

AUTOREFERAT

1. Alicja Nowaczyk

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne:

Stopień naukowy – doktor nauk chemicznych 05.06.2002, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Chemii na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Wykorzystanie formalizmu hamiltonianów pośrednich w walencyjnie uniwersalnej metodzie sprzężonych klasterów”

Dyplom magistra chemii – 18.06. 1996, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Chemii na podstawie pracy pt. „Wpływ utleniania i azotowania węgla na jego zdolności adsorpcyjne”

Dyplom ukończenia Studium Pedagogicznego – 10.06.1996, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Studium Pedagogiczne

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych

Od 01.11.2004 jestem zatrudniona na stanowisku adiunkta w nowo utworzonym Wydziale Farmaceutycznym, Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej

4. Osiągnięcia wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

Przedstawionym do oceny osiągnięciem jest cykl publikacji składający się z 7 prac opublikowanych w latach 2009 - 2012, o sumarycznych wskaźnikach oddziaływania: IF = 14.995, KBN/MNiSW = 148. Niniejsze badania dotyczą „Zastosowania metod obliczeniowych w badaniach zależności pomiędzy aktywnością biologiczną/krażeniową a strukturą związków chemicznych”

- 1) **A. Nowaczyk**, K. Kulig, B. Malawska; "1-(3-(4-arylpiperazin-1-yl)propyl)pyrrolidin-2-one derivatives as α_1 -adrenoceptor antagonists: a QSAR studies", QSAR Comb. Sci. 2009, 28 (9), 979-988

Czasopismo umieszczone na Liście Filadelfijskiej, wskaźnik Impact Factor ISI: 3.027
Punktacja ministerstwa: 24.000

- 2) **A. Nowaczyk**, R. Przybylski, K. Kulig, B. Malawska; "Structure activity relationship studies of a number of α_1 -adrenoceptor antagonists and antiarrhythmic agents", Mol. Inf. 2010, 29 (4), 343-351

Czasopismo umieszczone na Liście Filadelfijskiej, wskaźnik Impact Factor ISI: 1.407
Punktacja ministerstwa: 32.000

- 3) **A. Nowaczyk**, K. Kulig; "QSAR studies on a number of pyrrolidin-2-one antiarrhythmic arylpiperazinyls", Med. Chem. Res. 2012, 21, 373-381

Czasopismo umieszczone na Liście Filadelfijskiej, wskaźnik Impact Factor ISI: 1.271
Punktacja ministerstwa: 15.000

- 4) K. Kulig, J. Sapa, **A. Nowaczyk**, B. Filipek, B. Malawska; "Design, synthesis and pharmacological evaluation of new 1-[3-(4-Arylpiperazin-1-yl)-2-hydroxy-propyl]-3,3-diphenylpyrrolidin-2-one derivatives with antiarrhythmic, antihypertensive, and α -adrenolytic activity", Eur. J. Med. Chem 2009, 44, 3994-4003

Czasopismo umieszczone na Liście Filadelfijskiej, wskaźnik Impact Factor ISI: 3.269
Punktacja ministerstwa: 20.000

- 5) K. Kulig, J. Sapa, **A. Nowaczyk**, B. Filipek, B. Malawska, "Synthesis, pharmacological evaluation of new 1-[3-(4-phenyl-piperazin-1-yl)-propyl]- and 1-[3-(4-phenyl-piperidine)-propyl]- 3-aryl-3-alkyl-pyrrolidin-2-one derivatives with antiarrhythmic, antihypertensive activity", Acta Pol. Pharm. 2009, 66 (6), 649-662

Czasopismo umieszczone na Liście Filadelfijskiej, wskaźnik Impact Factor ISI: 0.347
Punktacja ministerstwa: 6.000

- 6) J. Sapa, **A. Nowaczyk**, K. Kulig; "Antiarrhythmic and antioxydant activity of novel pirolidyne-2-one derivatives with adrenolytic properties", Naunyn-Schmiedeberg Archives of Pharmacology 2011, 383:13–25

Czasopismo umieszczone na Liście Filadelfijskiej, wskaźnik Impact Factor ISI: 2.647
Punktacja ministerstwa: 27.000

- 7) **A. Nowaczyk**, J. Nowaczyk, T. Ligor, B. Buszewski; "Application of computational chemistry in characterization of solid phase microextraction fibers for selective sorption of drugs", QSAR Comb. Sci. 2009, 28 (11-12), 1255 - 1262

Czasopismo umieszczone na Liście Filadelfijskiej, wskaźnik Impact Factor ISI: 3.027
Punktacja ministerstwa: 24.000

Przedstawione osiągnięcie stanowi cykl badań składający się z dwóch głównych wątków skupionych w obszarze jednego typu aktywności biologicznej:

1. Badania i analiza metodami chemii obliczeniowej nad grupą pochodnych N-(arylopiperazynylo-propylo)pirolidyn-2-onu o wykazanej aktywności α_1 -adrenolitycznej i przeciwartymicznej.
2. Wyznaczenie modelu mechanizmu sorpcji wybranych leków przeciwartymicznych na powierzchni warstw polipirolowych wykorzystywanych jako pokrycie włókien w procesie mikroekstrakcji do ciała stałego.

