oraz angiogenezie. Ukierunkowane hamowanie sygnalizacji tego szlaku stało się obecnie istotnym celem w terapii leczenia chorób nowotworowych i stanowi alternatywę dla powszechnie stosowanych leków.<sup>26</sup>

4. Opracowanie nowej metodologii tworzenia modelu miejsca wiążącego polimeru wdrukowanego molekularnie charakteryzującego się selektywnością i wykrywalnością wskazanych związków o aktywności biologicznej. Należy podkreślić, że sposób tworzenia wnęki adsorpcyjnej jest innowacyjny. W dostępnej literaturze, teoretyczna analiza polimerów wdrukowanych molekularnie polegała na badaniu oddziaływań ligand-monomer funkcyjny i tworzeniu najczęściej jedno- lub dwupunktowych miejsc wiążących z odpowiednio dobranym monomerem.<sup>27-29</sup>

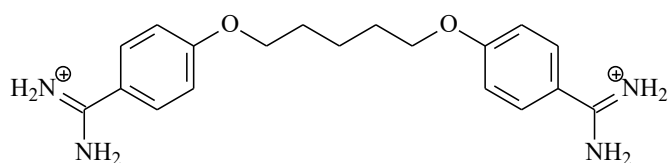
Na podstawie wyników uzyskanych w/w prac głównymi założeniami przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego były:

- opracowanie modelu matematycznego pozwalającego oszacować struktury związków silniej wiążących się z DNA o sekwencji 5'-d(CGCGAATTCGCG)<sub>2</sub>-3' niż wzorcowa pentamidyna oraz ocena potencjału terapeutycznego cząsteczek będących pochodnymi pentamidyny i zbadanie ich wpływu na aktywność kanału potasowego hERG [**H1** i **H2**],
- teoretyczna ocena właściwości farmakokinetycznych pochodnych 7-hydroksykumaryny o aktywności przeciwdrobnoustrojowej i przeciwnowotworowej oraz opracowanie metodologii umożliwiającej zdefiniowanie struktur związków wchodzących w interakcje z kanałem potasowym hERG [**H3**],
- teoretyczna ocena właściwości fizykochemicznych i biologicznych pochodnych 5- i 7-O-arylopiperazynylokumaryny o wysokim powinowactwie do receptorów serotoninowych 5-HT<sub>1A</sub> i 5-HT<sub>2A</sub> oraz opracowanie metodologii do oceny i klasyfikacji struktur związków silniej wiążących z HSA [**H4** i **H5**],
- opracowanie modelu matematycznego pozwalającego na oszacowanie powinowactwa pochodnych 3,3'-ditio-bis-indolu jako potencjalnych inhibitorów kinazy EGFR do dalszych projektów farmaceutycznych, wykorzystując unikalną cechę kompleksów EGFR-ligand, zdefiniowaną podczas teoretycznych symulacji na poziomie molekularnym oraz teoretyczna ocena ich właściwości fizykochemicznych i biologicznych [**H6**],
- zaprojektowanie nowego modelu teoretycznego wnęki adsorbcyjnej, który pozwala ocenić powinowactwo i selektywność polimeru molekularnie wdrukowanego pochodną etyloaminy (homoweratryloaminą (DMPEA)) [**H7**].

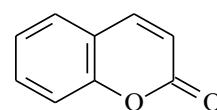
#### **4.3.3. Szczegółowe omówienie prac stanowiących osiągnięcie naukowe**

W niniejszym podrozdziale dokonałam przeglądu przeprowadzonych badań oraz najważniejszych, sformułowanych na ich podstawie wniosków w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy. Obiektem moich naukowych zainteresowań są aktywne biologicznie pochodne: pentamidyny (dikation

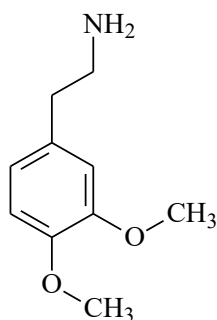
1,5-bis(4-amidynofenoksy)pentanu), kumaryny (1,2-benzopironu), 3,3'- diindolilometanu (DIM) oraz pseudo-wzorec dopaminy - homoweratryloamina (2-(3,4-dimetoksyfenylo)etyloamina (DMPEA)) (Rys. 1). Wybrane związki stanowią niezwykle inspirujące źródło struktur wiodących, gdyż odznaczają się szerokim zakresem aktywności biologicznej.



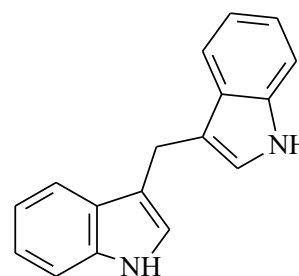
dikation 1,5-bis(4-amidynofenoksy)pentanu (pentamidyna)



1,2-benzopiron (kumaryna)



2-(3,4-dimetoksyfenylo)etyloamina (homoweratryloamina)



3,3'- diindolilometan (DIM)

Rys. 1. Wzory chemiczne struktur wiodących.

Szczegółowe omówienie wszystkich wyników znajdują się w tekstach załączonych kopii publikacji zamieszczonych w załączniku nr 4.

### **Analogi pentamidyny – wpływ na strukturę DNA i kanału hERG K<sup>+</sup>**

Pentamidyna jako silny lek przeciwdrobnoustrojowy, została odkryta kilkadziesiąt lat temu jako wykazująca doskonałą aktywność przeciwko chorobom zakaźnym od *Pneumocystis jirovecii* pneumonia (PJP) do ludzkiej afrykańskiej trypanosomatozy (HAT ang. *Human African Trypanosomiasis*) oraz obiecującą skuteczność w terapii przeciwnowotworowej.<sup>30-34</sup> Należy do grupy związków oddziałujących z dwuniciowym DNA w obszarze małego rowka bogatym w pary zasad adenina-tymina, co wskazuje na korelację między wiązaniem z DNA a jego aktywnością biologiczną.<sup>35, 36</sup> Utworzenie kompleksu pentamidyny z określoną sekwencją DNA zapobiega replikacji

patogenu. Pentamidyna jest lekiem skutecznym, niemniej jednak leczenie pentamidyną jest utrudnione ze względu na jej toksyczność. Wiąże się nie tylko z DNA patogenu, ale i z komórkami gospodarza powodując m.in. zapalenie żył, nefrotoksyczność, hepatotoksyczność, ostre zapalenie trzustki i zaburzenia rytmu serca.<sup>37, 38</sup> Przeprowadzone badania wskazują, że toksyczność związana z pentamidyną jest częściowo spowodowana rozszczepieniem łącznika podczas metabolizmu leku.<sup>39</sup> Strukturę chemiczną pentamidyny określają dwie silnie zasadowe reszty *bis*-amidynowe, a jako substancja dikationowa posiada słabą biodostępność doustną i musi być podawana domięśniowo, dożylnie lub drogą wziewną. Pentamidyna znajduje zastosowanie w terapii tzw. schorzeń zaniedbanych (np. HAT), a podawanie pozajelitowo pacjentom ogranicza jej zastosowanie w niektórych regionach. Wszystkie te fakty wskazują, że pentamidyna jest obiecującą strukturą wiodącą w poszukiwaniu nowych związków o zwiększonej skuteczności przeciwko PJP, które będzie można podawać doustnie i będą posiadały zadowalającą biodostępność.

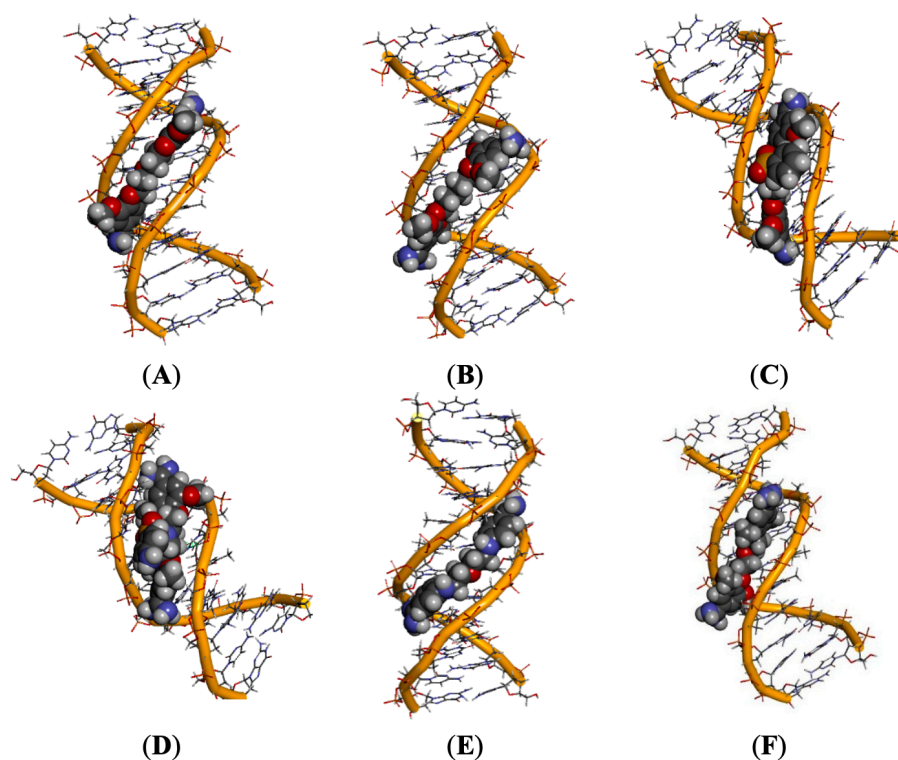
Ostatnie lata intensywnych prac w licznych ośrodkach naukowych, również w ramach prac badawczych prowadzonych w Zakładzie Chemii Organicznej doprowadziło do zsyntetyzowania i przeprowadzenia badań *in vitro* lub badań klinicznych z wieloma pochodnymi pentamidyny o zmodyfikowanej strukturze łańcucha łączącego różne ugrupowania kationowe, to w dalszym ciągu poszukuje się nowych związków, bardziej biodostępnych, skuteczniejszych i mniej toksycznych niż pentamidyna.<sup>36, 40-42</sup> Dlatego pojawiła się koncepcja wsparcia tych poszukiwań poprzez prześledzenie oddziaływań szeregu pochodnych pentamidyny z dimerycznymi dodekanukleotydami różniącymi się kolejnością nukleotydów w obszarze kasety TATA oraz opracowanie modelu matematycznego wdrażając metody modelowania molekularnego, jako dobrą alternatywę do wstępnej oceny związków w procesie projektowania nowych pochodnych pentamidyny o lepszym powinowactwie do DNA i wykazujących skuteczność terapeutyczną przeciwko PJP. Badania związane z poszukiwaniem modeli matematycznych zostały przeze mnie zapoczątkowane w ramach pracy doktorskiej, której rezultaty opisałam w artykule opublikowanym w 2010 roku na łamach

czasopisma *European Journal of Medicinal Chemistry* (IF<sub>2019</sub> = 5.572) (**B1**). Otrzymane wyniki zainicjowały prowadzenie dalszych badań po doktoracie w grupie pochodnych *bis*-amidyn poszukując modeli, które będą w sposób bardziej efektywny opisywały zachowanie się układu ligand-makrocząsteczka w reakcjach biochemicznych.

Model uwzględniający cząsteczki wody krystalicznej w publikacji **B1** okazał się mieć interesujący wpływ na oddziaływania międzycząsteczkowe w układzie DNA-ligand-woda. Wobec tego w publikacji **H1** przygotowując układy uwzględniłam nie tylko pierwszą warstwę hydratacyjną, która zależy od lokalnego upakowania cząsteczek wody krystalicznej, ale odwzorowałam pełny efekt hydratacyjny używając model wody TIP3P.<sup>43</sup> Koncepcja zakładała, że uwzględnienie efektów termodynamicznych i sterycznych związanych z cząsteczkami wody w miejscu wiążącym mogą istotnie wpływać na strukturę, dynamikę, a tym samym na badanie aktywności biologicznej nowych związków.<sup>44</sup> Do analizy wybrałam trzynaście pochodnych pentamidyny (Tabela 1 publikacji **H1**), dla których zostały wykonane badania *in vitro* oceniające aktywność biologiczną przeciwko *Pneumocystis carinii*.<sup>45</sup> Struktury wyjściowe wszystkich analizowanych związków wygenerowałam na podstawie struktur krystalograficznych i danych CP/MAS <sup>13</sup>C NMR. W celu uzyskania najlepszej parametryzacji i geometrii badanych związków wykonałam obliczenia metodą DFT. Struktury kompleksów ligand-makrocząsteczka-woda optymalizowałam na poziomie MM i MD poszukując stabilnego układu molekularnego odpowiadającego minimum energii swobodnej. Przeprowadzając symulację MD zbadalam, czy zmiany aktywności biologicznej (wyrażone jako IC<sub>50</sub>) można wyjaśnić interakcjami z DNA o sekwencji 5'-d(CGCGAATTCGCG)<sub>2</sub>-3'. Dodatkowym parametrem, który został uwzględniony w badaniach, była eksperymentalnie wyznaczona różnica między temperaturą mięknięcia dodekameru DNA i odpowiednich kompleksów ( $\Delta T_m$ ) (w celu uzyskania wartości  $T_m$  wykorzystałam układ pomiarowy opracowany przeze mnie w ramach pracy doktorskiej), co stanowiło dobry wyznacznik dla sklasyfikowania związków pod względem powinowactwa do DNA.



Rozpatrywane przeze mnie pochodne pentamidyny w różnym stopniu oddziałują z DNA, o czym świadczą różne wartości  $T_m$  uzyskane eksperymentalnie. Najwyższy wzrost  $\Delta T_m$  zaobserwowałam dla dwóch pochodnych, w których środkowa grupa  $-CH_2-$  w cząsteczce pentamidyny została zastąpiona przez atom O (związek 5) lub atom S (związek 10) oraz fenolowe atomy O podstawione grupami  $-NH$  (związek 5). Związki z centralną grupą metylenową zastąpioną przez podstawniki  $-N-CH_3$  lub podstawniki sulfonamidowe nie zwiększały stabilności kompleksów z DNA. Natomiast obecność dwóch lub czterech grup metoksy- przy pierścieniach benzenowych wymuszała lokalizację cząsteczek poza krzywizną DNA, prowadząc do deformacji ścian mniejszego rowka DNA (Rys. 2).

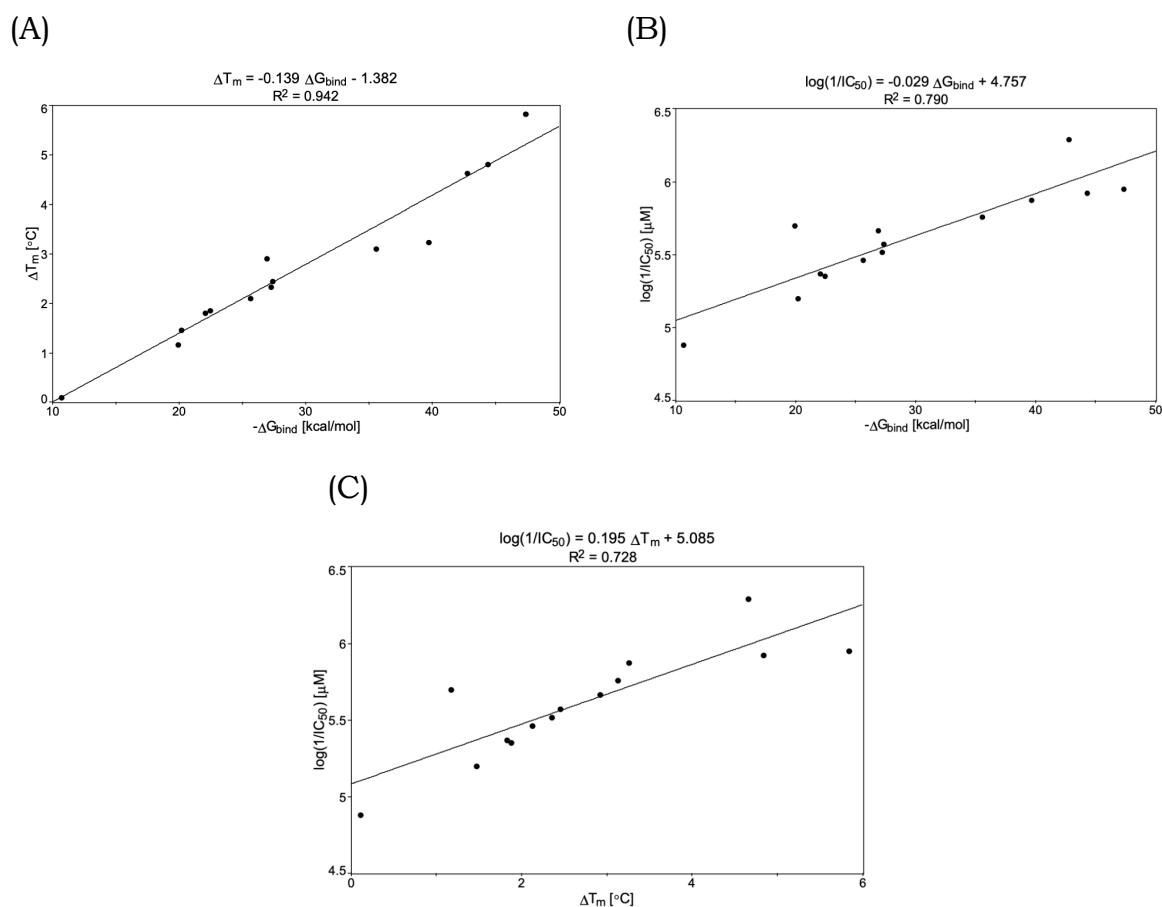


Rys. 2. Przewidywane położenie ligandów w małym rowku DNA: A) związek 7; B) związek 9; C) związek 12; D) związek 13; E) związek 5; F) związek 8. (Rys. 5 publikacji **H1**)

Cząsteczki, w których była obecna grupa metoksy- przy pierścieniach benzenowych charakteryzowały się najniższymi wartościami  $\Delta T_m$ . Te spostrzeżenia pozwalają wstępnie stwierdzić, że aktywność biologiczna

przeciw *Pneumocystis carinii* liniowych pochodnych pentamidyny była związana z ich zdolnością do wiązania z DNA, a obecność atomu N i atomu S w strukturze związku powinna być uwzględniona przy projektowaniu nowych związków biologicznie czynnych.

Uzyskane wartości swobodnych energii wiązania ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ) i eksperymentalnych różnic temperatury mięknięcia DNA ( $\Delta T_m$ ) oraz otrzymane wartości eksperymentalnej aktywności biologicznej przeciw *Pneumocystis carinii* ( $IC_{50}$ ) (Tabela 1 publikacji **H1**) pozwalają stwierdzić, że siła oddziaływań międzycząsteczkowych wszystkich ligandów z DNA dobrze odzwierciedla zmiany temperatury mięknięcia DNA i potwierdza, że niewielkie modyfikacje strukturalne mają bardzo duży wpływ na analizowane parametry. Na podstawie uzyskanych danych wyznaczyłam trzy modele będące aproksymacją zależności:  $\Delta T_m$  od ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ) oraz  $\log(1/IC_{50})$  od ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ) i  $\Delta T_m$  (Rys. 3).

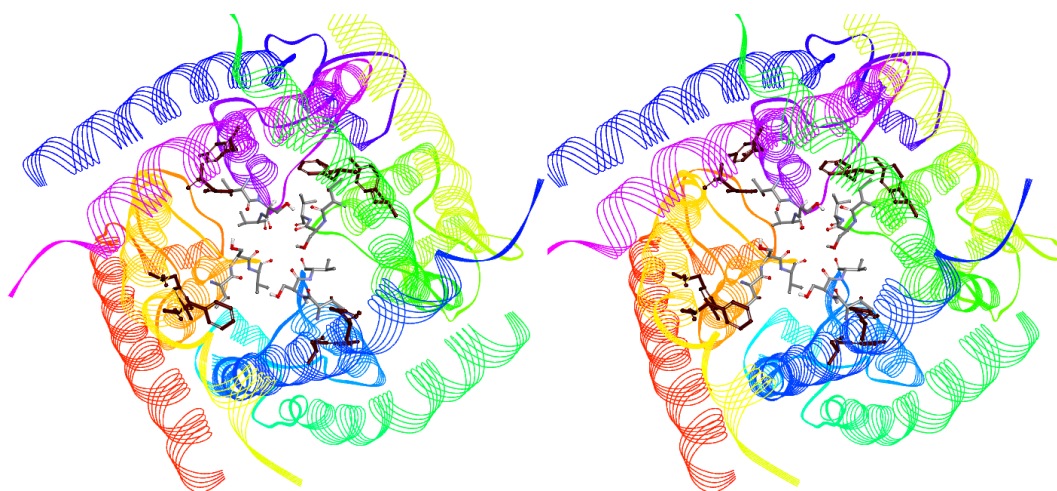


Rys. 3. Wykresy zależności: (A)  $\Delta T_m$  vs. ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ), (B)  $\log(1/IC_{50})$  vs. ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ), (C)  $\log(1/IC_{50})$  vs. ( $\Delta T_m$ ). (Rys. 1, 2 i 3 publikacji **H1**)

Na ich podstawie otrzymałam liniowe korelacje, które potwierdziły znaczenie siły wiązania pochodnych pentamidyny z DNA w mechanizmie aktywności biologicznej przeciw *Pneumocystis carinii*. Uzyskany współczynnik korelacji dla modelu aktywności biologicznej wynosił 0.790 i 0.728. Dowodzi to, że opracowane nowe modele mogą stanowić podstawę do zrozumienia aktywności biologicznej liniowych pentamidyn i potwierdzają znaczenie etapu interakcji z DNA w mechanizmie aktywności pochodnych pentamidyny. W celu weryfikacji poprawności otrzymanych modeli matematycznych wykorzystałam pięć związków TC1 – TC5 (Tabela 2 publikacji **H1**). Uzyskane wyniki wykazały, że otrzymane zoptymalizowane modele pozwalają na trafne przewidywanie wartości  $\Delta T_m$  czy  $IC_{50}$  dla badanych pochodnych pentamidyny, co jest cennym wkładem w dalsze badania nad strukturalną modyfikacją czy klasyfikacją liniowych pentamidyn w poszukiwaniu substancji biologicznie czynnych. Ponadto wyniki pokazały, że w teoretycznej analizie modeli biologicznych uwzględnienie cząsteczek wody pozwala na efektywny opis zmian konformacyjnych zachodzących w cząsteczkach kwasu nukleinowego podczas tworzenia kompleksów. Słuszność postawionych wniosków potwierdzono niezależnie, w później prowadzonych badaniach na innej grupie pochodnych pentamidyny, których rezultaty zostały opisane w rozprawie doktorskiej Pana mgr farm. Mateusza Rezlera pt. „*Synteza, analiza struktury i ocena aktywności biologicznej nowych diamidyn aromatycznych*” opublikowanej w 2020 roku przez Warszawski Uniwersytet Medyczny oraz opublikowane między innymi w 2021 roku na łamach czasopisma *European Journal of Pharmaceutical Science* [**B7**].