Choroby układu krążenia stały się w ostatnich dziesięcioleciach najważniejszym problemem zdrowotnym wielu społeczeństw. Doniesienia kliniczne oraz różnorodne prognozy epidemiologiczne wskazują na silną tendencję zwykłą w tym typie chorób. Mając na uwadze to, że liczba nowych preparatów wykorzystywanych w terapii chorób układu krążenia stale wzrasta, przy jednocześnie niezadowalających efektach leczenia, każda próba wyjaśnienia natury działania związków bioaktywnych w układzie sercowo-naczyniowym wydaje się ważna i potrzebna. Odrębnym, niemniej istotnym, zagadnieniem badawczym jest rozwijanie metod analitycznych umożliwiających precyzyjną

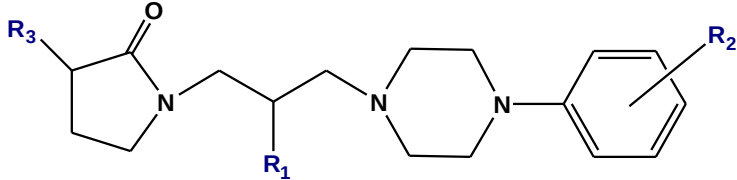
i wiarygodną ocenę stężenia leków w płynach ustrojowych (surowica, osocze, krew) pacjenta. Z punktu widzenia oceny biofarmaceutycznej leków zagadnienie to jest kluczowe w ilościowym opisie dostępności biologicznej substancji czynnej. Z tego względu wydaje się racjonalnym podjęcie próby opisu, na poziomie molekularnym, procesów decydujących o przydatności danej metody analitycznej do analizy określonych leków i ich metabolitów. Znalezienie chociażby częściowego wyjaśnienia czy poszerzenie naszej wiedzy odnośnie zagadnień skupionych wokół tego typu farmakoterapii na poziomie molekularnym wydaje się mieć istotne znaczenie nie tylko poznawcze, ale również praktyczne. O aktualności przedstawionych do oceny osiągnięć świadczą uzyskane nagrody:

- 24.09.2010 **Zespołowa Nagroda Ministra Zdrowia** za cykl 9 publikacji dotyczących badań farmakochemicznych oraz farmakologicznych pochodnych pirolidyn-2-onu o działaniu krążeniowym;
- 14.11.2011 **Zespołowa Nagroda Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu** (II stopnia) za osiągnięcia uzyskane w dziedzinie naukowo-badawczej w 2010 roku.

Ad 1.

W związku z doniesieniami w piśmiennictwie dotyczącymi: epidemiologii chorób układu krążenia, rozwoju wiedzy na temat receptorów α_1 -AR i zaburzeń rytmu pracy serca oraz ze względu na wykazaną aktywność farmakologiczną (przeciwwarytmiczną, adrenolityczną oraz hipotensyjną) pochodnych N-(arylopiperazynylopropylo)pirolidyn-2-onu, uzasadnione jest rozwinięcie badań w tej grupie związków. Grupa analogów N-(arylopiperazynylo-propylo)pirolidyn-2-onu charakteryzuje się zróżnicowanymi właściwościami farmakologicznymi. Dlatego zasadne jest sformułowanie modeli teoretycznych wiążących różne typy aktywności biologicznej ze strukturą molekularną pochodnych N-(arylopiperazynylopropylo)pirolidyn-2-onu w oparciu o metody obliczeniowe. W poszukiwaniu nowych związków o potencjalnym działaniu przeciwwarytmicznym poprzez receptory adrenergiczne w zespole kierowanym przez prof. dr hab. Barbarę Malawską otrzymano grupę analogów struktury pochodnych N-(arylopiperazynylopropylo)-pirolidyn-2-onu (tabela I). Syntezy były przeprowadzone w Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie w Katedrze Chemii Farmaceutycznej, w Zakładzie Fizykochemicznej Analizy Leku Wydziału Farmaceutycznego. Otrzymane pochodne arylopiperazyny zostały przebadane pod kątem spodziewanych właściwości farmakologicznych (tabela I). Badania farmakologiczne przeprowadzono w grupach kierowanych przez prof. dr hab. Barbarę Filipek oraz prof. dr hab. Gabriela Nowaka w Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, w Katedrze Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego.

Tabela I. Schemat struktury pochodnych N-(arylopiperazynylopropylo)pirolidyn-2-onu wraz z wyszczególnieniem podstawników. α_1 -AR oznacza powinowactwo do receptorów α_1 -AR ($-\log K_i$, μM), $-\log ED_{50}$ - ujemny logarytm ED_{50} (mM/kg)

					
związek	α_1 -AR	$-\log ED_{50}$	R_1	R_2	R_3
1	6,25	2,01	H	H	H
2	6,81	1,79	H	2-OMe	H
3	7,13	1,80	H	2-Cl	H

4	6,73	1,54	H	2-F	H
5	7,09	2,52	H	2-OEt	H
6	7,05	n/a	H	2-Me	H
7	6,30	n/a	H	3-OMe	H
8	6,61	n/a	H	3-Cl	H
9	6,21	n/a	H	4-Cl	H
10	6,06	1,45	H	3-CF ₃	H
11	6,79	1,36	H	2-OH	H
12	5,33	n/a	H	2-CF ₃	H
13	5,29	n/a	H	4-OMe	H
14	5,59	n/a	H	4-OH	H
15	6,30	n/a	H	2,4-diF	H
16	6,94	n/a	H	2-OMe, 5-Cl	H
17	6,37	n/a	H	3-OH	H
18	5,96	1,58	H	^[a]	H
19	5,54	1,43	OH	^[b]	H
20	5,59	1,40	OH	4-Cl	H
21	6,57	2,10	OH	2-Cl	H
22	5,88	1,62	O(CO)Me	2-Cl	H
23	5,77	1,79	OH	2-F	H
24	5,36	1,64	OH	3-OMe	H
25	6,15	1,97	OH	2-OEt	H
26	6,00	1,55	OH	2-Me	H
27	5,41	n/a	^[c]		
28	6,71	2,23	OH	2-OH	H
29	6,26	1,77	OH	2-OiPr	H
30	5,70	1,31	OH	2-CF ₃	H
31	6,14	1,54	OH	2,4-diF	H

32	6,46	1,48	OH	2-OMe, 5-Cl	H
33	4,63	n/a	OH	3-OH	H
34	6,80	2,37	OH	2-OMe	3,3-diPh
35	5,89	2,13	OH	2-CF ₃	3,3-diPh
36	6,69	2,53	OH	2-Me	3,3-diPh
37	7,28	2,66	OH	2-OEt	3,3-diPh
38	6,74	2,38	OH	H	3,3-diPh
39	5,68	n/a	OH	4-F	3,3-diPh
40	5,30	n/a	OH	4-OMe	3,3-diPh
41	5,72	1,60	OH	H	H
42	4,17	n/a	OMe	H	H
43	5,82	1,74	OH	^[a]	H
44	6,26	1,77	O(CO)nPr	2-OiPr	H
45	6,75	1,43	O(CO)Me	2-OMe	H
46	5,46	1,92	O(CO)NHEt	2-OMe	H
47	5,43	2,19	O(CO)NHiPr	2-OMe	H
48	5,49	n/a	O(CO)NHnB	2-OMe	H
49	5,39	1,52	O(CO)NHnPr	2-OMe	H
50	5,91	2,00	O(CO)NHiPr	2-Cl	H
51	5,33	1,88	O(CO)NHiPr	H	H
52	4,35	1,52	O(CO)NHnPr	H	H
53	5,47	1,47	O(CO)NHnB	H	H
54	6,10	1,66	O(CO)NHEt	H	H
55	4,95	n/a	OH	4-OH	H
56	4,07	n/a	OH	4-OMe	H
57	5,89	1,43	OH	2-OMe	H
58	6,60	n/a	OH	3-Cl	H
59*	n/a	n/a	OH	2-OH	3,3-diPh

60*	5,83	n/a	OH	H	3-Ph
61*	n/a	n/a	OH	H	3-Me, 3-Ph
62*	5,79	1,50	OH	H	3-Et, 3-Ph
63*	6,43	1,63	OH	H	3-nPr, 3-Ph
64*	6,23	1,61	OH	H	3-iPr, 3-Ph
65*	6,36	1,79	OH	[a]	3-Ph
66*	5,85	n/a	OH	[a]	3-Me, 3-Ph
67*	n/a	n/a	OH	[a]	3-Et, 3-Ph
68*	n/a	1,50	OH	[a]	3-nPr, 3-Ph
69*	6,05	n/a	OH	[a]	3-iPr, 3-Ph
urapidy I	6,89				

n/a brak aktywności związku

[a] fragment arylopiperazynowy zamieniono na 4-fenylpiperidynę

[b] 3-[4-(2-metoksyfenylo)piperazin-1-yl]propylo]pirolidyna

[c] fragment arylopiperazynowy zamieniono na 4-benzhydrylpiperazin-1-yl

* - układy zsyntezowano i wykonano dla nich badania farmakologiczne po wyznaczeniu teoretycznych modeli QSAR oraz ISAR

W tej grupie osiągnęć moje badania obejmowały wyznaczenie i potwierdzenie stabilności geometrii trójwymiarowych struktur dla grupy pochodnych N-(arylopiperazynylopropylo)pirolidyn-2-onu. Wyznaczenie orbitali molekularnych oraz dystrybucję ładunku dla cząsteczek tej grupy pochodnych. Badania te przeprowadzono wykorzystując programy Gaussian, GaussView 4.1. Następnie, opierając się na otrzymanych geometriach analizowanych pochodnych, wyznaczono parametry opisujące właściwości fizykochemiczne i strukturalne poszczególnych analogów wykorzystując oprogramowanie Talete srl, DRAGON for Windows Version 5.5 – 2007. Uzyskane w ten sposób dane wykorzystano w analizach dla zbioru 69 związków obejmujących badania:

- (1) ilościowej zależności pomiędzy strukturą pochodnych pirolidyn-2-onu a powinowactwem do receptorów α_1 -AR;
- (2) ilościowej zależności pomiędzy strukturą pochodnych pirolidyn-2-onu a aktywnością przeciwartmicyjną;
- (3) oceny spektrum bioaktywności w oparciu o system PASS;
- (4) zależności pomiędzy strukturą pochodnych pirolidyn-2-onu a powinowactwem do receptorów α_1 -AR oraz aktywnością przeciwartmicyjną metodą analizy odwróconej (ISAR).