W ramach dalszych prowadzonych badań nad pochodnymi pentamidyny postanowiłam w kolejnej publikacji **H2** oszacować ich molekularny mechanizm biotoksyczności, w szczególności analizując kardiotoxyczość, która jest jedną z głównych powodów eliminacji potencjalnych substancji leczniczych zarówno w trakcie badań, jak i po wprowadzeniu ich do obrotu. Obecnie na podstawie dostępnych doniesień literaturowych wiemy, że terapia pentamidyną w licznej grupie populacji pacjentów powoduje zaburzenia układu krążenia (LQTS, a w niektórych przypadkach arytmie *torsade de pointes* (TdP), która może przekształcić się w migotanie komór i spowodować

nagłą śmierć sercową).<sup>46</sup> W wielu badaniach wykazano, że pentamidyna wydłuża potencjał czynnościowy serca poprzez działanie na gen hERG kanału potasowego w komórkach mięśnia sercowego (KCNH2 lub Kv11.1). Wpływa na zmniejszenie liczby funkcjonalnych kanałów hERG na powierzchni komórki uniemożliwiając migrację kanału hERG z siateczki śródplazmatycznej do błony komórkowej tzw. *potassium channel trafficking*.<sup>23, 47, 48</sup> Jednocześnie wiele badań wskazuje, że niektóre interakcje lekowe prowadzące do wystąpienia LQTS, w większości przypadków są również powiązane z inhibicją kanału potasowego kodowanego genem hERG w komórkach mięśnia sercowego tzw. *potassium channel blockade*.<sup>49</sup> Kanał może być blokowany przez wiązanie się małych cząsteczek w unikalnym miejscu kanału, w którym obecne są aminokwasy z aromatycznym łańcuchem bocznym: fenyloalanina 656 (Phe656) i tyrozyna 652 (Tyr652) oraz z alkilowym łańcuchem bocznym: treonina 632 (Thr632), seryna 624 (Ser624) i walina 625 (Val625) (Rys. 4).<sup>50</sup>



Rys. 4. Projekcja stereo trójwymiarowego modelu hERG K<sup>+</sup> (forma otwarta – CSM-TM-model732). Przewidywane miejsce wiązania z aminokwasami: Thr623, Ser624, Val625 (kolor szary) oraz kluczowe do blokowania kanału aminokwasy: Tyr652 i Phe656 (kolor brązowy).

Z kolei istnieją przykłady leków, które zostały zidentyfikowane jako silne inhibitory kanału potasowego hERG, a jednocześnie pozbawionych możliwości wywoływania TdP (np. Flunaryzyna) i odwrotnie, poważne zaburzenia elektrofizjologii kardiomiocytów wywołane przez lek, a będące słabymi

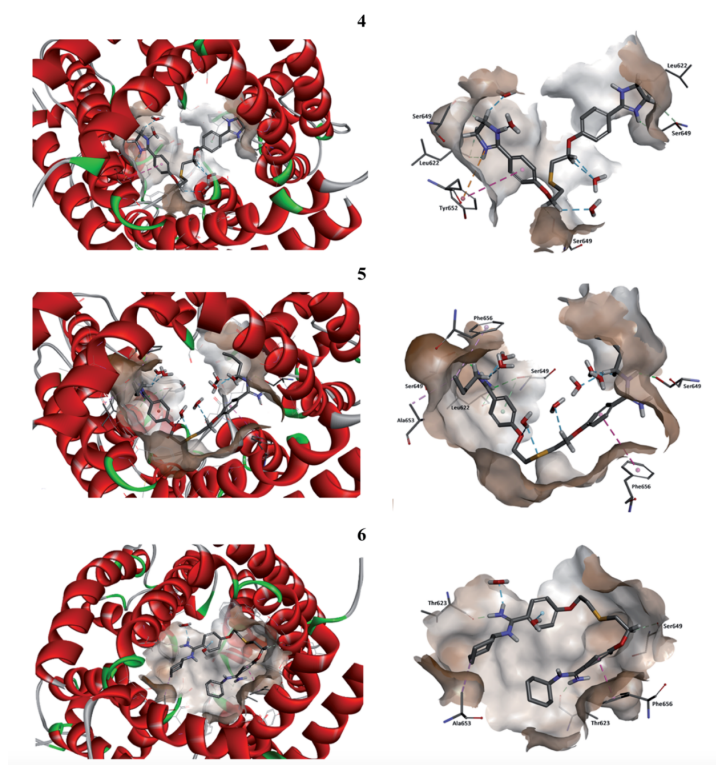
inhibitorami kanału potasowego hERG (np. Sotalol (chlorowodorek sotalolu)).<sup>51</sup> Przykłady te pokazują złożoność problemu określenia potencjału LQTS czy ryzyka wystąpienia TdP u pacjenta, jak również o istniejącej niedoskonałości wykonywanych testów mających zweryfikować potencjał blokowania kanału hERG przez potencjalny lek.<sup>52</sup>

W świetle tych faktów, podjęłam próbę zbadania profilu farmakokinetycznego oraz przeprowadzenia badań określających sposób oddziaływania pochodnych pentamidyny z kanałem potasowym hERG w oparciu o metody modelowania molekularnego i pomiary eksperymentalne. Moim celem było opracowanie metodyki badawczej umożliwiającej ocenę kardiotoksyczności pochodnych pentamidyny związanej z blokadą kanału potasowego hERG. Szczegółowej analizie poddałam dziewięć struktur, dla których zostały wykonane badania *in vitro* oceniające aktywność biologiczną przeciwko *Pneumocystis carinii* (1 – 6) oraz dla związków nowo zsyntetyzowanych (7 – 9) (Rys. 1 publikacji **H2**). W pierwszym etapie prowadzonych badań, korzystając z niezależnych modeli matematycznych zaimplementowanych w programie ADMET Predictor™, obliczono wartości deskryptorów molekularnych na podstawie struktury chemicznej badanych związków, umożliwiając między innymi predykcję ryzyka wystąpienia efektów kardiotoksyczności poprzez połączenie informacji z właściwościami fizykochemicznymi. Analiza badanych struktur na podstawie wartości dwóch parametrów tj. jakościowe oszacowanie prawdopodobieństwa hamowania kanału potasowego hERG (hERG\_filter) oraz pIC<sub>50</sub> jako miary powinowactwa do kanału hERG K<sup>+</sup> (hERG\_pIC<sub>50</sub>) wykazała, że spośród dziewięciu analizowanych pochodnych tylko trzy pochodne pentamidyny (4, 5 i 6), które posiadają jeden atom -S- w łączniku i część alkilową w ugrupowaniu amidynowym są w stanie potencjalnie blokować kanał w komórkach serca, prowadząc do pewnych problemów kardiologicznych. Jednocześnie na podstawie wybranych cech fizykochemicznych związanych głównie z kardiotoksycznością, między innymi parametru określającego elastyczność molekularną (F<sub>RB</sub>) czy masy cząsteczkowej (MWt) mogłam potwierdzić, że związki 5 i 6 mogą wykazywać pewne powinowactwo do kanału hERG K<sup>+</sup> (Tabela 4 publikacji **H2**).

Bazując na otrzymanych wynikach, w dalszej kolejności postanowiłam zbadać potencjalne interakcje z kanałem hERG K<sup>+</sup> pochodnych pentamidyny (4, 5 i 6) będącymi przypuszczalnie inhibitorami kanału hERG K<sup>+</sup>, poprzez zadokowanie do modelu kanału potasowego hERG oraz prowadząc obliczenia na poziomie MM i MD uwzględniając model wody TIP3P. Strukturę modelu kanału hERG K<sup>+</sup> (CSM-TM-model732), którą wykorzystałam do przygotowania modelowych układów uzyskałam dzięki współpracy z prof. dr hab. S. Y. Noskovem.<sup>53</sup> Na podstawie uzyskanych wartości swobodnej entalpii wiązania ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ) otrzymane metodą MM-PBSA (ang. *Molecular Mechanics-Poisson-Boltzmann Surface Area*) dla poszczególnych zoptymalizowanych układów zaobserwowałam, że na wysokie powinowactwo do kanału hERG K<sup>+</sup> ma wpływ obecność fragmentu butylowego przy grupach amidynowych w związku 5, a najmniejsze zapewnia podstawnik cykloheksylowy przy grupach amidynowych w związku 6. Wyniki modelowania sugerują, że wszystkie trzy analizowane związki są umieszczone w hydrofobowej kieszeni kanału w pobliżu kluczowych aminokwasów: Leu622, Thr623, Ser649, Tyr652, Ala653 i Phe656, co wskazuje na prawdopodobieństwo tworzenia oddziaływań z przynajmniej jednym aminokwasem (Phe656 i /lub Tyr652) w kieszeni kanału, co jest uznawane za możliwość blokady kanału hERG K<sup>+</sup>. Warto jednak tu zaznaczyć, że interakcje leków z kanałem jonowym niekoniecznie prowadzą do całkowitego blokowania prądów jonowych.

Na poziomie molekularnym zaobserwowano, że związek 4 z obecnymi podstawnikami 4-(4,5-dihydro-2-imidazoliowymi) będzie zajmować pozycję w sąsiedztwie reszt aminokwasowych takich jak Tyr652, Leu622 czy Ser649 przyjmując konformację zgiętą. Ten sam trend, chociaż o większym nasileniu, może być zauważony w odniesieniu do powinowactwa związku 5 wobec kanału hERG K<sup>+</sup> (Rys. 5). Zaobserwowano, że związek 5 w kieszeni kanału hERG K<sup>+</sup> oddziałuje z hydrofobową powierzchnią czterech reszt aminokwasowych (Phe656, Ser645, Leu622 i Ala653) oraz cząsteczkami wody, uczestnicząc w sieci wiązań wodorowych, co może mieć wpływ na wyższe powinowactwo do kanału hERG K<sup>+</sup> niż związku 4. Z kolei analizując lokalizację związku 6 posiadającego podstawniki *N,N'*-cykloheksyloamidynowe przewiduje się, że będzie on umieszczony w kanale hERG K<sup>+</sup> przyjmując konformację

w kształcie litery U i tworzyć interakcję z resztami aminokwasów takimi jak: Phe656, Thr623 i Ala653.



Rys. 5. Przewidywana pozycja potencjalnych inhibitorów we wnęce kanału hERG K<sup>+</sup>. (Rys. 5 publikacji **H2**)

W celu oceny zdolności predykcyjnych zastosowanych metod teoretycznych dokonałam porównania z otrzymanymi wynikami badań eksperymentalnych. Zgodnie z przewidywaniami wynikającymi z analiz teoretycznych, większość związków nie wykazała powinowactwa do kanału potasowego hERG. Uzyskane wyniki eksperymentalne dla wszystkich dziewięciu analizowanych pochodnych pentamidyny pokazały, że nie zaobserwowano istotnych zmian w gęstości kanału przewodzącego prąd I<sub>Ks</sub> w 15-minutowych ramach czasowych przy stężeniu 1 μM, która by wywoływała ostrą blokadę kanału hERG K<sup>+</sup>, ale nie wykluczają potencjalnego długoterminowego wpływu pochodnych pentamidyny 4, 5 i 6 na gęstość kanału potasowego hERG powodując blokadę przepływu jonów przez kanał.

Dlatego biorąc pod uwagę złożoność mechanizmu zaburzeń elektrofizjologicznych warto podkreślić, że zaproponowana przeze mnie metodyka badań stanowi istotne uzupełnienie wczesnych etapów badań nad oceną bezpieczeństwa kardiologicznego potencjalnych substancji leczniczych



z tej grupy związków, co jest szczególnie ważne z punktu widzenia bezpieczeństwa pacjentów.

### **Analogi kumaryny - wpływ na strukturę kanału hERG K<sup>+</sup> i HSA**

W dalszej kolejności moja uwaga skupiła się na badaniu związków pochodzenia naturalnego, do których należą kumaryny. Kumaryny zawierają ugrupowanie 1-benzopiran-2-onu i należą do klasy flawonoidów roślinnych, określanych mianem metabolitów wtórnych.<sup>54-56</sup> W przypadku większości naturalnie i syntetycznie występujących kumaryn stwierdzono, iż odznaczają się one szerokim zakresem aktywności biologicznej, a ich struktura chemiczna ma istotny wpływ na ich właściwości fizykochemiczne i biologiczne.<sup>57, 58</sup> Przeprowadzone badania wskazują między innymi na ich silną aktywność antyoksydacyjną, przeciwnowotworową, a w ostatnich latach oceniono je pod kątem dużego wpływu na ośrodkowy układ nerwowy (OUN).<sup>59</sup> Niemniej jednak, pomimo niezwykle cennych działań, wielokrotnie wspomina się o niekorzystnym wpływie niektórych pochodnych kumaryny na organizmy żywe, przy czym działanie to jest specyficzne gatunkowo i niekiedy w sposób istotny różne dla organizmu ludzkiego i dla modelu zwierzęcego. Obecnie na podstawie dostępnych doniesień literaturowych wykazano, że u ludzi najczęściej może skutkować wystąpieniem działań niepożądanych związanych z nefro-, kardio- lub hepatotoksycznością.<sup>56</sup> Dlatego koncepcja wykorzystania szkieletu kumaryny jako nośnika do nowych udoskonaleni właściwości pochodnych kumaryny, będących konsekwencją wprowadzenia do niej nowych niespecyficznych grup funkcyjnych, wydaje się być niezwykle interesującym i ważnym celem, gdyż wykazują one w sobie ogromny potencjał możliwości aplikacyjnych, w kierunku poszukiwania bardziej bezpiecznych i skuteczniejszych pochodnych kumaryny.

W Zakładzie Chemii Organicznej od kilku lat prowadzone są syntezy nowych związków o potencjalnej aktywności przeciwgrzybiczej, przeciwbakteryjnej i przeciwnowotworowej przyjmując 7-hydroksykumarynę jako strukturę wiodącą.<sup>60-63</sup> W ramach kontynuacji badań postanowiłam w publikacji **H3** oszacować dla nich parametry, które mają decydujący wpływ na kierunek i wielkość efektu biologicznego w organizmie ludzkim, gdyż wiedza



o tych parametrach dla tej grupy związków jest bardzo niewielka. Badania rozpoczęłam od teoretycznej oceny profilu farmakokinetycznego pochodnych 7-hydroksykumaryny, dla których przeprowadzono badania *in vitro* oceniające ich aktywność przeciwdrobnoustrojową i przeciwnowotworową. Podobnie jak w przypadku publikacji **H2**, zastosowałam modele matematyczne zaimplementowane w programie ADMET Predictor™ do obliczenia wybranych parametrów fizykochemicznych oraz biofarmaceutycznych w celu określenia lekopodobieństwa badanych związków. Szczegółowo przeanalizowałam bazę trzydziestu jeden struktur należących do czterech grup pochodnych kumaryny (Rys. 1 publikacji **H3**). Struktury wyjściowe pochodnych kumaryny utworzyłam na podstawie dostępnych struktur krystalograficznych i danych CP/MAS <sup>13</sup>C NMR. Geometrię cząsteczek optymalizowałam wykonując obliczenia metodą DFT. Początkową analizę ograniczyłam do tzw. „reguły pięciu” opracowaną przez Lipińskiego, gdzie na podstawie otrzymanych wyników mogłam wstępnie ustalić, że wszystkie pochodne mogą być zaliczane do potencjalnie obiecujących związków, dla których wskazane jest prowadzenie dalszych badań biologicznych (Tabela S1 materiały dodatkowe publikacji **H3**). Ponadto analizowane pochodne kumaryny wykazały dobrą rozpuszczalność w wodzie, co w istotny sposób wpływa na ich wchłanianie oraz możliwość uzyskania określonego efektu farmakologicznego (najlepszą rozpuszczalność wykazują dwa chlorowodoriki: związek 1a posiadający podstawnik 7-(2-*N,N*-diizopropylamino)etoksyloowy oraz związek 1b z obecnym podstawnikiem 7-(2-*N,N*-dietyloamino)etoksylowym). Oceniając przebieg procesu przenikalności mogłam oszacować, że wszystkie pochodne kumaryny wykazują dobry transport przez błony biologiczne i dla większości związków można zaobserwować duże prawdopodobieństwo przechodzenia przez barierę krew-mózg (ang. *blood-brain barrier* (BBB)) (Tabela 1 publikacji **H3**). Podczas analizy określiłam, że w przypadku pochodnych kumaryny z podstawnikiem 7-[2-(2-metylopiperidyno)etoksylowym] i różniących się grupą metylową w pozycji C-4, są najbardziej prawdopodobnymi kandydatami na stymulanty (substancje psychoaktywne), chociaż ostateczny wynik może wymagać przeprowadzenia dalszych badań. Analizując parametry, które pozwalają oszacować zdolność

substancji do wiązania z białkami osocza, mogłam wskazać, że tylko pochodne kumaryny posiadające podstawnik: 2-(1-morfolino)etoksyłowy, 2-(*N*-benzylo-*N*-metyloamino)etoksyłowy oraz benzonitryłowy wyróżniają się wysokim stopniem wiązania z białkami osocza, co może mieć duży wpływ na ich aktywność biologiczną i okres półtrwania w organizmie (Rys. 3 publikacji **H3**). Rozważając proces biotransformacji I fazy przebiegającej na poziomie izoenzymu cytochromu P450 (CYP450), mogłam zaobserwować, że wszystkie analizowane związki mogą być substratami izoenzymu CYP2C19, a większość z nich może być substratem pozostałych izoenzymów takich jak: CYP1A2, CYP2D6, CYP2C19 i CYP3A4 (Tabela 2 publikacji **H3**). W dalszej części badań przeprowadziłam analizę toksyczności pochodnych kumaryny, koncentrując się głównie na efektach związanych z hepatotoksycznością i kardiotoxycznością. Dokonując wstępnej oceny hepatotoksyczności badanych związków za pomocą pięciu modeli biomarkerów enzymatycznych (AlkPhos, GGT, LDH, SGOT i SGPT) wykazałam, że w szczególności pochodne kumaryny zawierające podstawnik benzamidynowy lub nitryłowy wykazują prawdopodobieństwo wywołania efektu toksycznego. Tymczasem ocena wystąpienia efektów kardiotoxycznych przez badane struktury ujawniła na podstawie wartości dwóch parametrów (hERG\_filter i hERG\_pIC<sub>50</sub>), że tylko dwie pochodne kumaryny z podstawnikiem morfoliny (3d, 4d) i cztery pochodne kumaryny z obecnym podstawnikiem nitryłowym (1e, 2e, 3e, 4e) nie przewidują efektu kardiotoxyczności. Jednocześnie mogłam zaobserwować, że wprowadzenie grupy acetylowej w pozycje 6- i 8- do pierścienia kumaryny wpływa pozytywnie na zanik efektu kardio- i hepatotoksyczności, co może być bardzo istotne w projektowaniu nowych pochodnych kumaryny.

Otrzymane wyniki skłoniły mnie do prowadzenie dalszych badań w kierunku oceny efektu kardiotoxyczności badanych pochodnych kumaryny poprzez określenie wpływu podstawnika metylowego i acetylowego. Z uwagi na fakt, iż wskaźnikiem właściwości proarytmicznych kandydata na lek jest potencjał blokowania kanału potasowego hERG i stanowi podstawę w podejmowaniu decyzji o przerwaniu lub kontynuacji badań nad związkami biologicznie czynnymi, postanowiłam podobnie jak w przypadku publikacji **H2** dokonać analizy oddziaływań wybranych pochodnych kumaryny z kanałem

hERG K<sup>+</sup>. Do badań wybrałam trzy podgrupy kumaryny, w których znajdowały się związki wykazujące właściwości potencjalnych inhibitorów kanału hERG K<sup>+</sup>. Wyboru dokonałam na podstawie wyników uzyskanych z programu ADMET Predictor™. W celu uzyskania teoretycznych wartości entalpii swobodnej wiązania ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ) i wyjaśnienia sposobu wiązania analizowanych kumaryn z modelowym kanałem hERG K<sup>+</sup> zastosowałam metody obliczeniowe takie same jak w publikacji **H2**. Badania siły oddziaływania pochodnych kumaryny z modelowym kanałem hERG K<sup>+</sup> wykazały, że dla układów wchodzących w interakcje z kanałem potasowym hERG w grupie związków posiadających podstawnik 7-[2-(*N*-benzylo-*N*-metyloamino)etoksylowy] wynoszą poniżej -43 kcal/mol, w grupie związków z obecnym podstawnikiem 7-[2-(*N,N*-diizopropylamino)etoksylowym] wynoszą poniżej -30 kcal/mol, natomiast w grupie związków posiadających podstawnik 7-[2-(2-metylopiperidynylo)etoksylowy] wynoszą poniżej -28 kcal/mol (Tabela 4 publikacji **H3**).

Uzyskane wyniki wskazują, że najsilniej wiążącymi strukturami były pochodne kumaryny bez grupy acetylowej. Obecność grupy acetylowej przy atomie C8 ograniczała siłę wiązania o około 4.4-6.1 kcal/mol, podczas gdy obecność w pozycji C6 była nieco mniej skuteczna ~1.5-3.7 kcal/mol. Dodatkowo zaobserwowałam, że wprowadzenie grupy acetylowej w pozycjach 6- i 8- miało duży wpływ na układ ligandów w kieszeni kanału, co więcej cząsteczki wody istotnie uczestniczyły w stabilizacji ligandów w kieszeni poprzez oddziaływanie z grupą acetylową (Rys. 7, 8 i 9 publikacji **H3**).

W oparciu o analizę wizualną kompleksów ligand-białko wykazałam, że wprowadzenie podstawnika acetylowego do cząsteczki kumaryny zmniejsza toksyczność kardiologiczną w tej serii pochodnych kumaryny. Wykonane obliczenia i ich analiza dowiodły, że rezultaty uzyskane podczas modelowania molekularnego są zgodne z parametrami pIC<sub>50</sub> uzyskanymi z matematycznego modelu kardiotoxyczości zaimplementowanego w programie ADMET Predictor™, a to potwierdza, że opracowane zestawy modeli teoretycznych i opracowana metodologia rozszerzona o MD dają możliwość wstępnej oceny interakcji kandydatów na potencjalne leki z kanałem jonowym na różnych

etapach jego rozwoju, poszukując nowych substancji biologicznie aktywnych o pożądanym właściwościach terapeutycznych.

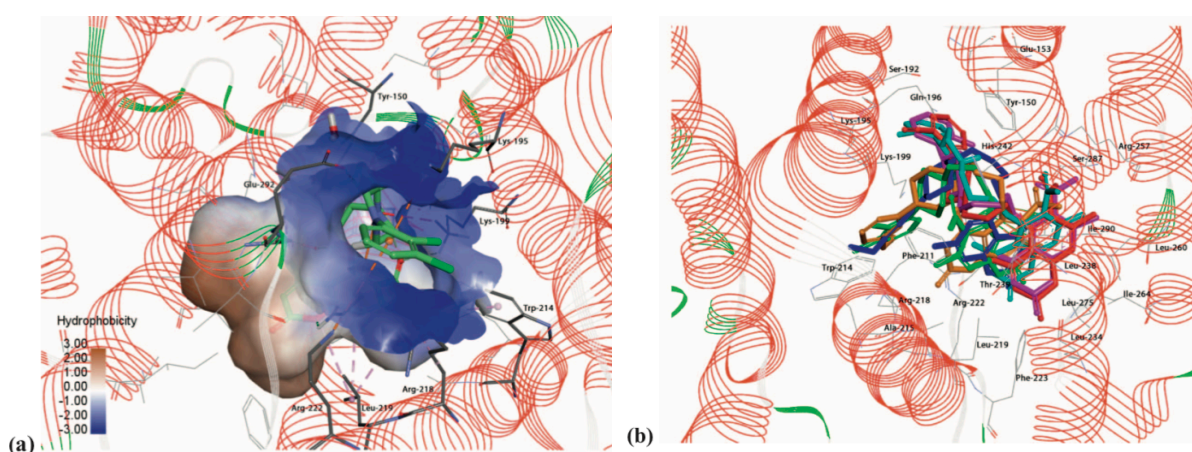
Prowadząc kolejne badania w grupie pochodnych kumaryny, postanowiłam w publikacji **H4** zbadać równie ważny efekt farmakologiczny związany z biodystrybucją i charakterem oddziaływań białka transportowego HSA ze związkami należącymi do pochodnych 5-hydroksykumaryny. Ogólnie przyjmuje się, że w warunkach fizjologicznych każdy lek, niezależnie od drogi podawania jest transportowany w organizmie przy udziale układu krążenia. Układ krążenia stanowi doskonale narzędzie służące dystrybucji ogromnej liczby substancji z miejsca ich wchłaniania, do miejsca ich działania, odkładania lub eliminacji z organizmu. Na terapeutyczny potencjał leków duży wpływ ma charakter ich interakcji z krążącymi białkami osocza, głównie z albuminą surowicy ludzkiej (HSA).<sup>64, 65</sup> Tym bardziej, że związane lub niezwiązane cząsteczki leku w osoczu krwi są w równowadze, a jedynie niezwiązana ilość leku jest aktywna farmakologicznie i zdolna do przenikania przez błony komórkowe.<sup>66</sup> Według najnowszych badań ponad 50% związków wiąże się z białkami osocza w stopniu przekraczającym 90% ich całkowitego stężenia.<sup>67</sup> Dlatego dodatkowe informacje na temat cech strukturalnych, które mogą sprzyjać silnemu wiązaniu z HSA dla związków ocenianych w testach *in vitro* stanowią istotny element podczas optymalizacji nowych związków chemicznych o pożądanym profilu farmakologicznym i korzystnych właściwościach farmakokinetycznych.

Do badań wybrałam sześć struktur należących do pochodnych 5-hydroksy-4,7-dimetylokumaryny i 6-acetylo-5-hydroksy-4,7-dimetylokumaryny połączonych z podstawnikiem *N*-arylopiperazyny poprzez łańcuch propylowy lub butylowy (Rys. 1 publikacji **H4**). Związki te zostały zsyntetyzowane w Zakładzie Chemii Organicznej i wykazały w badaniach *in vitro* bardzo wysokie/wysokie powinowactwo do receptorów serotoninowych: 5-HT<sub>1A</sub> i 5-HT<sub>2A</sub>.<sup>68</sup> Struktury wyjściowe pochodnych kumaryny utworzyłam na podstawie dostępnych struktur krystalograficznych. Zoptymalizowałam geometrię cząsteczek wykonując obliczenia metodą DFT. Następnie, podobnie jak w przypadku publikacji **H3** obliczono wybrane parametry fizykochemiczne i biofarmaceutyczne w celu

określenia lekopodobieństwa dla badanych związków. Na podstawie otrzymanych wyników, oceniając wartości  $\log D$ , które pozwalają na ocenę lipofilowości substancji przy pH osocza krwi (pH=7.4) mogłam wstępnie stwierdzić, że znaczna część związków wykazuje duże prawdopodobieństwo wiązania z białkami osocza.<sup>69, 70</sup> Dodatkowo w oparciu o teoretyczne wartości parametru określającego procent leku niezwiązanego z białkiem w osoczu krwi (%Unbnd) potwierdziłam, że badane kumaryny mogą charakteryzować się wysokim powinowactwem do białka (Tabela 2 publikacji **H4**). Z kolei, oceniając przebieg procesu przenikalności mogłam oszacować, że wszystkie analizowane pochodne 5-hydroksykumaryny przejawiają dobry transport przez błony biologiczne i potwierdzić wysokie prawdopodobieństwo przechodzenia przez BBB, co jest obiecujące w kierunku poszukiwania potencjalnych neuroleptyków. Biorąc pod uwagę wartości dwóch parametrów (BBB\_filter i logBB) udało mi się określić, że najwyższe stężenie w mózgu przewidywane jest dla związku 5, który posiada podstawnik 2-(fluorofenylo)piperazynyłowy połączony przez łańcuch butylowy. Analizując uzyskane wyniki określające toksyczność oszacowałam, że wszystkie badane kumaryny są w stanie powodować potencjalne działania niepożądane (Tabela 3 publikacji **H4**).

Ze względu na fakt, że wzrost toksyczności związany jest ze zwiększaniem dawki terapeutycznej i uwzględniając przewidywany znaczny stopień wiązania z białkami osocza dla wszystkich analizowanych pochodnych 5-hydroksykumaryny, postanowiłam sprawdzić ich zdolność do interakcji z HSA stosując metody modelowania molekularnego i dane wyznaczone eksperymentalnie. Moim celem było opracowanie metodologii, która pozwoli wstępnie oszacować strukturę związków odpowiedzialnych za siłę wiązania z HSA. Znajomość struktury krystalograficznej albuminy ludzkiej, którą uzyskałam z bazy RCSB PDB: 2BXD pozwoliła mi na przygotowanie układów modelowych. Procedurę dokowania molekularnego wykonałam w programie AutoDock 4.2, wybierając jako miejsce wiązania – miejsce 1 Sudlowa, w pobliżu aminokwasu tryptofanu 214 (Trp214) zlokalizowanego w subdomenie IIA HSA, albowiem zostało zidentyfikowane jako główne miejsce wiązania leków lub substancji lekopodobnych.<sup>71</sup> Wynikiem przeprowadzonych

obliczeń był wybór konformacji kompleksów o najniższej energii wiązania do wykonania w kolejnym etapie symulacji na poziomie MD. Na poziomie molekularnym mogłam zaobserwować, że badane kumaryny penetrują w kieszeni albuminy przy wejściu obszar hydrofilowy, a w dolnej części obszar hydrofobowy (Rys. 6). Przewidywana lokalizacja związków w kieszeni była porównywalna, pierścienie kumarynowe wszystkich badanych związków były podobnie zlokalizowane w hydrofobowej części kieszeni wiążącej HSA, natomiast reszta cząsteczki (złożona z łańcuchów alkilowych, pierścienia piperazynowego i benzenowego) decydowała o konformacji i sposobie wiązania się z HSA.



Rys. 6. Przewidywana lokalizacja pochodnych 5-hydroksykumaryny w miejscu 1 HSA. Hydrofobowość powierzchni została przedstawiona za pomocą kolorów: brązowy - hydrofobowy i niebieski - obszary hydrofilowe. (Rys.6 publikacji **H4**)

Na podstawie uzyskanych wartości  $\Delta G_{\text{bind}}$  mogłam oszacować, że pochodna kumaryny posiadająca podstawnik 2,3-dichlorofenyłowy (związek 1) ma największe powinowactwo do HSA w grupie pochodnych kumaryny z łańcuchem propylowym, a najmniejsze pochodna kumaryny z obecnym podstawnikiem 3-metoksyfenyłowym (związek 3). Analizując położenie pochodnych kumaryny 1 – 3 w kieszeni HSA obserwuje się, że będą ulegać wygięciu, ale z różnym ułożeniem pierścienia kumaryny (obrót o  $180^\circ$ ). W przypadku związku 1 sposób ułożenia pierścienia kumarynowego pozwoliło na możliwość tworzenia interakcji grupy metylowej w pozycji 7 z pierścieniem indolowym Trp214 HSA, które może prawdopodobnie odpowiadać za jego

wyższe powinowactwo niż związku 3 (Rys. 7 publikacji **H4**). Tymczasem, w drugiej grupie pochodnych kumaryny posiadających łańcuch butylowy, związek 6 z obecnym podstawnikiem 3-metoksyfenylowym wykazywał największe powinowactwo, a najniższe pochodna z podstawnikiem 2-fluorofenylowym (związek 5). Obserwując rozmieszczenie ligandów 5 i 6 w kieszeni białka mogłam stwierdzić, że związek 6 miał podobną konformację do związku 1 i znajdował się w pobliżu reszty tryptofanowej Trp214 w HSA, podczas gdy związek 5 pozostawał w konformacji wyprostowanej (Rys. 8 publikacji **H4**).

W celu weryfikacji wyników uzyskanych w trakcie badań teoretycznych, przeprowadzono badania eksperymentalne wykorzystując jedną z metod do badań dynamiki i struktury białek oraz ich fragmentów, a mianowicie spektroskopię fluorescencyjną. Interakcja ligandu z HSA może być sondowana przez zmiany emisji fluorescencji, które wynikają z obecności pojedynczej reszty tryptofanowej Trp214 znajdującej się w subdomenie IIA miejsca 1.<sup>72</sup>,<sup>73</sup> W celu oceny powinowactwa analizowanych pochodnych kumaryny do HSA wyznaczono eksperymentalne wartości stałej wiązania ( $\log K$ ) z HSA dla wszystkich układów, potwierdzające trwałość powstałego kompleksu. Wykorzystując otrzymane wartości  $\log K$  wyznaczyłam wartości eksperymentalnej energii swobodnej wiązania na podstawie równania Gibbs'a ( $\Delta G_{\text{exp}} = -2.303 \cdot RT \log K$ ), a następnie porównałam z przewidywanymi wartościami  $\Delta G_{\text{bind}}$  (Tabela 5 publikacji **H4**). Wykonana analiza uzyskanych wyników wykazała, że opracowana metodologia pozwala w sposób trafny ocenić stopień oddziaływania badanych pochodnych 5-hydroksykumaryny z HSA i może być z sukcesem zaaplikowana w przyszłych pracach nad optymalizacją struktur cząsteczek z grupy pochodnych kumaryny o pożądanej biodostępności.

W toku prowadzonych dalszych prac badawczych poświęconych strukturze kumaryny, moim celem w publikacji **H5** było skupienie się na aspekcie związanym z ich zdolnością do pokonywania barier biologicznych, a w szczególności penetracji BBB, która jest jedną z najważniejszych właściwości farmakokinetycznych potencjalnych neuroleptyków oddziałujących z celem biologicznym w OUN. Główną

koncepcją w projektowaniu nowych związków leczniczych wycelowanych na OUN jest zapewnienie obecności substancji w docelowym miejscu farmakologicznym, a następnie dystrybucja jej w wystarczającym stężeniu, żeby uzyskać skuteczność kliniczną.<sup>74</sup> Pomimo że, silne wiązanie związku z zamierzonym celem jest istotne dla siły działania, to słaba przepuszczalność membrany biologicznej może być przyczyną braku skuteczności w badaniach *in vivo*. Z tego powodu, ocena wpływu struktury związku na transport przez błony biologiczne ma ogromne znaczenie dla pomyślnego projektowania cząsteczek o pożądanym właściwościach.

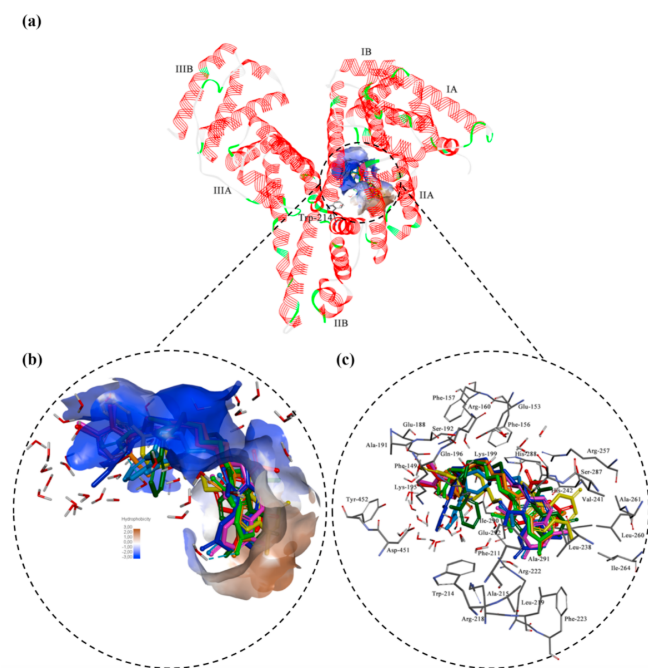
W tym celu wybrałam do badań osiem pochodnych kumaryny, należących do 8-acetylo-7-hydroksy-4-metylokumaryny (Rys. 1 publikacji **H5**), które wykazały w testach *in vitro* wysokie powinowactwo do receptorów serotoninowych 5-HT<sub>1A</sub> i 5-HT<sub>2A</sub>.<sup>75</sup> Badania rozpocząłam podobnie jak w przypadku w/w publikacjach, od zastosowania modeli matematycznych zaimplementowanych w programie ADMET Predictor™ do obliczenia kluczowych parametrów fizykochemicznych i biologicznych, które pozwalają oszacować penetrację BBB. Warto tu podkreślić, że klasyfikując badane pochodne kumaryny bazowałam na odpowiednich zakresach wartości granicznych wskaźników wyrażających zdolność neuroleptyków w penetracji do OUN. Na podstawie otrzymanych wyników ograniczając się na początku do znanej „reguły pięciu” mogłam wstępnie ustalić, że wszystkie badane struktury mają różny potencjał skutecznego przekroczenia BBB oraz zaobserwować, że pochodne 8-acetylo-7-hydroksy-4-metylokumaryny zawierające fragment 2,3-dichlorofenyłowy mogą charakteryzować się bardzo silnym powinowactwem do białka osocza (Tabela S1 materiały dodatkowe publikacji **H5**). Ponadto szczególną uwagę zwróciłam na stałą dysocjacji protonów (pK<sub>a</sub>), gdzie na podstawie wyznaczonych wartości pK<sub>a</sub> dla analizowanych pochodnych kumaryny wykazałam, iż skrócenie łańcucha butylowego do łańcucha propylowego obniża wartość pK<sub>a</sub>, która może mieć znaczący wpływ na ich aktywność biologiczną. Teoretyczne wartości pK<sub>a</sub> porównałam z wyznaczonymi eksperymentalnie wartościami pK<sub>a</sub>, co pozwoliło mi potwierdzić słuszność postawionego wniosku (Tabela 1 i 4 publikacji **H5**). Kolejne kluczowe wyznaczone parametry (BBB\_filter, logBB) wykazały,



że obecność atomu F i atomu Cl w strukturze analizowanych pochodnych kumaryny zwiększa zdolność przenikania do OUN, podczas gdy obecność grupy cyjanowej sygnalizuje niekorzystny wpływ na penetrację BBB, co jest cenną wskazówką do optymalizacji potencjalnych neuroleptyków. Jednocześnie analiza parametrów (%Unbnd, RBP) potwierdza, że wszystkie analizowane pochodne kumaryny mogą wykazywać różną zdolność do wiązania z białkami osocza. Z kolei odnosząc się do analizy aktywnych transporterów białkowych, głównie P-glikoproteiny (P-gp), która jest wykorzystywana między innymi w układzie aktywnego transportu leków w kierunku przeciwnym, z mózgu do krwi (tzw. *efflux system*) oszacowałam, że badane pochodne kumaryny mają zdolność hamowania P-gp (Tabela 1 publikacji **H5**), co świadczy o ich zdolności do hamowania aktywności P-gp i można je uznać za obiecujące cząsteczki do dalszych badań. Zakładamy, że skuteczny lek na OUN nie powinien być substratem P-gp (*in vivo*), co więcej wykazywać niskie powinowactwo do białka osocza ( $K_D < 10 \mu M$ ).<sup>76</sup> Mając na uwadze fakt, że transportery białkowe mogą wpływać na stężenie leków i ich metabolity we krwi, dodatkowo przeprowadziłam analizę biotransformacji wszystkich analizowanych pochodnych kumaryny. Na podstawie uzyskanych wyników zaobserwowałam, że wszystkie poddane analizie pochodne kumaryny są potencjalnymi substratami dla izoenzymów CYP1A2 i CYP2C19. Z kolei związki z ugrupowaniem 2-cyjanofenylopiperyzylowym mogą nie być metabolizowane przez izoenzym CYP2D6, podczas gdy inne badane pochodne kumaryny mogą pełnić funkcję substratu i inhibitora dla obu izoenzymów: CYP2D6 i CYP3A4 (Tabela 2 publikacji **H5**). Co ciekawe, w przypadku wstępnej oceny hipotetycznych metabolitów badanych pochodnych 8-acetylo-7-hydrokso-4-metylokumaryny zauważono, że głównymi metabolitami były aldehydy (do 64%), które powstają w wyniku rozpadu wiązania -C-N w pierścieniu piperazyliny lub przez hydroksylację pierścienia benzenowego czy też grupy metylowej przy atomie C-4 w części pierścienia kumaryny (Rys. S1 materiały dodatkowe publikacji **H5**). Z kolei, w wyniku analizy parametrów opisujących toksyczność ustaliłam, że obecność podstawnika 2-fluorofenyloвого i 2-cyjanofenyloвого może wpływać na prawdopodobieństwo wystąpienia efektów ubocznych.