Wszystkie badania prowadzono w seriach pochodnych N-(arylopiperazynylopropylo)pirolidyn-2-onu o wykazanej aktywności α_1 -AR oraz przeciwartmicyjnej, jakie były dostępne w czasie prowadzonych analiz. Pozostałe związki zsyntezowano i przeprowadzono dla nich badania farmakologiczne po

wyznaczeniu modeli QSAR i następnie użyto ich w analizach jako serii pochodnych niezależnych od generowania modelu w testach typu EXT. Godnym podkreślenia jest fakt, że w prowadzonych analizach wyznaczono i użyto duże zbiory deskryptorów (łącznie ustalono 3224 parametrów). Przeprowadzone studia danych w piśmiennictwie wskazują, że w tym typie aktywności biologicznej jest to jedyna tego typu aplikacja metody QSAR. W trakcie realizacji badań przeprowadzono ocenę trafności uzyskanych modeli matematycznych porównując obliczone i uzyskane doświadczalnie wartości aktywności biologicznej z odpowiednimi parametrami wyznaczonymi dla ligandów, które nie zostały wykorzystane w definiowaniu modeli. Uzyskane wartości odpowiednich współczynników trafności wskazały, że możliwe jest zastosowanie modeli do przewidywania powinowactwa do receptorów α_1 -AR oraz aktywności przeciwartymicznej.

Ad (1)

A. Nowaczyk, K. Kulig, B. Malawska; "1-(3-(4-arylpiperazin-1-yl)propyl)pyrrolidin-2-one derivatives as α_1 -adrenoceptor antagonists: a QSAR studies", QSAR Comb. Sci. 2009, 28 (9), 979-988

K. Kulig, J. Sapa, **A. Nowaczyk**, B. Filipek, B. Malawska, "Synthesis, pharmacological evaluation of new 1-[3-(4-phenyl-piperazin-1-yl)-propyl]- and 1-[3-(4-phenyl-piperidine)-propyl]- 3-aryl-3-alkyl-pyrrolidin-2-one derivatives with antiarrhythmic, antihypertensive activity", Acta Pol. Pharm. 2009, 66 (6), 649-662

W pierwszym etapie badań postanowiono poszukać ilościowego opisu zależności pomiędzy strukturą badanych związków a powinowactwem do receptorów α_1 -AR. Badania te wykonano dla serii 49 związków, tj. **1, 2, 4-18, 20, 23, 25-41, 43, 44, 46-51, 53, 55-58**. Losowo dokonano doboru podziału serii związków na zbiór modelowy ($N_{TS} = 44$, związki: **1, 2, 4, 5, 7-11, 13-18, 20, 23, 25-41, 43, 44, 46-51, 53, 57**) oraz walidacyjny ($N_{EXT} = 5$, związki: **6, 12, 55, 56, 58**). W oparciu o metodę wielorakiej regresji liniowej (*Multiple Linear Regression*, MLR) wyznaczono model QSAR przez wykorzystanie oprogramowania Statistica w postaci równania:

$$\begin{aligned} \alpha_1\text{-AR} = & 28.763(\pm 2.022) \text{ PCR} + 15.619(\pm 3.263) \text{ HATS1m} + 2.221(\pm 0.662) \text{ E2m} \\ & + 0.157(\pm 0.028) \text{ RDF095p} - 0.156(\pm 0.017) \text{ Qindex} - 0.013(\pm 0.004) \text{ T(O..O)} \\ & - 0.005(\pm 0.002) \text{ T(N..F)} - 29.706 (\pm 2.468) \end{aligned} \quad (1)$$

Przeprowadzona analiza korelacji i regresji (w przedziale ufności $p < 0,05$) wykazała, że równanie (1) skorelowane jest ze współczynnikiem 0,94. Relacja ta zachowana jest przez około 88% związków zawartych w badanej grupie. Udowodniono, że otrzymany model nie jest obciążony błędem systematycznym. Przeprowadzona ocena trafności w oparciu o metody LOO, LMO wskazuje na około 84-86% trafności przewidywania powinowactwa do receptorów α_1 -AR w tej grupie związków. Na podstawie testów Y-wektor wykluczono możliwość losowego ustalenia istniejącej zależności regresyjnej. Wykonano także trzy niezależne testy EXT oceny trafności modelu. Zbiór 1 stanowiły związki: **6, 12, 55, 56, 57**. Dwa dodatkowe zbiory stanowiły nowo zsyntezowane związki, dla których przeprowadzono niezależne badania farmakologiczne. Zbiór 2 stanowiły układy zawierające arylopiperydyny: związki **60-64**, zaś zbiór 3 - układy zawierające arylopiperydyny: związki **65-69**. Uzyskane dla tych zbiorów wartości Q^2 wynosiły odpowiednio 0,79 oraz 0,50 oraz 0,30, co potwierdza wysoką przydatność uzyskanego modelu do przewidywania powinowactwa do receptorów α_1 -AR dla grupy arylopiperydyn.