Biorąc pod uwagę fakt, że wiązanie ligandów z HSA ma kluczowe znaczenie dla dystrybucji i eliminacji leku w żywym organizmie, a także wpływa na intensywność jego efektów farmakologiczno-toksykologicznych, postanowiłam w następnym etapie prowadzonych badań nad pochodnymi 8-acetylo-7-hydroksy-4-metylokumaryny, podobnie jak w publikacji **H4**, ocenić ich stopień powinowactwa do HSA w oparciu o metody modelowania molekularnego i pomiary eksperymentalne. Chcąc wyznaczyć teoretyczne wartości entalpii swobodnej wiązania ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ) oraz wartości eksperymentalnej entalpii swobodnej wiązania ( $\Delta G_{\text{exp}}$ ) zastosowałam te same metody obliczeniowe i eksperymentalne co w publikacji **H4**. Analiza uzyskanych wyników wykazała brak wartości  $\Delta G_{\text{exp}}$  dla dwóch pochodnych kumaryny: 8-acetylo-7-{4-[4-(2-fluorofenylo)piperazyn-1-ylo]butoksy}-4-metylochromen-2-on (związek 1b) i 8-acetylo-7-{4-[4-(3-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]butoksy}-4-metylochromen-2-on (związek 2b), co sugeruje, że te dwa związki wykazują brak powinowactwa do HSA w miejscu 1 Sudłowa tj. w subdomenie IIA. Z kolei, w przypadku pozostałych analizowanych pochodnych kumaryny, zaobserwowałam rozbieżność w zakresie od 0.54 do 1.54 kcal/mol między teoretycznie i eksperymentalnie uzyskanymi wartościami entalpii swobodnej, co może świadczyć, że ligandy mogą oddziaływać nieefektywnie z hipotetyczną kieszenią HSA (Tabela 5 publikacji **H5**). Na podstawie wizualnej analizy kompleksów ligand-HSA zauważyłam, że pierścienie kumaryny wszystkich badanych związków są podobnie zlokalizowane w hydrofobowej kieszeni wiązania HSA, podczas gdy grupa acetylowa w pozycji C8 tworzy wiązania wodorowe głównie z resztami aminokwasowymi: Lys199, His242, Arg257 i Ser287. Z drugiej strony, ułożenie pierścienia kumarynowego analizowanych kumaryn nie sprzyjało w powstawaniu interakcji z pierścieniem indolowym Trp214, a jego odległość molekularna wahała się w zakresie od 7.06 do 13.89 Å. Z kolei podstawniki analizowanych pochodnych kumaryny, takie jak: łańcuchy alkilowe, pierścień piperazynowy i benzenowy były decydującymi fragmentami ukazującymi różnice w konformacji i sposobie wiązania z HSA (Rys. 7). Przeprowadzona symulacja MD dla wszystkich układów pozwoliła na ustalenie dla propoksylowych pochodnych 8-acetylo-7-hydroksy-4-metylokumaryny z podstawnikiem: 2-fluoro-, 3-metoksy- i 2-

cyjanofenyłowym, że będą przyjmować podobną pozycję w kieszeni wiązania HSA i tworzyć interakcje elektrostatyczne i wodorowe z resztami aminokwasowymi, takimi jak: Glu153, Ser192, Lys195, Lys199 i Glu292. Jedynie pochodna kumaryny z podstawnikiem 2-cyjanofenyłowym jest silnie solwatowana przez cząsteczki wody obecne w kieszeni miejsca 1, co zapewnia jej optymalne wysokie powinowactwo do HSA. Z kolei, w przypadku butoksyłowych pochodnych 8-acetylo-7-hydroksy-4-metylokumaryny z podstawnikiem: 2-fluoro-, 3-metoksy- i 2,3-dichlorofenyłowym, przewiduje się przyjmowanie konformacji pofałdowanych w kieszeni HSA, co jest energetycznie niekorzystne i ogranicza interakcje hydrofobowe z otaczającymi aminokwasami, a ich odległość od pierścienia indolowego Trp214 jest znacznie większa niż w przypadku innych analizowanych pochodnych kumaryny, co dobrze odzwierciedla uzyskane wyniki eksperymentalne (Rys. 10 publikacji **H5**). Tymczasem, obecność podstawnika 2-cyjanofenyłowego wpływała na inną penetrację w kieszeni HSA - pierścienie aromatyczne znajdowały się w przeciwnych kierunkach do łańcucha czterowęglowego, co sprzyja w powstawaniu interakcji hydrofobowych, elektrostatycznych i wodorowych z Glu153, Glu292, Lys199 i Ala291.



Rys. 7. Przewidywane położenie pochodnych 7-hydroksykumaryny w HSA. (Rys. 8 publikacji **H5**)

Podsumowując rezultaty przeprowadzonych badań teoretycznych, które zostały potwierdzone wynikami eksperymentalnymi wykazałam, że trzy pochodne kumaryny z trzywęglowym łańcuchem alkilowym zawierające ugrupowanie: 2-fluoro-, 3-metoksy- i 2-cyjanofenylopiperylinyowe oraz jedna pochodna kumaryny z czterowęglowym łańcuchem alkilowym zawierająca ugrupowanie 2-cyjanofenylopiperylinyowe preferują główne miejsce wiązania HSA. Podczas gdy dwie pochodne kumaryny z czterowęglowym łańcuchem alkilowym zawierające ugrupowanie: 2-fluoro- i 3-metoksyfenylopiperylinyowe postulują istnienie innego miejsca wiązania, a dla pochodnych kumaryny z trzy- i czterowęglowym łańcuchem alkilowym zawierające ugrupowanie 2,3-dichlorofenylopiperylinyowe szacuje się zaangażowanie dwóch miejsc wiązania w kieszeni HSA. W odniesieniu do przeprowadzonych i przedstawionych powyżej badań należy podkreślić, że zastosowane techniki obliczeniowe dodatkowo potwierdzają jakość zastosowanych modeli teoretycznych i opracowanej metodologii dla tej grupy związków, a także pozwoliły na istotne uzupełnienie danych dotyczących określenia fragmentów strukturalnych niezbędnych do wystąpienia oczekiwanej aktywności farmakologicznej.

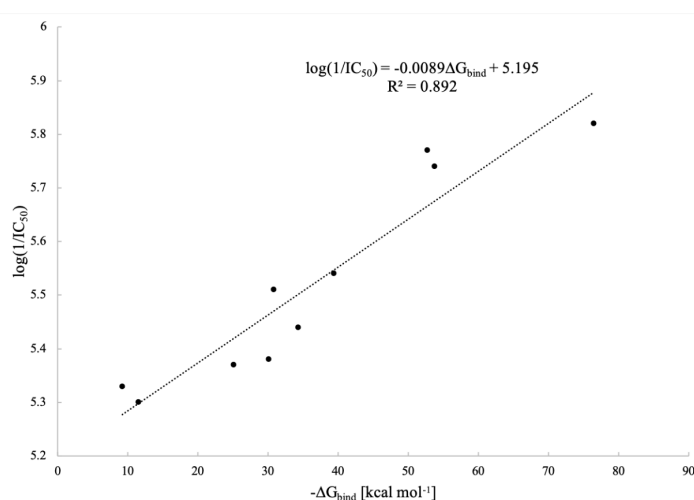
### **Wpływ wiązania pochodnych 3,3'-diindolilometanu (DIM) na aktywację EGFR**

W kolejnych prowadzonych przeze mnie badaniach w ramach publikacji **H6**, postanowiłam przeanalizować związki chemiczne wykazujące działanie przeciwnowotworowe, typując jako strukturę wiodącą: 3,3'-diindolilometan (DIM). Cząsteczka DIM jest głównym produktem kondensacji indolo-3-karbinolu (I3C) i powstaje w organizmie człowieka po spożyciu roślin z rodziny *Brassicaceae*.<sup>77</sup> DIM, podobnie jak I3C, jest związkiem mającym zdolność do modulowania wielu szlaków sygnalizacyjnych w komórce i wykazującym potencjał chemoprewencyjny oraz terapeutyczny w leczeniu nowotworów i innych chorób.<sup>78, 79</sup> Oba te związki były przedmiotem ciągłych badań nie tylko ze względu na ich interesujące działanie przeciwnowotworowe, ale także ze względu na ich działanie przeciwutleniające i przeciwmiażdżycowe.<sup>80-83</sup> Chociaż ich aktywność jest dobrze udokumentowana, to zastosowania

kliniczne tych związków mogą mieć pewne ograniczenia z uwagi na ich stosunkowo niską/umiarkowaną ogólnoustrojową biodostępność i promowaniem proliferacji komórek nowotworowych.<sup>82</sup> Należy również pamiętać, że niektóre naturalne substancje mogą wykazywać toksyczność *in vivo* przy podawaniu w dużych dawkach.<sup>84</sup> Obecnie na podstawie dostępnych doniesień literaturowych wiemy, że formuła wysoce przyswajalnych mikrokapsulek DIM zaowocowała badaniami klinicznymi (II i III faza) w leczeniu nowotworu piersi, prostaty czy dysplazji szyjki macicy.<sup>85</sup> Niemniej jednak, nadal istnieje potrzeba prowadzenia dalszych badań w poszukiwaniu nowych aktywnych substancji przeciwko komórkom nowotworowym, które mogłyby być bardziej biodostępne i mniej toksyczne. Jednym z najbardziej obiecujących związków pokrewnych z *bis*-indolami są pochodne 2,2'-ditio-*bis*-indolu, które zakłócają transdukcję sygnału w komórkach nowotworowych poprzez selektywne hamowanie receptora EGFR, a tym samym hamując rozwój nowotworu.<sup>86-88</sup> Receptor EGFR należy do grupy receptorów kinaz tyrozynowych (TK) i jest obecnie obiecującym celem terapii przeciwnowotworowej zwanej terapią celowaną. TK odgrywają kluczową rolę w procesie transdukcji sygnałów i kontrolują wiele ważnych procesów, zarówno w komórkach prawidłowych jak i nowotworowych. Zatem EGFR jest atrakcyjnym celem do projektowania przeciwnowotworowych substancji terapeutycznych, które mogą działać jako inhibitory TK w komórkach rakowych.<sup>89</sup> Główne strategie obejmują związki małowcząsteczkowe, które zakłócają aktywność TK w domenie wewnątrzkomórkowej, takie jak inhibitory EGFR-TK (TKI), które działają w miejscu wiązania ATP w domenie cytoplazmatycznej lub te skierowane przeciwko zewnątrzkomórkowej domenie receptora, takie jak przeciwciała monoklonalne anty-EGFR.<sup>90</sup> Jednak małe cząsteczki stały się głównymi strukturami wiodącymi w opracowywaniu selektywnych leków przeciwnowotworowych, ze względu na znacznie mniejsze ryzyko występowania skutków ubocznych.<sup>91, 92</sup> W większości przypadków inhibitory kinazy, które wiążą się z miejscem wiązania ATP, tworzą kilka wiązań wodorowych z łańcuchami bocznymi aminokwasów (Met769, Thr766 i Cys773), które są obecne w kieszeni wiążącej (tzw. region zawiasowy).<sup>93-95</sup>

W oparciu o tą wiedzę, w Zakładzie Chemii Organicznej zsyntetyzowano szereg pochodnych *bis*-indolu, strukturalnie powiązanych z DIM, ale posiadających grupę -S-S- zamiast łącznika metylenowego, a mianowicie 3,3'-ditio-*bis*-indole. Związki te w badaniach *in vitro* wykazują bardzo wysokie powinowactwo do komórek ludzkiej: białaczki (HL-60), prostaty (DU-145), raka nerki (RXF-393) i niedrobnokomórkowego raka płuc (HOP-92).<sup>96, 97</sup> Jako kontynuację badań postanowiłam w publikacji **H6** zdefiniować ich teoretyczny profil farmakokinetyczny w organizmie ludzkim w celu wybrania najlepszych kandydatów do przyszłego procesu projektowania nowych substancji w tej grupie związków o pożądanym profilu terapeutycznym. Jednak szczególną uwagę zwróciłam na kwestie związane ze sposobem ich działania w oparciu o metodologię teoretyczną, którą opracowałam bazując na literaturowych strukturach pochodnych 2,2'-ditio-*bis*-indoli, które wykazywały zdolność do hamowania receptora EGFR (wyrażone jako wartości IC<sub>50</sub>, Tabela 5 publikacji **H6**). Moim celem było opracowanie teoretycznego modelu procesu hamowania, który może stanowić dobrą alternatywę do przewidywania możliwego hamowania EGFR przez pochodne 3,3'-ditio-*bis*-indoli, a w konsekwencji do przyszłej analizy związków z dwoma ugrupowaniami indolowymi w projektach farmaceutycznych. Strukturę krystalograficzną receptora z obecnym inhibitorem, jakim jest erlotynib uzyskałam z bazy RCSB PDB:1M17, którą zastosowałam jako cel molekularny, a erlotynib potraktowałam jako inhibitor wzorcowy w celu zbadania sposobu wiązania i określenia powinowactwa receptorowego. Na podstawie dostępnych struktur krystalograficznych utworzyłam struktury wyjściowe pochodnych *bis*-indoli. Geometrię cząsteczek optymalizowałam wykonując obliczenia metodą DFT. W celu prawidłowego oszacowania powinowactwa badanych związków, na początku przeprowadziłam tzw. redocking cząsteczki erlotynibu w obszarze miejsca aktywnego kinazy. Na podstawie powstałego kompleksu wykazałam, że osiem istotnych aminokwasów jest zaangażowanych w interakcje: Leu694, Val702, Ala719, Lys721, Thr766, Met769, Cys773 i Leu820, które są niezbędne dla aktywności klasycznych inhibitorów (Rys. S2 materiały dodatkowe publikacji **H6**). Struktury kompleksów receptor-ligand optymalizowałam na poziomie MM i MD, poszukując stabilnego układu

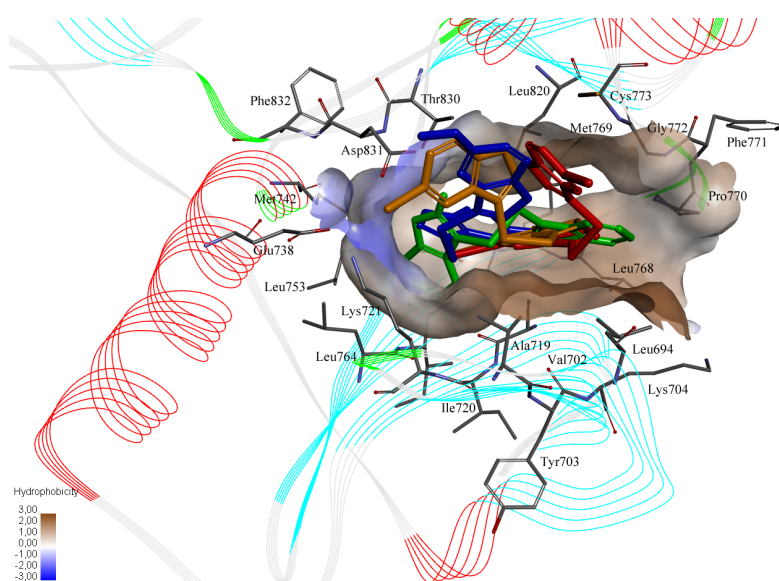
molekularnego odpowiadającego minimum entalpii swobodnej. Z uzyskanych wartości entalpii dla poszczególnych zoptymalizowanych układów wyznaczyłam  $\Delta G_{\text{bind}}$  porównując do wyznaczonej eksperymentalnie wartości  $IC_{50}$ . Na podstawie otrzymanych wartości  $\Delta G_{\text{bind}}$  i  $\log(1/IC_{50})$  dla układów z pochodnymi 2,2'-ditio-*bis*-indoli mogłam zauważyć, iż niewielkie modyfikacje strukturalne miały znaczący wpływ na oba parametry. Uzyskane dane wykorzystałam do określenia modelu będącego aproksymacją zależności:  $\Delta G_{\text{bind}}$  od  $\log(1/IC_{50})$  (Rys. 8). Otrzymany model miał postać  $\log(1/IC_{50}) = -0.0089\Delta G_{\text{bind}} + 5.195$  o współczynniku korelacji równym  $R^2=0.892$ , a zatem wystarczająco wysokim, co dowodzi o zdolności przewidywania modelu, który może być odpowiedni do badań przesiewowych inhibitorów EGFR.



Rys. 8. Liniowa regresja między teoretycznie oszacowaną ( $-\Delta G_{\text{bind}}$ ) a  $\log(1/IC_{50})$  dla pochodnych 2,2'-ditio-*bis*-indoli będących inhibitorami EGFR. (Rys. 3 publikacji **H6**)

W celu sprawdzenia poprawności otrzymanego modelu posłużyłam się pochodnymi 3,3'-ditio-*bis*-indoli do wyznaczenia dla nich przewidywanej wartości  $IC_{50}$  (Tabela 6 publikacji **H6**). Tak otrzymane wyniki pozwoliły mi oszacować, że wysokie powinowactwo do EGFR wykazują pochodne 3,3'-ditio-*bis*-indolu zawierające atom Br lub atom I (związki 3 i 4), a znacznie mniej prawdopodobną siłę działania jako inhibitor EGFR wykazywały dwa związki: 3,3'-ditio-*bis*-indol (związek 1) i 3,3'-ditio-*bis*-di-5-metoksyindol (związek 2). Kolejnym ważnym etapem prowadzonych badań było sprawdzenie zdolności predykcyjnych zastosowanych metod teoretycznych

poprzez porównanie ich z wynikami eksperymentalnymi tj. aktywnością przeciwnowotworową badanych związków. Jak przewidywano na podstawie modelowania molekularnego, aktywność przeciwnowotworowa była również wyższa dla pochodnych 3,3'-ditio-*bis*-indolu zawierających atom Br lub atom I, niż dla pozostałych związków co sugeruje, że EGFR może być ich celem molekularnym. Jednocześnie zbadalam korelację między eksperymentalną wartością aktywności przeciwnowotworowej a teoretyczną wartością  $\Delta G_{\text{bind}}$ , aby zweryfikować, czy sposób działania pochodnych 3,3'-ditio-*bis*-indolu może wpływać na hamowanie kinazy (Rys. 4 publikacji **H6**). Przeprowadzona analiza wykazała, dużą zdolność predykcijną informującą o hamowaniu komórek nowotworowych HL-60 ( $R^2=0.896$ ), z kolei taka zależność nie była dowodem na hamowanie komórek nowotworowych DU-145. Warto zaznaczyć, że w analizie wykorzystałam tylko kilka związków, a na mechanizm ich działania jak już wykazałam mogą wpływać niewielkie różnice strukturalne.



Rys. 9. Przewidywana pozycja potencjalnych inhibitorów w kieszeni wiążącej EGFR po symulacjach MD. (Rys. 5 publikacji **H6**)

Na poziomie molekularnym zaobserwowano, że w związkach 3 i 4 położenie obu ugrupowań indolowych oraz obecność atomu Br lub atomu I w pozycji C-5 w pierścieniach indolowych wpływa pozytywnie na powstawanie oddziaływań hydrofobowych z ważnymi obszarami miejsca aktywnego kinazy,



podobnie jak w kompleksie erlotynib–EGFR. Jednocześnie grupy -N-H pierścieni indolowych są połączone silnymi wiązaniami wodorowymi z kluczowym aminokwasem Met769, a dodatkowo jedno ugrupowanie indolowe związku 3 tworzy silne wiązanie wodorowe z aminokwasem Arg817, podczas gdy związek 4 tworzy wiązanie wodorowe z aminokwasem Cys773. Z drugiej strony przewiduje się, że oba związki będą przyjmowały konformacje lekko wyprostowaną w kierunku wejścia do kieszeni wiążącej EGFR, tworząc hydrofobowe oddziaływania z dwoma aminokwasami Phe699 i Lys721 (związek 3) oraz z aminokwasem Lys721 (związek 4) (Rys. 9).

Na podstawie przeprowadzonych badań, zaproponowaliśmy zoptymalizowaną strukturę wiodącą dla ditio-*bis*-indoli, w której grupy indolowe są podstawione atomami Br lub I w pozycjach C-5 w 3,3'-ditio-*bis*-indolu, co jest niezwykle pożądaną podstawą do prowadzenia dalszych prac w kierunku projektowania nowych inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR, w strukturze których zaproponowany układ odgrywa istotną rolę.

### **Analiza selektywności polimeru molekularnie wdrukowanego pseudo-wzorcem dopaminy - homowratryloamina**

Homowratryloamina (2-(3,4-dimetoksyfenilo)etyloamina (DMPEA)) jest pochodną głównego neuroprzekaźnika dopaminy, w którym grupy hydroksylowe w pozycji 3 i 4 są zastąpione grupami metoksyłowymi. Neuroprzekaźniki odgrywają ogromną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu ludzkiego mózgu. Wszelkie zaburzenia oznaczają choroby np. zaburzenia funkcjonowania układu dopaminergicznego są przyczyną tak poważnych schorzeń jak choroba Parkinsona, schizofrenia czy różne uzależnienia psychiczne.<sup>98</sup> Dlatego tak ważnym jest, by umieć wykrywać takie zaburzenia jak najszybciej np. monitorując stężenie neuroprzekaźnika, co pozwoli wcześniej wykryć ewentualną chorobę. Tymczasem trudność sprawia znalezienie odpowiednio dokładnej i czulej metody oznaczania tych związków ze względu na fakt, że występują one w płynach ustrojowych w bardzo niskich stężeniach. Spośród najważniejszych neuroprzekaźników (np. serotonina, dopamina, acetylocholina, GABA (kwas  $\gamma$ -aminomasłowy), adrenalina, noradrenalina) to dopamina jest substancją nietrwałą, która ulega rozkładowi

w środowisku reakcji polimeryzacji. Z tego powodu poszukuje się metod, które pozwoliłyby na zwiększenie dokładności oznaczeń. Jedną z nich jest zastosowanie materiałów, które w trakcie badań selektywnie adsorbują dopaminę i zwiększają jej stężenie. Do tych materiałów należy zaliczyć nowoczesną klasą materiałów, a mianowicie polimery wdrukowane molekularnie (MIPs ang. *Molecularly Imprinted Polymers*), które należą do inteligentnych materiałów zdolnych do rozpoznawania określonych związków i naśladowania mechanizmu działania naturalnych układów np. receptor-substrat.<sup>99</sup> Obecnie, na podstawie dostępnych doniesień literaturowych wiemy, że MIP zdobył szerokie zainteresowanie szczególnie w nowoczesnych systemach terapeutycznych jako nośniki substancji czynnych.<sup>100</sup>

Wdrukowywanie molekularne to skuteczna metoda otrzymywania syntetycznych materiałów polimerowych, umożliwiających rozpoznanie na poziomie cząsteczkowym. Polimery otrzymane metodą wdrukowywania molekularnego umożliwiają tworzenie trójwymiarowych wnęk, które będą preferencyjnie wiązać określoną cząsteczkę. Przygotowanie MIP-u polega na kopolimeryzacji odpowiednich monomerów funkcyjnych i sieciujących w obecności cząsteczek wzorca w prawidłowo dobranym rozpuszczalniku i/lub cieczy jonowej tzw. porogen, przyczyniając się do powstania porowatej struktury polimeru. W trakcie procesu polimeryzacji powstają uporządkowane struktury - kompleksy pre-polimeryzacyjne, które dalej przekształcane są w wysoce usieciowane polimery. Po usunięciu cząsteczki wzorca, w otrzymanym produkcie powstają trójwymiarowe wnęki, kompatybilne pod względem kształtu i właściwości fizykochemicznych do cząsteczki wzorca. Tak utworzony polimer posiada trwałą „pamięć”, która pozwala na selektywne i wielokrotne adsorbowanie cząsteczki wzorca lub jego analogów strukturalnych.<sup>101, 102</sup>

W Zakładzie Chemii Organicznej od kilku lat prowadzone są badania nad syntezą i określeniem właściwości MIP-u do izolacji związków biogennych z grupy neuroprzekazników, w tym dopaminy i jej metabolitów.<sup>103</sup> W ramach badań wybraliśmy główny analog strukturalny tzw. pseudo-wzorzec dopaminy - DMPEA jako matrycę w syntezie polimeru będącego selektywnym sorbentem

dopaminy. Moim celem w publikacji **H7** było opracowanie procedury obliczeniowej, która pozwoli na stworzenie teoretycznego modelu selektywnych miejsc wiążących w matrycy polimerowej do oceny powinowactwa MIP-ów i selektywności ziół polimerowych używanych w ekstrakcji do fazy stałej. Badania rozpoczęłam od analizy trwałości kompleksów pre-polimeryzacyjnych w zależności od zastosowanego monomeru funkcyjnego, rozpuszczalnika i wzorca. Działanie monomeru sieciującego zostało zaniedbane, aby uniknąć zbyt dużej ilości danych w modelu teoretycznym i biorąc pod uwagę fakt, że przy ocenie właściwości MIP-u, interakcje między matrycą/analitem a monomerami funkcyjnymi mogą być istotne dla rozpoznania molekularnego. Do wygenerowania trójwymiarowych struktur analizowanych związków zastosowałam obliczenia metodą DFT (Tabela 1 publikacji **H7**). W celu określenia właściwości MIP-ów na poziomie molekularnym, stworzyłam cztery modele kompleksów pre-polimeryzacyjnych (CP1 – CP4) (Rys. 1 publikacji **H7**). Modele utworzyłam, otaczając cząsteczkę wzorca czterema cząsteczkami monomeru funkcyjnego, uwzględniając stosunek molowy reagentów stosowanych podczas polimeryzacji, a następnie dokonałam optymalizacji energii układów. Otrzymane wartości energii tworzenia kompleksu ( $\Delta E_c$ ) dla czterech modeli kompleksów pre-polimeryzacyjnych zweryfikowałam z wartościami współczynnika wychwytu (IF ang. *imprinting factor*) otrzymanymi eksperymentalnie (Tabela 3 publikacji **H7**). Analizując uzyskane wyniki mogłam wnioskować, że im wyższa wartość bezwzględna energii ( $\Delta E_c$ ) tym układ był stabilniejszy, a wiązania wodorowe powstające pomiędzy monomerem funkcyjnym a wzorcem odgrywają główną rolę w stabilizacji kompleksu. Następnym etapem było opracowanie modelu wnęki polimeru, używając modelu najbardziej stabilnej struktury kompleksu pre-polimeryzacyjnego (DMPEA - kwas metakrylowy (CP1)). Wiązania podwójne występujące w cząsteczce kwasu metakrylowego zastąpiłam wiązaniami pojedynczymi. Proces ten miał naśladować powstawanie pojedynczych wiązań podczas reakcji polimeryzacji. Tak przygotowany układ poddałam ponownej symulacji na poziomie MM, a następnie po usunięciu cząsteczki wzorca, uzyskałam przestrzeń stanowiącą model wnęki adsorpcyjnej (MIP1).

Otrzymany MIP1 wykorzystałam do symulacji procesu adsorpcji i analizy selektywności otrzymanego materiału. Wybrane anality (Tabela 2 publikacji **H7**) umieściłam wewnątrz wnęki, zastępując cząsteczkę wzorca i poddałam optymalizacji wyznaczając energię wiązania wnęki – analit ( $\Delta E_B$ ). Analizując otrzymane wyniki mogłam zauważyć, że najwyższą wartość  $\Delta E_B$  uzyskałam dla wzorca, podczas gdy w pozostałych przypadkach otrzymane wartości  $\Delta E_B$  były znacznie niższe. Co ciekawe, kwasowe związki biogenne oddziaływały z MIP1 bardzo słabo i generalnie nie wykazywały powinowactwa do matrycy polimerowej. Przeprowadzając analizę interakcji poszczególnych analitów z miejscem wiążącym polimeru mogłam wykazać, że wynikało to z różnic występujących w strukturze badanych związków, które wpływają na rozkład potencjału elektrostatycznego wokół cząsteczek (Rys. 3 i 4 publikacji **H7**). Ocena interakcji poszczególnych analitów z wnęką molekularną polimeru pozwoliła na dokładne przewidywanie selektywności polimeru, potwierdzoną wynikami eksperymentalnymi - wartościami zdolności wiązania (B ang. *binding capacity*) i współczynnika selektywności ( $\alpha$  ang. *selectivity factor*) (Tabela 4 publikacji **H7**). Na podstawie uzyskanej zgodności pomiędzy rezultatami analizy teoretycznej i eksperymentalnej wykazałam, że opracowany uproszczony model miejsca wiążącego polimeru może wstępnie posłużyć do projektowania i oceny właściwości związanych z rozpoznawaniem i wychwytem związków przez wdrukowane materiały polimerowe.

Zdobyty warsztat badawczy pozwolił mi na dalsze rozwijanie opracowanej metodologii i zaproponowanie nowych rozwiązań. W ramach projektu NCN nr 2015/19/B/ST4/03743 we współpracy z Instytutem Chemii Fizycznej PAN, prowadzę analizę warstw polimerowych otrzymanych w procesie elektropolimeryzacji, które są elementem rozpoznawczym chemosensorów, uwzględniając w większym stopniu złożoność układu rzeczywistego. Dotychczas otrzymane wyniki z tej tematyki zaowocowały otrzymaniem specjalnej nagrody ERiNET Innovatorenpreis 2018 za wynalazek na Targach iENA'2018 – „Ideas – Inventions – New Products” w Norymberdze oraz stały się przedmiotem zgłoszenia patentowego oznaczonym nr P.432365, jak również opublikowaniem części wyników w 2020 roku na łamach czasopisma *Biosensors and Bioelectronics* (IF<sub>2019</sub> = 10.257) (**B6**).

#### 4.4. Podsumowanie

Efektom prowadzonych badań, stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego było opracowanie metod przy projektowaniu i ocenie różnych klas związków z celami biologicznymi, które wykazują duże znaczenie w terapii chorób wywołanych różnymi czynnikami chorobotwórczymi. Przeprowadzone symulacje komputerowe wraz z pomiarami eksperymentalnymi oraz wynikami uzyskanymi podczas realizacji badań opisanych w cyklu siedmiu prac, pozwoliły wskazać szereg najważniejszych osiągnięć naukowych będących przedmiotem habilitacji, do których należą:

1. Utworzenie nowego modelu matematycznego pozwalającego oszacować aktywność biologiczną przeciw *Pneumocystis carinii*, poprzez wiązanie z DNA patogenu w obszarze kasety TATA w grupie pochodnych pentamidyny, osiągając zadawalającą zgodność struktura chemiczna - aktywność biologiczna przy zoptymalizowaniu metodologii dla tych układów, co pozwala na zidentyfikowanie fragmentów strukturalnych pożądaných z punktu widzenia działania biologicznego.
2. Zaproponowanie metodyki analizy molekularnego mechanizmu kardiotoxyczności pochodnych pentamidyny związanej z blokadą kanału potasowego hERG, która pozwala na wczesne wyselekcjonowanie struktur związków nie wpływających na aktywność kanału potasowego hERG.
3. Wyznaczenie dotychczas nieokreślonych właściwości farmakokinetycznych dla doustnie podawanych do organizmu ludzkiego pochodnych 7-hydroksykumaryny z wykorzystaniem modeli teoretycznych wraz z przeprowadzonym skринingiem profilu ADMET testowanej bazy związków. Dodatkowo wykonując symulację na poziomie MD określenie struktur związków o najniższych przejawach kardiotoxyczności.
4. Zaproponowanie i empiryczna weryfikacja metodologii oceny stopnia interakcji hydroksykumaryn z HSA na podstawie modelowej struktury

białka, która skutecznie różnicuje związki w zależności od siły działania biologicznego.

5. Wyznaczenie niezdefiniowanych do tej pory parametrów opisujących zdolność pochodnych 5- i 7-O-arylopiperazynylokumaryny do penetracji BBB w organizmie ludzkim. Określenie struktur o największej zdolności przenikania do OUN i zaproponowanie przemian metabolicznych pochodnych 7-O-arylopiperazynylokumaryny.
6. Opracowanie metodologii do stworzenia wstępnego modelu matematycznego pozwalającego na oszacowanie powinowactwa pochodnych 3,3'-ditio-*bis*-indoli do receptora EGFR oraz zaproponowanie struktury wiodącej, którą można będzie wykorzystać w przyszłych pracach nad optymalizacją struktur inhibitorów EGFR z grupy ditio-*bis*-indoli wykazujących właściwości przeciwnowotworowe.
7. Zaproponowanie nowego podejścia metodycznego do skonstruowania modelu kompleksu pre-polimeryzacyjnego oraz modelu polimeru wdrukowanego przez homoweratryloaminę, który efektywnie przewiduje powinowactwo i selektywność analitów do matrycy polimerowej.

#### 4.5. Bibliografia

1. Weisman, J. L.; Liou, A. P.; Shelat, A. A.; Cohen, F. E.; Guy, R. K.; DeRisi, J. L.. *Chem Biol Drug Des* **2006**, 67, 409-16.
2. Cragg, G. M.; Newman, D. J.; Snader, K. M.. *J Nat Prod* **1997**, 60, 52-60.
3. Khosla, C.; Keasling, J. D. *Nat Rev Drug Discov* **2003**, 2, 1019-25.
4. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. E. *Adv Drug Deliv Rev* **2001**, 46, 3-26.
5. Di, L.; Kerns, E. H.; Carter, G. T. *Curr Pharm Des* **2009**, 15, 2184-94.
6. Lesyng, B.; McCammon, J. A. *Pharmacol Ther* **1993**, 60, 149-67.
7. Katsila, T.; Spyroulias, G. A.; Patrinos, G. P.; Matsoukas, M. T. *Comput Struct Biotechnol J* **2016**, 14, 177-84.
8. Sliwoski, G.; Kothiwale, S.; Meiler, J.; Lowe, E. W., Jr. *Pharmacol Rev* **2014**, 66, 334-95.
9. Kawczak, P.; Bober, L.; Baczek, T. *Med Chem Res* **2015**, 24, 372-382.
10. Baskin, II; Palyulin, V. A.; Zefirov, N. S. *Methods Mol Biol* **2008**, 458, 137-58.
11. Baczek, T.; Kaliszan, R.; Novotna, K.; Jandera, P. *J Chromatogr A* **2005**, 1075, 109-15.
12. Hutter, M. C. *Curr Med Chem* **2009**, 16, 189-202.
13. van de Waterbeemd, H.; Gifford, E. *Nat Rev Drug Discov* **2003**, 2, 192-204.
14. Talele, T. T.; Khedkar, S. A.; Rigby, A. C. *Curr Top Med Chem* **2010**, 10, 127-41.
15. Van Drie, J. H. *J Comput Aided Mol Des* **2007**, 21, 591-601.
16. Patrick, D. A.; Hall, J. E.; Bender, B. C.; McCurdy, D. R.; Wilson, W. D.; Tanious, F. A.; Saha, S.; Tidwell, R. R. *Eur J Med Chem* **1999**, 34, 575-83.
17. Tao, B.; Huang, T. L.; Zhang, Q.; Jackson, L.; Queener, S. F.; Donkor, I. O. *Eur J Med Chem* **1999**, 34, 531-538.
18. Boykin, D. W.; Kumar, A.; Spychala, J.; Zhou, M.; Lombardy, R. J.; Wilson, W. D.; Dykstra, C. C.; Jones, S. K.; Hall, J. E.; Tidwell, R. R.; et al. *J Med Chem* **1995**, 38, 912-6.
19. Patrick, D. A.; Boykin, D. W.; Wilson, W. D.; Tanious, F. A.; Spychala, J.; Bender, B. C.; Hall, J. E.; Dykstra, C. C.; Ohemeng, K. A.; Tidwell, R. R. *Eur J Med Chem* **1997**, 32, 781-793.
20. Hopkins, K. T.; Wilson, W. D.; Bender, B. C.; McCurdy, D. R.; Hall, J. E.; Tidwell, R. R.; Kumar, A.; Bajic, M.; Boykin, D. W. *J Med Chem* **1998**, 41, 3872-8.
21. Yang, Y. F.; Zhang, L.; Yang, X. W. *Molecules* **2018**, 23.
22. Feng, L.; Wang, L.; Jiang, X. H. *Arch Pharm Res* **2010**, 33, 225-230.
23. Kuryshev, Y. A.; Ficker, E.; Wang, L.; Hawryluk, P.; Dennis, A. T.; Wible, B. A.; Brown, A. M.; Kang, J.; Chen, X. L.; Sawamura, K.; Reynolds, W.; Rampe, D. *J Pharmacol Exp Ther* **2005**, 312, 316-23.
24. Cordes, J. S.; Sun, Z.; Lloyd, D. B.; Bradley, J. A.; Opsahl, A. C.; Tengowski, M. W.; Chen, X.; Zhou, J. P. *Br J Pharmacol* **2005**, 145, 15-23.
25. Porollo, A.; Meller, J.; Joshi, Y.; Jaiswal, V.; Smulian, A. G.; Cushion, M. T. *Curr Drug Targets* **2012**, 13, 1575-85.
26. Akhtar, M. J.; Siddiqui, A. A.; Khan, A. A.; Ali, Z.; Dewangan, R. P.; Pasha, S.; Yar, M. S. *Eur J Med Chem* **2017**, 126, 853-869.
27. Tom, L. A.; Foster, N. *Anal Chim Acta* **2010**, 680, 79-85.
28. Yao, J.; Li, X.; Qin, W. *Anal Chim Acta* **2008**, 610, 282-8.
29. Atta, N. F.; Hamed, M. M.; Abdel-Mageed, A. M. *Anal Chim Acta* **2010**, 667, 63-70.
30. Alsford, S.; Kelly, J. M.; Baker, N.; Horn, D. *Parasitology* **2013**, 140, 1478-91.
31. Bray, P. G.; Barrett, M. P.; Ward, S. A.; de Koning, H. P. *Trends Parasitol* **2003**, 19, 232-9.
32. Bruni, N.; Stella, B.; Giraud, L.; Della Pepa, C.; Gastaldi, D.; Dosio, F. *Int J Nanomedicine* **2017**, 12, 5289-5311.

33. Clark, A.; Hemmelgarn, T.; Danziger-Isakov, L.; Teusink, A. *Pediatr Transplant* **2015**, 19, 326-31.
34. Liu, L.; Wang, F.; Tong, Y.; Li, L. F.; Liu, Y.; Gao, W. Q. *Cell Prolif* **2020**, 53, e12718.
35. Wilson, W. D.; Tanious, F. A.; Mathis, A.; Tevis, D.; Hall, J. E.; Boykin, D. W. *Biochimie* **2008**, 90, 999-1014.
36. Nunn, C. M.; Jenkins, T. C.; Neidle, S. *Biochemistry* **1993**, 32, 13838-43.
37. Conte, J. E., Jr.; Chernoff, D.; Feigal, D. W., Jr.; Joseph, P.; McDonald, C.; Golden, J. A. *Ann Intern Med* **1990**, 113, 203-9.
38. O'Brien, J. G.; Dong, B. J.; Coleman, R. L.; Gee, L.; Balano, K. B. *Clin Infect Dis* **1997**, 24, 854-9.
39. Berger, B. J.; Naiman, N. A.; Hall, J. E.; Peggins, J.; Brewer, T. G.; Tidwell, R. R. *Antimicrob Agents Chemother* **1992**, 36, 1825-31.
40. Tidwell, R. R.; Jones, S. K.; Geratz, J. D.; Ohemeng, K. A.; Cory, M.; Hall, J. E. *J Med Chem* **1990**, 33, 1252-7.
41. Donkor, I. O.; Jones, S. K.; Tidwell, R. R. *Bioorg Med Chem Lett* **1993**, 3, 1137-1140.
42. Porcheddu, A.; Giacomelli, G.; De Luca, L. *Curr Med Chem* **2012**, 19, 5819-36.
43. Jorgensen, W. L.; Chandrasekhar, J.; Madura, J. D. *J Chem Phys* **1983**, 79, 926.
44. Ball, P. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2017**, 114, 13327-13335.
45. Maciejewska, D.; Zabinski, J.; Kazmierczak, P.; Rezler, M.; Krassowska-Swiebocka, B.; Collins, M. S.; Cushion, M. T. *Eur J Med Chem* **2012**, 48, 164-73.
46. Kroll, C. R.; Gettes, L. S. *J Cardiovasc Electrophysiol* **2002**, 13, 936-8.
47. Dennis, A. T.; Wang, L.; Wan, H.; Nassal, D.; Deschenes, I.; Ficker, E. *Mol Pharmacol* **2012**, 81, 198-209.
48. Varkevisser, R.; Houtman, M. J.; Linder, T.; de Git, K. C.; Beekman, H. D.; Tidwell, R. R.; Ijzerman, A. P.; Stary-Weinzinger, A.; Vos, M. A.; van der Heyden, M. A. *Br J Pharmacol* **2013**, 169, 1322-34.
49. Brown, A. M. *Novartis Found Symp* **2005**, 266, 118-31; discussion 131-5, 155-8.
50. Sanguinetti, M. C.; Mitcheson, J. S. *Trends Pharmacol Sci* **2005**, 26, 119-24.
51. Hondeghem, L. M.; Carlsson, L.; Duker, G. *Circulation* **2001**, 103, 2004-13.
52. Mirams, G. R.; Cui, Y.; Sher, A.; Fink, M.; Cooper, J.; Heath, B. M.; McMahon, N. C.; Gavaghan, D. J.; Noble, D. *Card Res* **2011**, 91, 53-61.
53. Durdagi, S.; Deshpande, S.; Duff, H. J.; Noskov, S. Y. *J Chem Inf Model* **2012**, 52, 2760-74.
54. Egan, D.; O'Kennedy, R.; Moran, E.; Cox, D.; Prosser, E.; Thornes, R. D. *Drug Metab Rev* **1990**, 22, 503-29.
55. Finn, G. J.; Kenealy, E.; Creaven, B. S.; Egan, D. A. *Cancer Lett* **2002**, 183, 61-8.
56. Lake, B. G. *Food Chem Toxicol* **1999**, 37, 423-53.
57. Abd Elhafez, O. M.; El Khrisy Eel, D.; Badria, F.; Fathy Ael, D. *Arch Pharm Res* **2003**, 26, 686-96.
58. Doss, S. H.; Wardakhan, W. W.; Louca, N. A. *Arch Pharm Res* **2001**, 24, 377-84.
59. Peng, X. M.; Damu, G. L.; Zhou, C. *Curr Pharm Des* **2013**, 19, 3884-930.
60. Trykowska, J.; Hejchman, E.; Wolska, I.; Maciejewska, D. *J Mol Struct* **2009**, 930, 195-200.
61. Hejchman, E.; Trykowska Konc, J.; Maciejewska, D.; Kruszewska, H. *Synth Gomm* **2011**, 41, 2392-2402.
62. Trykowska Konc, J.; Hejchman, E.; Kruszewska, H.; Wolska, I.; Maciejewska, D. *Eur J Med Chem* **2011**, 46, 2252-63.
63. Trykowska Konc, J.; Hejchman, E.; Maciejewska, D.; Wolska, I. S. *J Mol Struct* **2011**, 998, 42-48.
64. Bailey, D. N.; Briggs, J. R. *Ther Drug Monit* **2004**, 26, 40-3.