Zgodnie z chemiczną teorią grafów, wzory strukturalne związków chemicznych można przedstawić jako grafy molekularne, w których wierzchołki opisują atomy, a krawędzie wiązania kowalencyjne. Grafem G nazywamy strukturę $G = (V, E)$ składającą się z dwóch zbiorów: zbioru wierzchołków V oraz zbioru krawędzi E , przy czym każda krawędź zbioru związana jest z parą dwóch wierzchołków ze zbioru V . $V = \{v_1, v_2, \dots, v_n\}$, natomiast $V \otimes V$ jest zbiorem kartezjańskim wszystkich par elementów zbioru V ($e_{ij} = (v_i, v_j)$ dla pary wierzchołków i oraz j), a $E \subset V \otimes V$ jest więc pewnym jego podzbiorem. Każdy graf molekularny można zamienić na macierz sąsiedztwa lub na macierz odległości, zaś uzyskane macierze służą do obliczenia deskryptorów molekularnych. Parametry

występujące w równaniu (1) są to tzw. deskryptory strukturalne, definiowane przez macierze sąsiedztwa (macierz A) lub na macierze odległości (macierz D). Na podstawie uzyskanych wyników udowodniono, że powinowactwo badanych związków do receptorów α_1 -AR zależy głównie od parametrów geometryczno-topologiczno-strukturalnych. Tabela II przedstawia podsumowującą charakterystykę parametrów występujących w ilościowym modelu matematycznym.

Tabela II. Deskryptory molekularne determinujące powinowactwo do receptorów α_1 -AR (równanie (1))

deskryptor molekularny	blok logiczny deskryptorów molekularnych	charakterystyka parametru	kierunek zmian wartości deskryptora molekularnego
PCR	liczba spacerów i ścieżek (Walk i path counts)	charakteryzuje kształt i rozmiar molekuly	↑
Qindex	parametry topologiczne cząsteczki	określa walencyjność atomów tworzących cząsteczkę	↓
HATS1m	podobieństwa geometrii, topologii i masy atomowej (GETAWAY)	określa podobieństwa geometrii, topologii i masy atomowej	↑
E2m	ważone całościowo prawidłowości cząsteczkowe (kaprys) deskryptorów (WHIM)	kwantyfikuje informacje o rozmiarze molekuł, kształcie, symetrii oraz rozkładzie atomów	↑
RDF095p	radialna funkcja dystrybucji (RDF)	oszacowuje rozkład prawdopodobieństwa znalezienia atomu w sferycznej objętości o promieniu R	↑
T(O...O)	parametry topologiczne cząsteczki	określa sumę odległości topologicznych między atomami tlenu w cząsteczce	↓
T(N...F)	parametry topologiczne cząsteczki	określa sumę odległości topologicznych między atomami azotu i fluoru w cząsteczce	↓

↑ - preferowane wyższe wartości liczbowe parametru

↓ - preferowane niższe wartości liczbowe parametru

Szczegółowa analiza statystyczna równania (1) wskazuje, że najistotniejszymi parametrami są: PCR i Qindex (tabela III, $|BETA| > 1$). Sugeruje to, że determinującymi cechami strukturalnymi w tym typie aktywności jest budowa przestrzenna oraz walencyjność atomów tworzących ligand.

Table III. Wyniki wielorakiej regresji liniowej dla modelu (1)

	BETA	RMSE	B	RMSE	t(35)	p
		(BETA)		(B)		
Wyraz wolny			-29,7060	2,468174	-12,0356	0,000000
PCR	1,38279	0,097195	28,7635	2,021763	14,2269	0,000000
Qindex	-1,23284	0,136532	-0,1560	0,017279	-9,0297	0,000000
HATS1m	0,45262	0,094563	15,6194	3,263301	4,7864	0,000031
RDF095p	0,75620	0,128502	0,1575	0,026772	5,8847	0,000001
T(O..O)	-0,30702	0,091825	-0,0129	0,003856	-3,3436	0,001981
E2m	0,25278	0,075337	2,2215	0,662081	3,3553	0,001919
T(N..F)	-0,18923	0,085504	-0,0047	0,002127	-2,2131	0,033505

Parametr PCR w badanym zbiorze ligandów zmienia się od 1,182 (związek **53**, $R_1 = O(CO)NHnB$ i $R_2 = R_3 = H$) do 1,309 (związek **37**, $R_1 = OH$, $R_2 = 2-OEt$ i $R_3 = 3,3-diPh$). Znak współczynnika BETA jest dodatni, co sugeruje, że dla aktywności biologicznej korzystne są struktury o większych rozmiarach. Z drugiej jednak strony BETA dla parametru Qindex ma znak ujemny, co wskazuje, że niekorzystne dla tej aktywności jest dołączanie dużej liczby podstawników. Zatem zwiększenie rozmiaru molekuly poprzez dodawanie wielu podstawników prawdopodobnie nie spowoduje wzrostu aktywności biologicznej. Pozostałe 5 deskryptorów można zgrupować w zależności od znaku BETA na dwie grupy. Pierwsza grupa znak "+" BETA: to HATS1m, RDF095p, E2m, druga "-" BETA: to T(O..O) i T(N..F). Deskryptory pierwszej grupy należą do 3 różnych bloków logicznych. Parametr HATS wyliczany jest na podstawie autokorelacji cech przestrzennych bazując na grafie 3D uwzględniającym atomy wodoru. Z tego powodu jest szczególnie istotny w analizach podobieństwa/różnorodności serii cząsteczek. HATS1m dotyczy atomów bezpośrednio połączonych dostarczając informacji o strukturalnych fragmentach związku poprzez dystrybucję masy w przestrzeni topologicznej molekuł. Parametr RDF095p wskazuje, że w kuli o promieniu 9,5 Å powinno być wysokie prawdopodobieństwo występowania atomu. Parametr E2m opisuje rozkład całkowitej gęstości atomowej (ważony po masie) wzdłuż głównej osi molekularnej. Sumarycznie więc ta grupa parametrów wiąże się z dystrybucją masy w obrębie molekuly. Druga grupa deskryptorów wskazuje, że dla zwiększenia powinowactwa do receptorów α_1 -AR korzystna jest obecność atomów tlenu, azotu czy fluoru (deskryptory T(O..O) and T(N..F)). Postulować więc można, że korzystna jest obecność podstawników o charakterze silnie elektroujemnym. Znak minus parametru BETA sugeruje, że sumy topologicznych odległości w parze (O..O) i (N..F) nie powinny być duże. Oznacza to, że topologicznie odpowiednie pary atomów powinny być blisko zlokalizowane. Ponieważ bazową strukturą analizowanej serii analogów jest N-(arylopiperazynylopropylo)pirolidyn-2-on, to z uwagi na aktywność biologiczną wnioskować można, że:

- preferowanym położeniem drugiego atomu tlenu jest R_1 we fragmencie propylowym (tabela I);
- korzystnym miejscem położenia atomu fluoru (bądź innego układu silnie elektroujemnego) jest pozycja R_2 we fragmencie arylopiperazynowym (tabela I).

Niemniej jednak, ze względu na stosunkowo niskie wartości liczbowe współczynników |BETA|, deskryptory: HATS1m, RDF095p, E2m, T(O..O), T(N..F) nie stanowią głównej grupy determinantów powinowactwa do receptorów α_1 -AR.

Ad (2)

A. Nowaczyk, K. Kulig; "QSAR studies on a number of pyrrolidin-2-one antiarrhythmic arylpiperazinyls", Med. Chem. Res. 2012, 21, 373-381

W kolejnym etapie badań postanowiono poszukać ilościowego opisu zależności pomiędzy strukturą a aktywnością przeciwartymiczną (AA) badanych pochodnych pirolidyn-2-onu. Badania te wykonano dla serii 33 związków, tj. **1-5, 10, 11, 20, 23-26, 28-32, 34-38, 41, 44, 46, 47, 49-54, 57**. Losowo dokonano doboru podziału serii związków na zbiór modelowy ($N_{TS} = 25$, związki: **2, 4, 5, 10, 11, 23-26, 28-31, 34-36, 38, 44, 46, 49, 50, 52-54, 57**) oraz walidacyjny ($N_{TS} = 8$, związki: **1, 3, 20, 32, 37, 41, 47, 51**). W oparciu o metodę MLR wyznaczono model QSAR przez wykorzystanie oprogramowania Statistica w postaci równania:

$$AA = -60,167(\pm 13,005) JGI4 + 12,334(\pm 3,841) PCR + 0,986(\pm 0,213) Hy - 20,110(\pm 6,072) \quad (2)$$

Przeprowadzona analiza korelacji i regresji (w przedziale ufności $p < 0,01$) wykazała, że równanie (2) skorelowane jest ze współczynnikiem 0,95. Relacja (2) zachowana jest przez około 90% związków zawartych w badanej grupie. Udowodniono, że otrzymany model nie jest obciążony błędem systematycznym. Ocenę trafności uzyskanego modelu przeprowadzono w oparciu o 4 procedury: LOO, LMO, EXT oraz Y-wektor. Wyniki metod LOO, LMO wskazują na około 74% trafność przewidywania aktywności przeciwartymicznej w tej grupie związków. Poprzez testy Y-wektor (średnie wartości współczynników w 10 iteracji wynosiły odpowiednio: $R^2_Y = 0,074$, $Q^2_Y = 0,022$) wykluczono możliwość losowego ustalenia otrzymanej zależności regresyjnej. Elementy testu EXT oceny trafności modelu tworzyły związki: **1, 3, 20, 32, 37, 41, 47, 51**. Uzyskana wartość $Q^2_{EXT} = 0,86$ świadczy o wysokiej przydatności uzyskanego modelu do przewidywania aktywności przeciwartymicznej tej grupy związków.

Odkreślono, że aktywność przeciwartymiczna jest skorelowana zarówno z parametrami geometryczno-topologiczno-strukturalnymi, jak też z właściwościami fizykochemicznymi badanej serii analogów. W tabeli IV zestawiono zwięzłe objaśnienie parametrów występujące w ilościowym modelu matematycznym dla aktywności przeciwartymicznej (równanie (2)).

Tabela IV. Deskryptory molekularne determinujące aktywność przeciwartymiczną (równanie (2))

deskryptor molekularny	blok deskryptorów molekularnych	logiczny	charakterystyka parametru	kierunek wartości deskryptora molekularnego	zmian liczbowej
PCR	liczba spacerów i ścieżek (<i>Walk i path counts</i>)		charakteryzuje kształt i rozmiar molekuly	↑	
JG4I	indeksy molekularne rozkładu ładunków cząstkowych		określa całkowity rozkład ładunku w molekule wyznaczony poprzez oddziaływanie ładunków poszczególnych atomów ją tworzących	↓	
Hy	molekularne właściwości fizykochemiczne		określenie hydrofilowości	↑	

↑ - preferowane wyższe wartości liczbowe parametru

↓ - preferowane niższe wartości liczbowe parametru

Szczegółowa analiza statystyczna równania wskazuje, że najistotniejszymi parametrami są: PCR (tabela V $|BETA| > 1$) oraz JGI4 (tabela V $|BETA| \approx 0,9$). Podobnie jak w pierwszym typie aktywności, uzyskany model wskazuje determinujący charakter cech geometryczno-topologiczno-strukturalnych. Dodatni znak BETA przy parametrze PCR sugeruje, że układy o rozbudowanych strukturach przestrzennych charakteryzuje wzrost aktywności przeciwartymicznej. Dla tego typu aktywności biologicznej występuje silna korelacja ze wskaźnikami rozkładu ładunków cząstkowych (JGI4). Ujemny znak współczynnika BETA przy parametrze JGI4 wskazuje, że zmniejszenie wartości parametru koreluje się ze zwiększeniem aktywności przeciwartymicznej.