65. Bertucci, C.; Domenici, E. *Curr Med Chem* **2002**, 9, 1463-81.
66. Flarakos, J.; Morand, K. L.; Vouros, P. *Anal Chem* **2005**, 77, 1345-53.
67. Zhang, F.; Xue, J.; Shao, J.; Jia, L. *Drug Discov Today* **2012**, 17, 475-85.
68. Ostrowska, K.; Grzeszczuk, D.; Gluch-Lutwin, M.; Grybos, A.; Siwek, A.; Dobrzycki, L.; Trzaskowski, B. *Medchemcomm* **2017**, 8, 1690-1696.
69. Wils, P.; Warnery, A.; Phung-Ba, V.; Legrain, S.; Scherman, D. *J Pharmacol Exp Ther* **1994**, 269, 654-8.
70. Laznicek, M.; Laznickova, A. *J Pharm Biomed Anal* **1995**, 13, 823-8.
71. Nicholson, J. P.; Wolmarans, M. R.; Park, G. R. *Br J Anaesth* **2000**, 85, 599-610.
72. Il'ichev, Y. V.; Perry, J. L.; Ruker, F.; Dockal, M.; Simon, J. D. *Chem Biol Interact* **2002**, 141, 275-93.
73. Petitpas, I.; Grune, T.; Bhattacharya, A. A.; Curry, S. *J Mol Biol* **2001**, 314, 955-60.
74. Morgan, P.; Van der Graaf, P. H.; Arrowsmith, J.; Feltner, D. E.; Drummond, K. S.; Wegner, C. D.; Street, S. D. A. *Drug Discovery Today* **2012**, 17, 419-424.
75. Ostrowska, K.; Młodzikowska, K.; Gluch-Lutwin, M.; Grybos, A.; Siwek, A. *Eur J Med Chem* **2017**, 137, 108-116.
76. Raub, T. J.; Lutzke, P. K.; Andrus, P. K.; Sawada, G. A.; Staton, B. A. *Biotechnology: Pharmaceutical Aspects* **2006**, 4, 355-410.
77. Anderton, M. J.; Jukes, R.; Lamb, J. H.; Manson, M. M.; Gescher, A.; Steward, W. P.; Williams, M. L. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **2003**, 787, 281-91.
78. Pindur, U.; Kim, Y. S.; Mehrabani, F. *Curr Med Chem* **1999**, 6, 29-69.
79. Fernandez, L. S.; Buchanan, M. S.; Carroll, A. R.; Feng, Y. J.; Quinn, R. J.; Avery, V. M. Flinderoles A-C: *Organic Letters* **2009**, 11, 329-332.
80. Higdon, J. V.; Delage, B.; Williams, D. E.; Dashwood, R. H. *Pharmacol Res* **2007**, 55, 224-36.
81. Rogan, E. G. *In Vivo* **2006**, 20, 221-8.
82. Kim, Y. S.; Milner, J. A. *J Nutr Biochem* **2005**, 16, 65-73.
83. Biersack, B.; Schobert, R. I. *Curr Drug Targets* **2012**, 13, 1705-19.
84. Howells, L. M.; Moiseeva, E. P.; Neal, C. P.; Foreman, B. E.; Andreadi, C. K.; Sun, Y. Y.; Hudson, E. A.; Manson, M. M. *Acta Pharmacol Sin* **2007**, 28, 1274-304.
85. Zeligs, M. A. *Bioresponse, L. C. C., Boulder, CO (US)* **2011**, US 8,080,577 B2.
86. Palmer, B. D.; Rewcastle, G. W.; Thompson, A. M.; Boyd, M.; Showalter, H. D.; Sercel, A. D.; Fry, D. W.; Kraker, A. J.; Denny, W. A. *J Med Chem* **1995**, 38, 58-67.
87. Rewcastle, G. W.; Palmer, B. D.; Dobrusin, E. M.; Fry, D. W.; Kraker, A. J.; Denny, W. A. *J Med Chem* **1994**, 37, 2033-42.
88. Thompson, A. M.; Rewcastle, G. W.; Tercel, M.; Dobrusin, E. M.; Fry, D. W.; Kraker, A. J.; Denny, W. A. *J Med Chem* **1993**, 36, 2459-69.
89. Burgess, A. W. *Growth Factors* **2008**, 26, 263-74.
90. Antonello, A.; Tarozzi, A.; Morroni, F.; Cavalli, A.; Rosini, M.; Hrelia, P.; Bolognesi, M. L.; Melchiorre, C. *J Med Chem* **2006**, 49, 6642-5.
91. Elsayed, M. S.; El-Araby, M. E.; Serya, R. A.; El-Khatib, A. H.; Linscheid, M. W.; Abouzid, K. A. *Eur J Med Chem* **2013**, 61, 122-31.
92. Holbro, T.; Civenni, G.; Hynes, N. E. *Exp Cell Res* **2003**, 284, 99-110.
93. Liu, Y.; Gray, N. S. *Nat Chem Biol* **2006**, 2, 358-64.
94. Li, R. D.; Zhang, X.; Li, Q. Y.; Ge, Z. M.; Li, R. T. *Bioorg Med Chem Lett* **2011**, 21, 3637-40.
95. Smaill, J. B.; Rewcastle, G. W.; Loo, J. A.; Greis, K. D.; Chan, O. H.; Reyner, E. L.; Lipka, E.; Showalter, H. D.; Vincent, P. W.; Elliott, W. L.; Denny, W. A. *J Med Chem* **2000**, 43, 1380-97.
96. Niemyjska, M.; Maciejewska, D.; Wolska, I.; Soczewka, J. *J Mol Struct* **2008**, 891, 463-470.

97. Maciejewska, D.; Niemyjska, M.; Wolska, I.; Mlynarczuk-Biały, I.; Kedziora, A. *J Mol Struct* **2015**, 1100, 129-136.
98. Vallone, D.; Picetti, R.; Borrelli, E.. *Neurosci Biobehav Rev* **2000**, 24, 125-32.
99. Piletsky, S. A.; Turner, N. W.; Laitenberger, P. *Med Eng Phys* **2006**, 28, 971-7.
100. Sung, Y. K.; Kim, S. W. *Biomater Res* **2020**, 24, 12.
101. Hongyuan, Y.; Kyung, H. R. *Int J Mol Sci* **2006**, 7, 155-178.
102. Wu, L.; Li, Y. *J Mol Recognit* **2004**, 17, 567-574.
103. Lulinski, P.; Maciejewska, D.; Bamburowicz-Klimkowska, M.; Szutowski, M. *Molecules* **2007**, 12, 2434-49.

Teresa Żolek

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Moja aktywność naukowo-badawcza obejmuje okres, w którym zastałam zatrudniona na stanowisku asystenta (1999 - 2003) w Zakładzie Chemii Fizycznej, wykładowcy (2003 - 2008), a następnie adiunkta (2008 - do chwili obecnej) w Zakładzie Chemii Organicznej Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Niemniej jednak swoją trwającą do dziś przygodę z nauką w tematyce związanej z modelowaniem molekularnym rozpoczęłam będąc jeszcze na studiach magisterskich na Uniwersytecie Warszawskim w Zespole naukowym prof. dr hab. Bogdana Lesynga z Interdyscyplinarnego Centrum Modelowania Matematycznego i Komputerowego Uniwersytetu Warszawskiego.

Osiągnięcia naukowo-badawcze i aktywność publikacyjną nie związaną z tematyką prac stanowiących podstawę habilitacji przedstawiam dzieląc czas mojej działalności na dwa etapy: przed i po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych. Listę publikacji, która dotyczy tej części działalności naukowej jest przedstawiona jako **A1 – A9** oraz **B1 – B7** zamieszczona w podrozdziale 5.3.

### 5.1. Badania naukowe realizowane przed uzyskaniem stopnia doktora

Tematyka mojej pracy magisterskiej wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Bogdana Lesynga, dotyczyła badań oddziaływań - jednych z najbardziej efektywnych leków przeciwnowotworowych - antracyklin podwójnie interkalujących z DNA przy zastosowaniu metod modelowania molekularnego. Na podkreślenie zasługuje fakt, że podjęta przeze mnie tematyka badawcza we współpracy z prof. dr hab. Waldemarem Priebe z University of Texas, USA, należała do jednych z pierwszych prowadzonych w Polsce. Rezultaty badań uzyskane w trakcie jej realizacji zostały opublikowane w 2000 roku w formie pełnotekstowego artykułu naukowego z listy JCR, którego jestem współautorką [**A1**] oraz były prezentowane na konferencji międzynarodowej.

W czerwcu 1999 roku uzyskałam tytuł magistra fizyki, specjalizacja biofizyka i zostałam zatrudniona na stanowisku asystenta w Zakładzie Chemii Fizycznej Wydziału Farmaceutycznego WUM. W tym okresie moje zainteresowania naukowe na początku skupiały się wokół pochodnych

kumaryny i flawonoidów. Stosując połączone podejście metod spektroskopii NMR w cieple stałym i obliczeń kwantowo-mechanicznych badałam konformacje wybranych kumaryn i furanokumaryn. Jednocześnie prowadziłam badania nad poznaniem mechanizmu oddziaływania wolnych rodników na dwuniciowy DNA w regionie bogatym w pary zasad: guanina i cytozyna, stosując metody modelowania molekularnego (metoda DFT i MM). Większość przeprowadzonych wówczas badań była finansowana w ramach grantu 03-FW-28/NS-3/2003 (kierownik grantu), a rezultaty badań zostały opublikowane w formie pełnotekstowych artykułów naukowych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym i krajowym [**A2**, **praca poglądowa**], co więcej były prezentowane w formie komunikatu ustnego i posterów na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych. W kolejnych badaniach strukturalnych skupiłam się na nowych estrowych i glikozydowych pochodnych witaminy E o zwiększonej amfifilowości (glikokoniugaty  $\alpha$ - tokoferolu) w ramach współpracy z dr hab. Stanisławem Witkowskim z Wydziału Chemii UwB. Rezultaty badań zostały opublikowane w dwóch publikacjach oryginalnych [**A5**, **A6**] oraz prezentowane na konferencjach krajowych. W tym czasie uczestniczyłam również w pracach badawczych związanych z poszukiwaniem konformacji znanych antybiotyków (chloramfenikolu i tiamfenikolu) i dwóch nowych analogów pirolowych oraz z analizą widm roztworów węglanów alkilowych w  $\text{LiAsF}_6$  wykorzystując metody kwantowo-mechaniczne i spektroskopii NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^7\text{Li}$ ,  $^{13}\text{C}$  i  $^{19}\text{F}$  NMR). Badania prowadzone były w ramach współpracy z Zakładem Chemii Organicznej AM w Białymstoku i Wydziałem Chemii UwB, a efektem tej współpracy były publikacje [**A3**, **A7**].

Moje kolejne badania skupiały się na tematyce realizowanej przy współpracy naukowej z prof. dr hab. Dorotą Maciejewską, która umożliwiła mi dalsze rozwijanie pasji naukowej poprzez przyjęcie mnie do swojej grupy badawczej, a ich realizacja miała zaowocować uzyskaniem doktora nauk farmaceutycznych. W ramach pracy doktorskiej przedstawiłam dwa podejścia do projektowania substancji leczniczych dla dwóch grup związków. Pierwszy dotyczył analizy oddziaływań elektrostatycznych i uwarunkowań sterycznych 1-alkilo-4-arylopiperazyn z receptorami serotoninowymi subpopulacji 1A i 2A

oraz receptorem  $\alpha_1$ -adrenergicznym, natomiast drugi wiązał się z poszukiwaniem modelu teoretycznego umożliwiającego oszacowanie struktur silniej wiążących się z DNA niż macierzysta pentamidyna. W ramach pierwszych badań opracowałam dwa modele CoMFA (model CoMFA dla receptora 5-HT<sub>1A</sub> ( $r^2=0.654$ ) i dla receptora  $\alpha_1$ -adrenergicznego ( $r^2=0.652$ )), które posłużyły do projektowania nowych pochodnych 1-alkilo-4-arylopiiperazyn. Badania były prowadzone przy współpracy z prof. dr hab. Franciszkiem Heroldem z Katedry i Zakładu Technologii Środków Leczniczych Wydziału Farmaceutycznego WUM, gdzie była prowadzona synteza analizowanych związków. Badania były finansowane w ramach grantu 03-FW-28/W-2/2002 (wykonawca), a rezultaty badań zostały opublikowane w formie pełnotekstowego artykułu naukowego w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym [A4], oprócz tego były prezentowane w formie posteru na międzynarodowych konferencjach, gdzie na jednej z nich została przyznana Pierwsza Nagroda za najlepszy plakat. W 2003 roku zostałam zatrudniona na stanowisku wykładowcy w Zakładzie Chemii Organicznej Wydziału Farmaceutycznego WUM, gdzie prowadziłam badania nad drugą częścią mojej rozprawy doktorskiej. Przebrałam oddziaływania szeregu *bis*-amidyn z dwoma dimerycznymi dodekanukleotydami, różniących się kolejnością nukleotydów w obszarze kasety TATA (o strukturze 5'-d(CGCGAATTCGCG)<sub>2</sub>-3' oraz 5'-d(CGCGATATCGCG)<sub>2</sub>-3') oraz opracowałam nową procedurę eksperymentalnej analizy temperatury mięknienia DNA opartą na pomiarach absorbancji promieniowania UV o długości fali 260 nm. Na podstawie otrzymanych danych opracowałam nowe modele teoretyczne, pozwalające oszacować powinowactwo analogów pentamidyny do DNA poprzez porównanie obliczonych energii oddziaływania ligand-DNA i doświadczalnych wartości temperatury mięknienia DNA. Badania były finansowane w ramach grantu 03-FW-24/W-B/2004 (kierownik grantu), a rezultaty badań zostały opublikowane w formie pełnotekstowego artykułu naukowego [A8], a także były prezentowane w formie posterów na międzynarodowych i krajowych konferencjach. Pracę doktorską obroniłam w lipcu 2008 roku pod kierunkiem prof. dr hab. Doroty Maciejewskiej.

Moje osiągnięcia naukowe zostały trzykrotnie, w 2004, 2006 i 2007 roku, nagrodzone nagrodą Rektora Akademii Medycznej w Warszawie/Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

## **5.2. Badania naukowe realizowane po uzyskaniu stopnia doktora**

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych, moja działalność naukowa związana była głównie z badaniami prowadzonymi w ramach prac badawczych w macierzystym Zakładzie. Moje zainteresowania stopniowo zaczęły ewaluować w kierunku aplikowania szerszego zakresu metod teoretycznych w badaniach nad nowymi związkami bioaktywnymi.

Początkowo sfinalizowałam badania prowadzone w ramach pracy doktorskiej, wprowadzając kolejne próby w optymalizacji metodologii by uzyskać modele teoretyczne o lepszej przewidywalności w grupie związków należących do *bis*-amidyn oraz przeprowadzając dodatkowe pomiary eksperymentalne w celu sprawdzenia wybranych punktów pomiarowych. Otrzymane rezultaty zostały opublikowane w formie pełnotekstowego artykułu naukowego w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym [B1] oraz były prezentowane w formie komunikatu ustnego i posterów na zjazdach konferencyjnych. Rozwijając tematykę doktoratu, prowadziłam nowe badania nad poszukiwaniem modelu matematycznego, który pozwoliłby oszacować aktywność biologiczną przeciw *Pneumocystis carinii*, a nie tylko mechanizm działania poprzez wiązanie z DNA patogenu w grupie pochodnych pentamidyny. Badania były prowadzone przy współpracy z Zespołem badawczym prof. dr hab. Doroty Maciejewskiej w macierzystym Zakładzie, gdzie była prowadzona synteza analizowanych związków. Wyniki tych badań przedstawiłam w cyklu publikacji stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego [H1] oraz były prezentowane w formie posterów na międzynarodowych i krajowych konferencjach. Równolegle rozpoczęłam badania w nowej tematyce badawczej, która dotyczyła tworzenia modeli selektywnych miejsc wiążących w matrycy polimerowej. Badania były prowadzone przy współpracy z dr hab. Piotrem Lulińskim w macierzystym Zakładzie, który prowadził syntezy polimerów wdrukowanych molekularnie. Pierwszym obiektem badań był analog dopaminy – homoweratryloamina, dla

którego wyniki zostały przedstawione w cyklu publikacji stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego [H7]. Kolejne badania zmierzały do utworzenia modeli teoretycznych, które pozwoliły na przeanalizowanie powinowactwa wdrukowanego polimeru do określonych metabolitów worykonazolu oraz amin biogennych – tyraminy i (R,S)-2-amino-1-fenyletanolu jako adsorbenta (R,S)-oktopaminy. Efektem prowadzonych badań był cykl trzech publikacji [B2, B4 i B5] o zasięgu międzynarodowym oraz prezentacja w formie ustnej i posterowej na międzynarodowych i krajowych konferencjach. Dodatkowo wspomniane badania w zakresie wymienionych publikacji [B2, B4 i B5], były podstawą rozprawy doktorskiej dr n. farm. Moniki Sobiech pt: *Teoretyczna i eksperymentalna analiza rozpoznania molekularnego w układach imprintowanych polimerów* opublikowana w 2016 roku przez Warszawski Uniwersytet Medyczny, w której pełniłam funkcję promotora pomocniczego. Jednocześnie prowadziłam badania poświęcone aspektom strukturalnym, gdzie dokonana została szczegółowa identyfikacja oddziaływań międzycząsteczkowych występujących w sieciach krystalicznych dla nowych analogów pentamidyny zawierających ugrupowanie 1,4-dibenzylpiperazyny z obecnością grup nitrylowych lub amidynowych. Badania były prowadzone przy współpracy z dr Ireną Wolską z Zakładu Krystalografii, Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, gdzie były prowadzone pomiary dyfrakcji rentgenowskiej analizowanych związków. Efekty badań zostały opublikowane w formie pełnotekstowego artykułu naukowego w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym [B3].

Dalsza moja aktywność naukowa związana była z badaniami właściwości fizykochemicznych i farmakokinetycznych, nowych pochodnych kumaryny z ugrupowaniami o zróżnicowanej strukturze i aktywności biologicznej. Przedmiotem pierwszych badań w tym zakresie była seria pochodnych 7-hydroksykumaryny, dla której wyznaczyłam nieznany do tej pory profil farmakokinetyczny oraz przeprowadziłam dla nich wnikliwą analizę efektu kardiotoxyczności. Efekty tych badań przedstawiłam w cyklu publikacji stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego [H3] oraz prezentowałam w formie komunikatu ustnego na konferencji krajowej.

W ramach dalszego rozwoju tej tematyki w grupie pochodnych kumaryny nawiązałam współpracę z dr hab. Kingą Ostrowską z macierzystego Zakładu, która zajmowała się syntezą pochodnych 5- i 7-O-arylopiperazynylokumaryny. Moim celem było opracowanie metodologii do oceny stopnia oddziaływania hydroksykumaryn z HSA na bazie modelowej struktury białka. W zakresie prowadzonych badań nawiązałam dodatkową współpracę z Zespołem badawczym dr hab. Éva A. Enyedy z University of Szeged, Hungary, która dotyczyła przeprowadzenia badań eksperymentalnych interakcji z białkiem HSA badanych związków. Rezultaty badań weszły w skład prac będących podstawą postępowania habilitacyjnego [**H4** i **H5**] oraz przedstawione w formie ustnego komunikatu na konferencji krajowej. W następnej kolejności moja uwaga skupiła się na badaniu oddziaływań nowych pochodnych pentamidyny z kanałem potasowym hERG, których synteza została przeprowadzona przez dr Pawła Kaźmierczaka w macierzystym Zakładzie. W ramach prowadzonych badań nad opracowaniem metodologii do analizy molekularnego mechanizmu kardiotoxyczności pochodnych pentamidyny związanej z blokadą kanału potasowego hERG, podjęta została przeze mnie współpraca z Zespołem badawczym prof. dr hab. Marcela A. G. van der Heyden z University Medical Centre Utrecht, The Netherlands. Wyniki tych badań przedstawiłam w cyklu publikacji stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego [**H2**].

Opracowałam także pracę poglądową dotyczącą mechanizmu działania indolo-3-karbinolu i 3,3'-diindolilometanu w chemoprewencji chorób nowotworowych, która była inspiracją do prowadzenia dalszych badań w poszukiwaniu inhibitorów kinaz białkowych w tej grupie związków. Badania były częściowo finansowane w ramach mini-grantu FW24/NM2/17 (opiekun), a rezultaty badań zostały opublikowane w formie pełnotekstowego artykułu naukowego w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym [**H6**] i weszły w skład prac będących podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.

Uzyskane doświadczenie w zakresie tworzenia modeli matrycy polimerowej, pozwoliło mi na udział w charakterze wykonawcy do realizacji zadań w projekcie NCN nr 2015/19/B/ST4/03743 pt: *Badania nad zastosowaniem polimerów wdrukowanych molekularnie do analizy substancji farmaceutycznych w układach biologicznych*, realizowany przez konsorcjum



koordynowane przez Instytut Chemii Fizycznej PAN, w skład którego weszło kilku naukowców z Instytutu Farmaceutycznego, Uniwersytetu Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie oraz Wydziału Farmaceutycznego WUM. Część badań przeprowadzonych w ramach niniejszego projektu stała się przedmiotem zgłoszenia patentowego oznaczonym nr P.432365, opublikowaniem na łamach czasopisma *Biosensors and Bioelectronics* [B6], jak również była prezentowana w formie komunikatu ustnego i posterów na międzynarodowych i krajowych konferencjach.