Table V. Wyniki wielorakiej regresji liniowej dla modelu (2)

	BETA	RMSE (BETA)	B	RMSE (B)	t(14)	p
wyraz wolny			-20,1101	6,07174	-3,31209	0,005137
JGI4	-0,870898	0,188244	-60,1674	13,00513	-4,62644	0,000392
PCR	1,026828	0,319750	12,3345	3,84092	3,21134	0,006277
Hy	0,604621	0,130843	0,9856	0,21329	4,62095	0,000396

Ostatnim parametrem występującym w równaniu (2) jest Hy, czyli hydrofilowość. Znak współczynnika BETA wskazuje, że wzrost wartości parametru Hy skutkuje wzrostem aktywności przeciwartymicznej. Wskazuje to więc, że ligandy aktywne przeciwartymicznie powinny mieć charakter hydrofilowy. Niemniej jednak wartość $|BETA| = 0,6$ sugeruje, że nie jest to główna cecha determinująca ten typ aktywności biologicznej.

Ad(3)

J. Sapa, **A. Nowaczyk**, K. Kulig; "Antiarrhythmic and antioxydant activity of novel pirolidyne-2-one derivatives with adrenolitic properties", Naunyn-Schmiedeberg Archives of Pharmacology 2011, 383:13–25

Doniesienia w piśmiennictwie wskazują, że do wyznaczenia wartości liczbowej prawdopodobieństwa wystąpienia określonego typu aktywności (lub jej braku) w systemie PASS wystarczy wykorzystanie dwóch typów deskryptorów atomów sąsiadujących (odpowiednio MNA/1 oraz MNA/2). Stanowi to istotną zaletę systemu. Rutynowo równania wiążące aktywność ze strukturą są relacją matematyczną wiążącą od kilku różnorodnych deskryptorów, jak w przypadku metody QSAR do nawet kilkuset, jak ma to miejsce w przypadku metod CoMFA i CoMSIA. Godnym podkreślenia jest fakt, że w przeciwieństwie do metod typu QSAR, CoMFA i CoMSIA system PASS na podstawie podanego wzoru strukturalnego związku przewiduje jednocześnie kilkanaście rodzajów jego aktywności biologicznej. Uwidacznia to wielotypowy profil aktywności biologicznej związku, którego rozpoznanie na bazie metod QSAR, CoMFA, CoMSIA jest trudne lub niemożliwe. Analizy metodami QSAR, CoMFA, CoMSIA ograniczają się do jednego typu aktywności biologicznej. Doniesienia w piśmiennictwie wskazują na porównywalne miary uzyskiwanych wartości parametrów statystycznych w badaniach zależności struktura związku a działanie nasercowe z wykorzystaniem deskryptorów MNA oraz rutynowo wykorzystywanych w analizach QSAR/CoMFA/CoMSIA. W ostatnich latach na gruncie metod biologii molekularnej wykazano, iż analizowane typy aktywności są bezpośrednio powiązane (poprzez potwierdzenie występowania receptorów α_1 -AR w zdrowym oraz

chorym sercu ludzkim oraz ich funkcji). Ponadto w trakcie realizacji badań obejmujących cały projekt badawczy zainicjowano poszerzenie panelu testów farmakologicznych o badania w modelu poreperfuzyjnych zaburzeń rytmu izolowanego serca szczura. Z powyższych powodów dla 17 pochodnych przeprowadzono ocenę bioaktywności w oparciu o system PASS. Bezpośrednim celem zaprezentowanej analizy PASS było uzyskanie odpowiedzi na następujące pytania farmakologów i syntetyków: (1) W jakiej mierze badane struktury są podobne do znanych substancji aktywnych w układzie krążenia? (2) Czy racjonalnym będzie przeprowadzenie badań aktywności przeciwaritmicznej w modelu poreperfuzyjnych zaburzeń rytmu serca? (3) Który związek z badanej grupy ma największą szansę potwierdzenia aktywności przeciwaritmicznej w rzeczywistym badaniu farmakologicznym?

Biorąc pod uwagę potwierdzoną badaniami farmakologicznymi aktywność adrenolityczną dla 17 pochodnych: (1, 3, 5, 6, 23, 28, 29, 34, 35, 37, 38, 43, 46, 47, 50, 51, 59, tabela I), przeprowadzono ocenę bioaktywności w oparciu o system PASS. Analizowano aktywności struktur, dla których $P_a > 0,5$. W analizie danych uwzględniono także mechanizmy molekularne działania związków. Spośród całego wyznaczonego widma rozwiązań wybrano następujące typy działania biologicznego: tachykardia, niedokrwienie, aktywność przeciwaritmiczna, naserkowa. Uzyskane wartości P_a i P_i dla tej grupy układów prezentuje tabela VI. Przeprowadzona analiza w oparciu o komputerowy system równoległej oceny aktywności PASS wykazała, że analizowane związki posiadają połączenia o strukturze zbliżonej do struktur znanych substancji aktywnych.