W ramach dalszego rozwoju tematyki w grupie pochodnych pentamidyny i nawiązanej współpracy z Zespołem badawczym dr hab. Éva A. Enyedy z University of Szeged, Hungary opracowałam po raz pierwszy metodologię do oceny stopnia oddziaływania pentamidyn z HSA na bazie modelowej struktury białka. Efekty badań zostały opublikowane w formie pełnotekstowego artykułu naukowego w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym [B7].

W chwili obecnej biorę dalszy udział w projekcie NCN, kontynuując obliczenia dla pozostałych układów oraz uczestniczę w opracowywaniu otrzymanych wyników do kolejnych publikacji. Ponadto biorę udział w międzynarodowym projekcie NRDIO/PD 131472 - The National Research, Development and Innovation Office in Hungary realizowanym we współpracy z University of Szeged, Hungary, gdzie moim zadaniem jest opracowanie metodologii do badania oddziaływań analizowanych związków bioaktywnych z celami biologicznymi takimi jak: HSA i  $\alpha_1$ - kwaśna glikoproteina oraz oszacowanie dla nich określone parametry fizykochemiczne. Jednocześnie zaangażowana jestem w badaniach nad poszukiwaniem naturalnych fitoproduktów (pochodnych perezonu) o działaniu przeciw glejakiowi wielopostaciowemu (GBM ang. *Glioblastoma Multiforme*), który należy do pierwotnych nowotworów OUN. Moim celem jest oszacowanie profilu farmakokinetycznego, aby wybrać najbardziej obiecujący związek do badań *in vitro* na linii komórkowej U373 i komórkach glejowych w celu określenia cytotoksyczności. Badania są prowadzone w ramach współpracy z dr Maricarmen Hernández-Rodríguez z Universidad Nacional Autónoma de México, Santa María. Innym tematem, nad którym obecnie się koncentruję to opracowanie modelu teoretycznego wspomagającego projektowanie nowych

inhibitorów AChE o wielocelowym działaniu farmakologicznymi, takimi jak zmniejszenie odkładania A $\beta$  i hamowanie BACE-1, które są istotne w leczeniu choroby Alzheimera. W ramach prowadzonych badań nad opracowaniem metodologii nawiązałam współpracę z Zespołem badawczym dr Rosa Purgatorio z Università del Farmaco, Università' Degli Studi di Bari, Italy.

Moje osiągnięcia naukowe zostały nagrodzone w 2012 przez Ministra Zdrowia oraz sześciokrotnie, w 2011, 2015, 2016, 2018, 2019 i 2020 roku nagrodzone nagrodą Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

### 5.3. Zestawienie prac dokumentujących pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze

Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych:

**A1.** Rudnicki W. R., Kurzepa M., **Szczepanik T.**, Priebe, W., Lesyng B. (2000) A simple model for predicting the free energy of binding between anthracycline antibiotics and DNA. *Acta Biochimica Polonica* 47, 1-9.

IF<sub>2000</sub> = **0.749**; MNiSW = **8**

**A2.** **Żolek T.\***, Paradowska K., Wawer I. (2003) <sup>13</sup>C CP MAS NMR and GIAO-CHF calculations of coumarins. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* 23, 77-87.

IF<sub>2003</sub> = **1.453**; MNiSW = **9**

**A3.** **Żolek T.**, Paradowska K., Krajewska D., Różański A., Wawer I. (2003) <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C MAS NMR and GIAO-CPHF calculations of chloramphenicol, tiamphenicol and their pyrrole analogues. *Journal of Molecular Structure* 646, 141-149.

IF<sub>2003</sub> = **1.021**; MNiSW = **9**

**A4.** Maciejewska D., **Żolek T.**, Herold F. (2006) CoMFA methodology in structure-activity analysis of hexahydro- and octahydropyrido[1,2-c]pyrimidine derivatives based on affinity towards 5-HT<sub>1A</sub> and  $\alpha_1$  – adrenergic receptors. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 25, 353-362.

IF<sub>2006</sub> = **2.371**; MNiSW = **24**

Rozdział w podręczniku:

Paradowska K, Zielińska A, **Żolek T.**, Wawer I. Struktura molekularna i właściwości antyutleniające kumaryn w badaniach NMR, EPR i modelowania molekularnego. *Flawonoidy i ich zastosowanie*. Praca zbiorowa pod red.

Kopacz M. Oficyna Wydawnicza Politechniki Rzeszowskiej. Str. 137 – 142. (2002)

Praca pogładowa:

**Żolek T.\*** (2002) Oksydacyjne uszkodzenia DNA a rola flawonoidów. *Farmacja Polska* LVII: 903-905.

Publikacje naukowe w czasopismach nie znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JRC):

**A5.** Wałęjko P., Witkowski S., Wawer I., **Szczepanik T.** (2000)  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR studies of vitamine E glycosides stereochemistry. *Molecular Physics Reports* 29: 192-194.

**A6.** Wałęjko P., **Żolek T.**, Witkowski, S., Wawer I. (2001) Investigation of conformational effects in glycosides of  $\alpha$ -tocopherol derivatives by means of NMR spectroscopy and molecular modelling. *Molecular Physics Reports* 33: 70-73.

**A7.** Wojtulewska W., Bok M., Werblan L., **Żolek T.**, Wawer I. (2001)  $^1\text{H}$ ,  $^7\text{Li}$ ,  $^{13}\text{C}$  and  $^{19}\text{F}$  NMR study of  $\text{LiAsF}_6$  solutions of alkyl carbonates. *Molecular Physics Reports* 33: 78-81.

**A8.** **Żolek T.**, Maciejewska D. (2004) Preliminary theoretical analysis of pentamidine analogs effects and DNA minor groove recognition. *Acta Poloniae Pharmaceutica. Drug Research* 61, 59-61.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych:

**B1.** **Żolek T.**, Maciejewska D. (2010) Theoretical models of pentamidine analogs activity based on their DNA minor groove complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 1991-1999.

IF<sub>2010</sub> = **3.193**; MNiSW = **27**

**B2.** Sobiech M., **Żolek T.**, Luliński P., Maciejewska D. (2014) A computational exploration of imprinted polimer affinity based on voriconazole metabolites. *Analyst*, 139, 1779-1788.

IF<sub>2014</sub> = **4.107**; MNiSW = **40**

**B3.** Rezler M., **Żolek T.**, Wolska I., Maciejewska D. (2014) Structural aspects of intermolecular interactions in the solid state of 1,4-dibenzylpiperazines

bearing nitrile or amidine groups. *Acta Crystallographica Section B*, 870, 820-827.

IF<sub>2014</sub> = **2.184**; MNiSW = **25**

**B4.** Luliński P., Sobiech, M., **Żolek T.**, Maciejewska D. (2014) A separation of tyramine on a 2-(4-methoxyphenyl)ethylamine imprinted polymer: An answer from theoretical and experimental studies. *Talanta*, 129, 155-164.

IF<sub>2014</sub> = **3.545**; MNiSW = **40**

**B5.** Sobiech M., **Żolek T.**, Luliński P., Maciejewska D. (2016) Separation of octopamine racemate on (*R,S*)-2-amino-1-phenylethanol imprinted polymer – experimental and computational studies. *Talanta*, 146, 556-567.

IF<sub>2016</sub> = **4.162**; MNiSW = **40**

**B6.** Gajda M., Rybakiewicz R., Cieplak M., **Żolek T.**, Maciejewska D., Gilant E., Rudzki P.J., Grab K., Kutner A., Borowicz P., Kutner W., Noworyta K. R. (2020) Low-oxidation-potential thiophene-carbazole monomers for electro-oxidative molecular imprinting: selective chemosensing of aripiprazole. *Biosensors and Bioelectronics*, 169, 112589.

IF<sub>2020</sub> = **10.257**; MNiSW = **200**

**B7.** **Żolek T.\***, Dömötör O., Rezler. M., Enyedy É. A., Maciejewska D. (2021) Deposition of pentamidine analogues in the human body – spectroscopic and computational approaches. *European Journal of Pharmaceutical Science*, DOI: 10.1016/j.ejps.2021.105779.

IF<sub>2020</sub> = **3.616**; MNiSW = **100**

Praca pogładowa:

**Żolek T.\***, Trzeciak A. (2017) Mechanizm działania indolo-3-karbinolu i 3,3'-diindolilometanu w chemoprewencji chorób nowotworowych. *Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego WUM*, 2: 8-15.

#### **5.4. Informacje naukometryczne**

Sumaryczny Impact Factor według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania: **61.936**

Liczba cytowań (bez autocytowań) publikacji według bazy Web of Science: **137**

Liczba cytowań (bez autocytowań) publikacji według bazy Scopus: **141**

Indeks Hirscha według bazy Web of Science i Scopus: **7**

Sumaryczna liczba punktów MNiSW: **944**

### **5.5. Udzielone zgłoszenia patentowe międzynarodowe i krajowe**

Współtwórca zgłoszenia patentowego (22.12.2019) pt: „*Polimer molekularnie wdrukowany tworzący warstwę rozpoznającą aripiprazol, sposób wytworzenia warstwy tego polimeru, jej zastosowanie do budowy czujników chemicznych do oznaczania aripiprazolu oraz kwas 4-[3,6-di(tiofen-2-ylo)-9H-karbazol-9-ilo]benzoesowy, sposób jego otrzymania i zastosowanie w syntezie polimeru molekularnie wdrukowanego aripiprazolem*” Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej (nr **P.432365**, [WIPO ST 10/C PL432365]).

Mój wkład w powstanie tego patentu polegał na współudziale w opracowaniu koncepcji badań obliczeniowych, wykonaniu obliczeń DFT, zbudowaniu układów i wykonaniu obliczeń metodą mechaniki i dynamiki molekularnej, współudział w analizie wyników obliczeń, a także w przygotowaniu opisu (rozdziały dotyczące metodyki i badań teoretycznych). Mój udział procentowy wynosi **5%**.

### **5.6. Wynalazki oraz wzory użytkowe i przemysłowe, które uzyskały ochronę i zostały wystawione na międzynarodowych lub krajowych wystawach lub targach.**

Nagroda specjalna ERiNET Innovatorenpreis 2018 za wynalazek pt.: „*Molecularly imprinted polymers employing carbazole and thiophene monomers and their application as recognition layers in chemosensors of aripiprazole and human chorionic gonadotropin*” Forschungsinstitut für Erfinderförderung, Innovationen und Netzwerkmanagement, Targi iENA'2018 – International Trade Fair „Ideas – Inventions – New Products”, 1 - 4 listopada 2018 r., Norymberga, Republika Federalna Niemiec. (współtwórca)

### **5.7. Udział w projektach badawczych**

1. Kierownik grantu: Warszawski Uniwersytet Medyczny, Finansowanie Nauki – Młodzi Badacze, 03-FW-28/NS-3/2003, „*Oksydacyjne uszkodzenia DNA a ochronna rola flawonoidów – badania metodami modelowania molekularnego*”, 2003 – 2004.

2. Wykonawca grantu: Warszawski Uniwersytet Medyczny, Finansowanie Nauki, 03-FW-28/W-2/2002, „*Analiza aktywności biologicznej, oddziaływań z receptorami oraz struktury potencjalnych leków nowoczesnymi metodami modelowania molekularnego i spektroskopii NMR*”, 2002 – 2004.
3. Kierownik grantu: Warszawski Uniwersytet Medyczny, Finansowanie Nauki – Młodzi Badacze, 03-FW-24/W-B/2004, „*Analiza struktury, w powiązaniu z aktywnością biologiczną, związków o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym, przeciwgrzybiczym i anksjolitycznym, nowoczesnymi metodami modelowania molekularnego i spektroskopii NMR*”, 2004 – 2006.
4. Wykonawca grantu: Narodowego Centrum Nauki, nr rej. NCN 2015/19/B/ST4/03743, „*Badania nad zastosowaniem polimerów wdrukowanych molekularnie do analizy substancji farmaceutycznych w układach biologicznych*” 2016 -2021.
5. Opiekun mini-grantu studenckiego, Warszawski Uniwersytet Medyczny, FW24/NM2/17, „*Teoretyczna ocena parametrów ADMET przeciwnowotworowych pochodnych 3,3'-diindolilometanu (DIM), potencjalnych inhibitorów kinazy tyrozynowej (EGFR)*”, 2017 – 2018.
6. Wykonawca projektu: The National Research, Development and Innovation Office (NRDIO/PD 131472) in Hungary, „*Bio-speciation of drug candidates studied by the combination of separation and spectroscopic methods*”, 2019 – 2023.

#### **5.8. Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową albo artystyczną**

1. Nagroda zespołowa Ministra Zdrowia za cykl 6 publikacji dotyczących badań nad nowymi chemioterapeutykami i nowymi selektywnymi sorbentami do oznaczania bioanalitów (2012).
2. Nagroda indywidualna dydaktyczna II stopnia Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za wkład w prowadzenie Studenckiego Koła Naukowego „MOLEKUŁA” (2013).
3. Nagrody naukowe Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego:

- a) Nagroda zespołowa naukowa I stopnia za współautorstwo cyklu prac dotyczących NMR w fazie stałej w badaniach związków biologicznie czynnych (2004).
- b) Nagroda zespołowa naukowa III stopnia za współautorstwo prac dotyczących analizy struktury i oddziaływań międzymolekularnych związków aktywnych biologicznie (2006).
- c) Nagroda zespołowa naukowa II stopnia za współautorstwo cyklu prac dotyczących poszukiwań nowych chemioterapeutyków w grupie pochodnych *bis*-amidyn, *bis*-indoli oraz amidów (2007).
- d) Nagroda zespołowa naukowa III stopnia za współautorstwo cyklu prac dotyczących analizy struktury i mechanizmu działania *bis*-amidyn o aktywności przeciw *Pneumocystis carinii* (2011).
- e) Nagroda naukowa II stopnia za cykl prac pt:
1. “A computational exploration of imprinted polymer affinity based on voriconazole metabolites”,
  2. A separation of tyramine on a 2-(4-methoxyphenyl)ethylamine imprinted polymer: An answer from theoretical and experimental studies (2015).
- f) Nagroda naukowa II stopnia za współautorstwo pracy pt: “Separation of octopamine racemate on (*R,S*)-2-amino-1-phenylethanol imprinted polymer – experimental and computational studies (2016).
- g) Nagroda naukowa III stopnia za współautorstwo publikacji dotyczącej oceny parametrów farmakokinetycznych pochodnych kumaryn o wysokim potencjale terapeutycznym (2018).
- h) Nagroda naukowa III stopnia za współautorstwo publikacji opisującej badania nad biodostępnością kumaryn o wysokim powinowactwie do receptorów serotoninergeicznych (2019).
- i) Nagroda naukowa III stopnia za pracę opisującą analizę teoretyczną i eksperymentalną przenikania bariery krew-mózg i wiązania się z białkami osocza nowych potencjalnych środków psychotropowych (2020).

### 5.9. Komunikaty konferencyjne

*Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych:*

1. **Szczepanik T.**, Paradowska K., Wawer I.  $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR and GIAO-CHF calculations of coumarins. The 6<sup>th</sup> European Congress of Pharmaceutical Sciences, Budapest 16-19 September 2000 (komunikat posterowy).

2. Walejko P., **Żolek T.**, Witkowski S., Wawer I. Badanie konformacji glikozydowych pochodnych d- $\alpha$ - tokoferolu za pomocą modelowania molekularnego oraz spektroskopii  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR. XXXIII Ogólnopolskie Seminarium na temat magnetycznego rezonansu jądrowego i jego zastosowań, Kraków 4-5 grudnia 2000 (komunikat ustny).

3. Paradowska K., **Żolek T.**, Wawer I.  $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR w badaniu kumaryn. XXXIII Ogólnopolskie Seminarium na temat magnetycznego rezonansu jądrowego i jego zastosowań, Kraków 4-5 grudnia 2000 (komunikat posterowy).

4. **Żolek T.**, Maciejewska D. Badanie modelu oddziaływań kumaryn z cytochromem P450 metodą CoMFA. XVIII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Poznań 19-22 września 2001 (komunikat posterowy).

5. **Żolek T.**, Wawer I., Maciejewska D. Oksydacyjne uszkodzenia DNA. II Sympozjum Naturalne Antyoksydanty w Farmacji i Medycynie, Warszawa 19-20 kwietnia 2002 (komunikat ustny).

6. Maciejewska D., Herold F., **Żolek T.** 3D-QSAR CoMFA study of new hexahydro- and octahydropyrido[1,2-c]pyrimidine derivatives with an arylpiperazine moiety based on affinity measurements to 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> and  $\alpha_1$  – adreno receptors. The 3<sup>th</sup> Multidisciplinary Conference on Drug Research, Piła 13-16 maja 2002 (komunikat posterowy).

7. Paradowska K., Zielińska A., **Żolek T.**, Wawer I. Struktura molekularna i właściwości antyutleniające kumaryn w badaniach NMR, EPR i modelowania molekularnego. IV Konferencja Flawonoidy i ich zastosowanie, Rzeszów 23-25 maja 2002 (komunikat posterowy).

8. Maciejewska D., **Żolek T.**, Herold F. Final structure-activity analysis of new hexahydro- and octahydropyrido[1,2-c]pyrimidine derivatives based



on affinity towards 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> and  $\alpha_1$ -adrenergic receptors by means of CoMFA methodology. Joint Meeting on Medicinal Chemistry, Kraków 15-18 October 2003 (komunikat posterowy).

9. Zielińska A., Paradowska K., **Żołek T.**, Wawer I. Solid state conformation and antioxidant properties of coumarin in <sup>13</sup>C CPMAS NMR, GIAO-CHF calculations and EPR studies. XXXVI Polish Seminar on Nuclear Magnetic Resonance and its Applications, Kraków 1-2 December 2003 (komunikat posterowy).

10. **Żołek T.**, Maciejewska D., Kaźmierczak P. Theoretical analysis of the pentamidine derivatives interaction in minor-groove of DNA at A-T rich regions. The 4<sup>th</sup> Multidisciplinary Conference on Drug Research, Gdańsk-Sobieszewo 17-19 maja 2004 (komunikat posterowy).

11. **Żołek T.**, Maciejewska D., Lubczyński J. Theoretical analysis of biological active conformations of some *bis*-amidines using computed DNA binding energy. Central European School on Physical Organic Chemistry, Czocha 19-24 June 2005 (komunikat posterowy).

12. **Żołek T.**, Maciejewska D. Theoretical analysis of biological active conformations of some *bis*-amidines. The 5<sup>th</sup> Multidisciplinary Conference on Drug Research, Darłówko Wschodnie 15-17 maja 2006 (komunikat posterowy).

13. **Żołek T.**, Maciejewska D. Theoretical analysis of biological active conformations of some *bis*-amidines. ChemSession'06, III Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików, Warszawa 19 maja 2006 (komunikat posterowy).

14. **Żołek T.**, Maciejewska D. Wykorzystanie metody 3D-QSAR do analizy aktywności nowych analogów buspironu. ChemSession'07, IV Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików, Warszawa 18 maja 2007 (komunikat posterowy).

15. **Żołek T.**, Maciejewska D. Teoretyczne modele aktywności analogów pentamidyny. Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Katowice-Spodek 25-28 września 2007 (komunikat ustny).

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych:

1. **Żolek T.**, Maciejewska D. Theoretical models of biological activity of bis-amidines based on intermolecular interactions in the minor groove of DNA. XX<sup>th</sup> International Symposium on Medicinal Chemistry, Austria-Vienna 31 August – 4 September 2008 (komunikat posterowy).
2. **Żolek T.**, Pawłowska M., Maciejewska D., Luliński P. Teoretyczna analiza selektywności polimerów imprintowanych dopamina i homoveratryloamina. 52 Zjazd PTChem i SITPChem, Łódź 12-16 września 2009 (komunikat posterowy).
3. Dana M., **Żolek T.**, Maciejewska D. Dopamine and its metabolites imprinted polymers – molecular recognition and intermolecular interactions. Central European School on Physical Organic Chemistry, Przesieka 8-12 June 2010 (komunikat posterowy).
4. Luliński P., Maciejewska D., **Żolek T.** Synthesis and evaluation of homoveratrylamine imprinted polymers for solid phase extraction of catecholamines and its derivatives. The 6<sup>th</sup> International Meeting on Molecular Imprinting, New Orleans, Louisiana 9-12 August 2010 (komunikat posterowy).
5. **Żolek T.**, Maciejewska D. Wykorzystanie teoretycznych modeli oddziaływań bis-amidyn z DNA w poszukiwaniu substancji leczniczych przeciwko *Pneumocystis carinii pneumonia*. XXI Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Gdańsk 12-15 września 2010 (komunikat ustny).
6. Maciejewska D., Luliński P., Dana M., **Żolek T.** Molekularnie imprintowane polimery jako nowe materiały do analiz farmaceutycznych. XXI Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Gdańsk 12-15 września 2010 (komunikat ustny).
7. Pawłowska M., **Żolek T.**, Maciejewska D., Luliński P. Synteza i analiza teoretyczna polimerów imprintowanych worykonazolem i jego metabolitem. ChemSession'11, VIII Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików, Warszawa 13 maja 2011(komunikat posterowy).
8. Pawłowska M., **Żolek T.**, Maciejewska D. The interactions in the precomplexes as a valuable tool for the properties prediction

of molecularly imprinted polymers. Central European School on Physical Organic Chemistry, Przesieka 6-10 June 2011 (komunikat posterowy).

9. Maciejewska D., Luliński P., **Żolek T.**, Dana M., Pawłowska M. The molecularly imprinted polymers as selective sorbents to pharmaceutical analyses. The 8<sup>th</sup> Multidisciplinary Conference on Drug Research, Rawa Mazowiecka 30 maja – 1 czerwca 2012 (komunikat posterowy).

10. Maciejewska D., **Żolek T.**, Pawłowska M., Luliński P. Selectivity study of molecularly imprinted polymers by molecular modeling. 7<sup>th</sup> International Conference on Molecularly Imprinted Polymers Science and Technology, Paris 27 – 30 August 2012 (komunikat posterowy).

11. **Żolek T.**, Maciejewska D., Luliński P. A computational model for selectivity evaluation of molecularly imprinted polymers. Modeling&Design of Molecular Materials, Wrocław 10 – 14 September 2012 (komunikat posterowy).

12. Pawłowska M., Maciejewska D., **Żolek T.** Molecular modeling as a valuable tool for the properties prediction of molecularly imprinted polymers. Modeling&Design of Molecular Materials, Wrocław 10 – 14 September 2012 (komunikat posterowy).

13. Sobiech M., **Żolek T.**, Luliński P., Maciejewska D. Theoretical selectivity analysis of imprinted polymers towards voriconazole metabolites. Current Trends in Theoretical Chemistry VI, Kraków 1 – 5 September 2013 (komunikat posterowy).

14. Maciejewska D., Żabiński J., Kaźmierczak P., **Żolek T.**, Rezler M. Nowe potencjalne chemoterapeutyki z grupy *bis*-amidyn. XXII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Białystok 18 – 21 września 2013 (komunikat ustny).

15. Sobiech M., **Żolek T.**, Luliński P., Maciejewska D. Separation of octopamine on 2-amino-1-phenylethanol imprinted polymer – theoretical and experimental investigation. The 9<sup>th</sup> Multidisciplinary Conference on Drug Research, Szydłów 12 - 14 maja 2014 (komunikat posterowy).

16. Sobiech M., **Żolek T.**, Luliński P., Maciejewska D. Teoretyczna analiza właściwości polimerów z odciskiem molekularnym jako sorbentów

pentamidyny. ChemSession'14, VIII Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików, Warszawa 16 maja 2014 (komunikat posterowy).

17. Maciejewska D., **Żolek T.**, Sobiech M., Luliński P. A selectivity of imprinted polymer matrix – an answer from theoretical and experimental studies. The 8<sup>th</sup> International Congress on Molecular Imprinting – MIP2014, Zhenjiang, China 18 – 21 September 2014 (komunikat posterowy).

18. **Żolek T.**, Trzeciak A., Maciejewska D. Teoretyczna ocena parametrów ADMET pochodnych 3,3'-diindolilometanu (DIM-u) o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym. Ogólnopolska Konferencja Studenckich Kół Naukowych, Kraków 21 maja 2016 (komunikat ustny).

19. **Żolek T.**, Maciejewska D. Metody teoretyczne w ocenie parametrów ADMET: Analiza 7-hydroksykumaryn jako związków o potencjale terapeutycznym. XXIII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Kraków 19 – 22 września 2017 (komunikat ustny).

20. Maciejewska D., **Żolek T.** Symulacje komputerowe w projektowaniu polimerów- modele drukowania molekularnego substancji leczniczych w warstwach elektropolimerów. XXIII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Kraków 19 – 22 września 2017 (komunikat ustny).

21. Mazurek A., **Żolek T.** Theoretical evaluation of ADMET properties for 7-hydroxy-substituted coumarins with affinity to 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors. The 14<sup>th</sup> Warsaw International Medical Congress, Warsaw 10 -13 May 2018 (komunikat ustny).

22. Materska-Wilczyńska P., Yadav J., Rybakiewicz R., **Żolek T.**, Maciejewska D., Noworyta K., Kutner W. Imatinib determination using a chemosensor with carbazole-based molecularly imprinted polymer film as the recognition unit. 66<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, Bologna, Italy 2 – 7 September 2018 (komunikat posterowy).

23. Materska-Wilczyńska P., Yadav J., Rybakiewicz R., **Żolek T.**, Maciejewska D., Kutner W., Noworyta K. Chemosensor for imatinib determination with carbazole – based MIP film. 61 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Kraków 17 – 21 września 2018 (komunikat posterowy).

24. Yadav J., Noworyta K., Rybakiewicz R., **Żolek T.**, Maciejewska D., Kutner W. Synthesis and characterization of carbazole derivatives as new functional monomers for molecularly imprinted polymers (MIPs). XVI International Congress of Young Chemists, “YoungChem 2018”, Bydgoszcz 10 – 14 października 2018 (komunikat ustny).
25. **Żolek T.**, Maciejewska D., Enyedy É. A. Teoretyczna analiza parametrów ADMET 5-hydroksykumaryn jako związków o wysokim powinowactwie do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> i 5-HT<sub>2A</sub>. XI Multidyscyplinarna Konferencja Nauki o Leku, Warszawa 14 – 16 listopada 2018 (komunikat ustny).
26. Maciejewska D., **Żolek T.** Chemosensory farmaceutyków – teoretyczna analiza selektywności warstw polimerowych. XI Multidyscyplinarna Konferencja Nauki o Leku, Warszawa 14 – 16 listopada 2018 (komunikat ustny).
27. Gajda M., Cieplak M., Rybakiewicz R., **Żolek T.**, Maciejewska D., Gilant E., Rudzki P., Kutner A., Yadav J., Wilczyńska-Materska P., Kutner W., Noworyta K. Zastosowanie polimeru wdrukowanego molekularnie aripiprazolem jako elementu rozpoznającego chemoczuJNIka do selektywnego oznaczania tego leku. XI Multidyscyplinarna Konferencja Nauki o Leku, Warszawa 14 – 16 listopada 2018 (komunikat posterowy).
28. Gajda M., Cieplak M., Rybakiewicz R., **Żolek T.**, Maciejewska D., Gilant E., Rudzki P., Kutner A., Yadav J., Materska-Wilczyńska P., Kutner W., Noworyta K. Applying molecularly imprinted polymer as a recognition layer in chemosensor selective towards aripiprazole. The 15<sup>th</sup> Warsaw International Medical Congress, Warsaw 9 -12 May 2019 (komunikat posterowy).
29. Materska-Wilczyńska P., Yadav J., Rybakiewicz R., **Żolek T.**, Maciejewska D., Kutner W., Noworyta K. Application of the selected carbazole derivatives for fabrication of the imatinib-imprinted polymer recognition unit in chemosensor. ChemSession’19, XVI Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików, Warszawa 7 czerwca 2019 (komunikat posterowy).
30. Materska-Wilczyńska P., Yadav J., Rybakiewicz R., **Żolek T.**, Maciejewska D., Kutner W., Noworyta K. Determination of imatinib anticancer drug using a chemosensor with carbazole-based molecularly imprinted polymer film as the recognition unit. 62 Zjazd Naukowy Polskiego

Towarzystwa Chemicznego, Warszawa, 2 – 6 września 2019 (komunikat posterowy).

31. Materska-Wilczyńska P., Yadav J., Rybakiewicz R., **Żolek T.**, Maciejewska D., Kutner W., Noworyta K. Electrochemical, spectroscopic and nanomechanical studies of imatinib-imprinted polymer films based on polycarbazole co-polymers. 62 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Warszawa, 2 – 6 września 2019 (komunikat ustny).

32. Gilant E., Gajda M., Rybakiewicz R., Cieplak M., **Żolek T.**, Maciejewska D., Rudzki P., Grab K., Kutner A., Borowicz P., Kutner W., Noworyta K. Zastosowanie chemoczuJNIka z polimerem wdrukowanym molekularnie do oznaczania arypiprazolu w osoczu ludzkim w porównaniu do metody LC-MS. III Poznańska Konferencja „Współczesna analityka farmaceutyczna i biomedyczna w ochronie zdrowia”, Poznań, 4 – 5 czerwca 2020 (komunikat posterowy).

## **6. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz informacja o współpracy międzynarodowej habilitanta**

### **6.1. Uczestnictwo w programach europejskich oraz innych programach międzynarodowych i krajowych**

1. Przeprowadzenie szkolenia i przygotowanie materiałów szkoleniowych na Workshop on Molecular Simulation and Drug Design pt.: „Introduction to design active ligands with QSAR/CoMFA”, Warsaw, 11 September 2015. Prace te były wspierane w ramach EU 7<sup>th</sup> Framework Programme under the CAPACITIES project REGPOT-CT-2013-316014 (EAgLE).
2. Przygotowanie i przeprowadzenie zajęć dydaktycznych w Bloku 2: Analiza toksykologiczna, przy realizacji projektu finansowanego przez NCBiR w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój o nazwie „WUM AID - Akademia Innowacyjnej Dydaktyki Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego”, o kodzie FS196, nr rej. NCBiR POWR.03.05.00-00Z088/17-00 (Zadanie 7 pt: „Wprowadzenie nowego kierunku - Toksykologia z elementami kryminalistyki”) (2018 – 2022).

### **6.2. Udział w komitetach organizacyjnych międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych**

1. II Konferencja Naukowa Wydziału Farmaceutycznego „Postępy w Farmacji doświadczalnej i stosowanej”, 2009, Warszawa (sekretarz komitetu organizacyjnego).
2. III Konferencja Naukowa Wydziału Farmaceutycznego „Nowa generacja - habilitacje”, 2010, Warszawa (sekretarz komitetu organizacyjnego).
3. IV Konferencja Naukowa Wydziału Farmaceutycznego „Perspektywy rozwoju farmacji w XXI wieku”, 2011, Warszawa (sekretarz komitetu organizacyjnego).

### **6.3. Otrzymane nagrody i wyróżnienia inne niż wymienione w pkt 5.7**

Nagroda za najlepszy plakat Sesji II na The Third Multidisciplinary Conference on Drug Research w Pile pt: *“3D-QSAR CoMFA study of new hexahydro- and octahydropyrido[1,2-c]pyrimidine derivatives with an arylpiperazine moiety based on affinity measurements to 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> and  $\alpha_1$ -adreno receptors”* (2002).

### **6.4. Udział w konsorcjach i sieciach badawczych**

Partner II – Warszawski Uniwersytet Medyczny w projekcie badawczym Narodowego Centrum Nauki nr NCN 2015/19/B/ST4/03743 (2016 – 2021), finansowanie projektu badawczego w ramach konkursu „OPUS 10” pt: *„Badania nad zastosowaniem polimerów wdrukowanych molekularnie do analizy substancji farmaceutycznych w układach biologicznych”* – wykonawca projektu.

### **6.5. Udział w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism**

Rada Recenzentów w czasopiśmie naukowym MDPI – Pharmaceutics (od 2019 roku)

[https://www.mdpi.com/journal/pharmaceutics/submission\\_reviewers](https://www.mdpi.com/journal/pharmaceutics/submission_reviewers)

Redaktor tematyczny w czasopiśmie naukowym Pharmaceutics (IF = 4.421) (od 2020 roku)

[https://www.mdpi.com/journal/pharmaceutics/topic\\_editors](https://www.mdpi.com/journal/pharmaceutics/topic_editors)

### **6.6. Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych**

Wydziałowy Zespół ds. Jakości Kształcenia, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, 2012 – 2016, funkcja Członka Zespołu i Sekretarza.

### **6.7. Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki lub sztuki**

1. Prowadzenie zajęć dydaktycznych, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny:

- a) Fizyka, laboratorium, Zakład Chemii Fizycznej, 1999 – 2003.
- b) Informatyka, seminarium i laboratorium, Zakład Chemii Fizycznej, 1999 – 2003.
- c) Chemia organiczna, seminarium i laboratorium, Zakład Chemii Organicznej, od 2003.
- d) Projektowanie substancji leczniczych – modelowanie molekularne, seminarium i warsztaty, Zakład Chemii Organicznej, od 2008.
- e) Synteza i identyfikacja związków organicznych, laboratorium, Zakład Chemii Organicznej, od 2020.

2. Funkcja opiekuna SKN MOLEKUŁA działającego przy Zakładzie Chemii Organicznej, od 2004.

3. Aktywna opieka nad studentami należącymi do SKN MOLEKUŁA prowadząc prace związane z modelowaniem molekularnym:

- Janusz Lubczyński, 2004 – 2005,
- Andrzeja Kierski, 2005 – 2006,
- Paulina Sawińska, 2006 – 2007,
- Monika Pawłowska, 2008 – 2009,
- Małgorzata Mianowska, 2009 - 2010,
- Anna Szabińska, Agnieszka Wiechetek, 2014 – 2015,
- Karolina Majka, 2016 – 2017,
- Mateusz Pham, 2017 (II Wydział Lekarski)
- Błażej Woźniak, 2017 – 2018,
- Natalia Tarłowska, 2017 - 2018
- Aleksandra Trzeciak, 2016 – 2019,
- Anna Mazurek, 2017 – 2019,
- Łukasz Kłopotowski, 2019 - 2021
- Paulina Gromek, 2020 - 2021



4. Aktywny udział w popularyzowaniu wiedzy o metodach teoretycznych w naukach farmaceutycznych w ramach zajęć warsztatowych Festiwalu Nauki Polskiej (2004 – 2011).
5. Aktywny udział w przygotowaniach oraz uczestnictwo w piknikach „Warszawski Uniwersytet Medyczny - Społeczeństwu Warszawy” (2009 – 2016).
6. Aktywny udział w II i III edycji warsztatów „Odkryj nasz Wydział” dla młodzieży licealnej z klas o profilu biologiczno-chemicznym (2016 – 2017).

#### **6.8. Opieka naukowa nad studentami i lekarzami w toku specjalizacji**

1. Opiekun studiów indywidualnych (2008 - 2010) studenta Mateusza Rezlera, Wydział Farmaceutyczny Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.
2. Opiekun prac magisterskich na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego:
  - a) (2004 - 2005) studenta Janusza Lubczyńskiego pt: *„Analiza oddziaływań pentamidyny i jej analogów z DNA metodami modelowania molekularnego”* Katedra i Zakład Chemii Organicznej.
  - b) (2005 - 2006) studenta Andrzeja Kierskiego pt: *„Analiza aktywnych biologicznie konformacji analogów pentamidyny w kompleksach z DNA metodami modelowania molekularnego”* Katedra i Zakład Chemii Organicznej.
  - c) (2006 - 2007) studentki Pauliny Sawińskiej pt: *„Analiza oddziaływań związków o potencjalnym działaniu anksjolitycznym z modelem receptora 5-HT<sub>1A</sub>”* Katedra i Zakład Chemii Organicznej.
  - d) (2008 - 2009) studentki Moniki Pawłowskiej pt: *„Teoretyczna analiza selektywności polimerów imprintowanych dopaminą i homoweratrylamina”* Katedra i Zakład Chemii Organicznej.
  - e) (2009 - 2010) studentki Małgorzaty Mianowskiej pt: *„Metoda CoMFA w interpretacji aktywności biologicznej bis-indol”* Katedra i Zakład Chemii Organicznej.
  - f) (2014 - 2015) studentki Anny Szabińskiej pt: *„Analiza powinowactwa bis-amidyn do receptora NMDA metodami 3D-QSAR”* Zakład Chemii Organicznej.

- g) (2014 - 2015) studentki Agnieszki Wiechetek pt: „Analiza 3D-QSAR korelacji między aktywnością bis-amidyn przeciwko *Pneumocystis carinii* a ich strukturą” Zakład Chemii Organicznej.
- h) (2016 - 2017) studentki Karoliny Majki pt: „Teoretyczna ocena parametrów ADMET pochodnych kumaryny jako potencjalnych chemoterapeutyków” Zakład Chemii Organicznej.
- i) (2017 - 2018) studenta Błażeja Woźniaka pt: „Teoretyczna analiza wpływu pentamidyn na aktywność kanałów hERG” Zakład Chemii Organicznej.
- j) (2018 - 2019) studentki Aleksandry Trzeciak pt: *Teoretyczna ocena parametrów ADMET pochodnych 2,2'-ditio-bis-indolu oraz 3,3'-ditio-bis-indolu jako potencjalnych inhibitorów kinazy tyrozynowej (EGFR)* Zakład Chemii Organicznej.
- k) (2020 - 2021) - studenta Łukasza Kłopotowskiego pt: „Poszukiwanie nowych związków do wczesnej terapii choroby Alzheimera przy zastosowaniu metod modelowania molekularnego” Zakład Chemii Organicznej.
- l) (2020 - 2021) - studentki Pauliny Gromek pt: „Parametry fizykochemiczne i lekopodobieństwa w grupie pochodnych indolu o działaniu przeciwnowotworowym” Zakład Chemii Organicznej.

Prace wielu z nich zajmowały pierwsze miejsca w grupach tematycznych w Konkursie Prac Magisterskich na Wydziale Farmaceutycznym WUM.

#### **6.9. Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego**

mgr farm. Monika Sobiech (2013 – 2016) pt: „Teoretyczna i eksperymentalna analiza rozpoznawania molekularnego w układach imprintowanych polimerów” Zakład Chemii Organicznej, Wydział Farmaceutyczny, WUM (promotor pomocniczy).

#### **6.10. Odbyte kursy i szkolenia naukowe**

W ramach rozwoju naukowego uczestniczyłam w licznych krajowych szkoleniach związanych z zastosowaniem metod obliczeniowych w projektowaniu leków organizowanych między innymi przez Uniwersytet Warszawski, Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Matematycznego i Komputerowego (ICM) oraz Politechnikę Wrocławską. Dodatkowo uczestniczyłam w Sesjach użytkowników KDM (Goniądz, 24 - 27 luty 2005;

Warszawa, 2 – 3 luty 2006; Jadwisin, 8 – 11 marca 2007; Warszawa, 26 – 28 marca 2008; Puszcza Piska, 25 – 27 marca 2009; Jachranka, 26 – 30 maja 2014; Warszawa, 19 – 21 kwietnia 2017).

#### **6.11. Udział w zespołach eksperckich i konkursowych**

Recenzowanie abstraktów prac zgłoszonych do udziału w konferencjach:

1. 6<sup>th</sup> International Medical Congress for Young Scientists, Warszawa 7-9 maja 2010
2. 11<sup>th</sup> International Medical Congress for Young Scientists, Warszawa 7-10 maja 2014

#### **6.12. Recenzowanie projektów międzynarodowych i krajowych**

-

#### **6.13. Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych**

1. Computer Methods and Programs in Biomedicine, IF= 3.632, 1 recenzja
2. Letters in Drug Design & Discovery, IF= 1.169, 2 recenzje
3. Computational Biology and Chemistry, IF= 1.850, 1 recenzja
4. Future Drug Discovery, 1 recenzja
5. Pharmaceutics, IF= 4.421, 10 recenzji
6. International Journal of Environmental Research and Public Health, IF= 2.849, 1 recenzja
7. International Journal of Molecular Sciences, IF= 4.556, 6 recenzji
8. Antibiotics, IF= 3.893, 1 recenzja
9. Journal of Biochemistry of Analytical Studies, 1 recenzja
10. Molecules, IF= 3.267, 7 recenzji
11. Polycyclic Aromatic Compounds, IF= 1.894, 1 recenzja
12. The Journal of Organic Chemistry, IF= 4.335, 1 recenzja
13. Journal of Computational Systems Biology (JCSB), IF= 1.600, 1 recenzja
14. Microorganisms, IF= 4.152, 3 recenzje
15. Journal of Biomolecular Structure&Dynamics, IF= 3.310, 1 recenzja
16. International Journal of Nanomedicine, IF= 5.115, 1 recenzja
17. Computation, 1 recenzja

**6.14. Informacje o współpracy z instytucjami, organizacjami i towarzystwami z kraju i zagranicy**

1. Instytut Chemii Fizycznej, Polskiej Akademii Nauk, Warszawa (dr Krzysztof Noworyta)
2. Wydział Matematyczno-Przyrodniczy. Szkoła Nauk Ścisłych, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego, Warszawa (prof. dr hab. Włodzimierz Kutner)
3. Department of Inorganic and Analytical Chemistry, University of Szeged, Dóm tér 7. H-6720 Szeged, Hungary (dr hab. Éva A. Enyedy)
4. Department of Medical Physiology, Division Heart&Lungs, University Medical Centre Utrecht, Utrecht, The Netherlands (prof. dr hab. Marcel A. G. van der Heyden)
5. Centre for Molecular Simulation, Department of Biological Sciences, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada (prof. dr hab. Sergei Y. Noskov)
6. Química Inorgánica-Orgánica del Departamento de Ciencias Químicas, de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1, Universidad Nacional Autónoma de México, Santa María las Torres, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México (dr Maricarmen Hernández-Rodríguez)
7. Dipartimento di Farmacia-Scienze del Farmaco, Università del Farmaco, Università Degli Studi di Bari, Italy (dr Rosa Purgatorio)

**6.15. Inne osiągnięcia, nie wymienione w/w pkt**

- a) Kurs Pedagogiczny, Uniwersytet Warszawski, Warszawa 1999
- b) Szkolenie nt. Nowy nadzór pedagogiczny – ewaluacja zewnętrzna i wewnętrzna, Instytut Doskonalenia Kadr Pedagogicznych „EDUKACJA”, Warszawa 2010.

*Teresa Żolek*