Tabela VI. Oszacowane wartości prawdopodobieństwa wystąpienia aktywności lub molekularnego mechanizmu działania badanych związków wyznaczone za pomocą programu PASS

związek	tachykardia ^(a)		niedokrwienie ^(a)		działanie naserkowe ^(b)		przeciwaritmiczne ^(b)	
	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i
51			0,664	0,020				
46			0,604	0,033	0,532	0,005		
47			0,631	0,027	0,595	0,005		
50			0,663	0,020	0,502	0,005		
23	0,603	0,066	0,704	0,015	0,909	0,004	0,780	0,004
28	0,528	0,107	0,737	0,012	0,892	0,004	0,614	0,005
1	0,609	0,059	0,589	0,038	0,985	0,004	0,928	0,004
29			0,634	0,026	0,980	0,004	0,911	0,004
3	0,546	0,096	0,599	0,035	0,987	0,003	0,934	0,003
5	0,618	0,054	0,565	0,046	0,982	0,003	0,923	0,004
6	0,537	0,102	0,546	0,052	0,960	0,004	0,874	0,004
34	0,588	0,070	0,565	0,046	0,938	0,004	0,836	0,004
35	0,757	0,019	0,633	0,026				

59	0,633	0,047	0,572	0,043			0,600	0,006
37	0,725	0,023	0,580	0,041	0,709	0,004	0,709	0,004
38	0,713	0,025	0,601	0,034			0,575	0,008
43	0,670	0,035	0,612	0,031			0,705	0,004

Pa - wartość liczbowa oszacowanego prawdopodobieństwa aktywności/molekularnego mechanizmu działania,

Pi - wartość liczbowa oszacowanego prawdopodobieństwa braku aktywności/molekularnego mechanizmu działania,

^(a) prawdopodobieństwo wystąpienia danego typu aktywności biologicznej,

^(b) prawdopodobieństwo wystąpienia danego molekularnego mechanizmu działania związku.

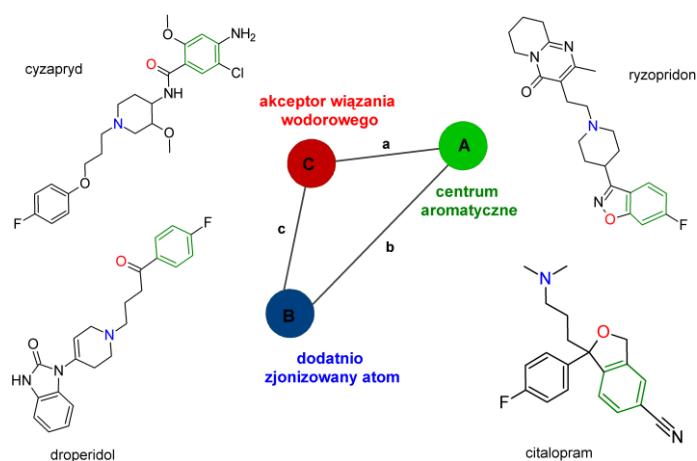
W badanej grupie związków program przewidywał wysokie prawdopodobieństwo wystąpienia aktywności w tachykardii: dla układów: **35**, **37**, **38**, w niedokrwieniu dla układów: **23**, **28**. PASS wskazywał mechanizm molekularny działania o profilu przeciwaritmicznym dla układów: **1**, **29**, **3**, **5** czy nasercowym dla układów: **29**, **6**, **34**. Dla tej grupy związków wykonano badania farmakologiczne określające nasilenie zaburzeń rytmu, właściwości antyoksydacyjne oraz profilaktyczną aktywność przeciwaritmiczną. Eksperymentalne dane farmakologiczne potwierdziły aktywność w tachykardii dla układów: **5**, **3**, **28**, **37**, **38**. Wśród przebadanych układów, **28** (1-[2-hydroksy-3-(4-(2-hydroksyfenylo)piperazin-1-ylo)propylo]pirolidyn-2-on) charakteryzował się najlepszym profilem działania nasercowego (tachykardia, przeciwaritmia, właściwości przeciwutleniające) w stanie niewydolności. Analiza w oparciu o PASS wskazała, że związki **23** i **28** potencjalnie aktywne w stanach niedokrwienia zawierają fragmenty strukturalne obecne w strukturach znanych substancji o działaniu krążeniowym. Między sobą cząsteczki te różnią się podstawnikiem w pozycji *orto* w terminalnym fragmencie arylowym (dla **23** jest to F, **28** grupa OH). Sugeruje to, że charakter podstawnika arylowego jest determinujący dla aktywności krążeniowej w stanach niedokrwienia mięśnia sercowego dla tej grupy pochodnych. Jak wiemy, podstawniki w centrum aktywnym mogą wpływać na reaktywność w dwojaki sposób: poprzez efekty steryczne oraz efekty elektronowe. Efekty steryczne - czyli efekty zawady przestrzennej, mogą zwiększać stopień zatłoczenia w obrębie centrum aktywnego utrudniając dostęp czynnika oddziałującego. Niemniej jednak omawiane fragmenty aryłowe to układy płaskie. Zastąpienie atomu fluoru atomem tlenu w aspekcie budowy przestrzennej układu powoduje niewielkie zmiany (promień van der Waals dla: F $r \approx 1,47 \text{ \AA}$ oraz O $r \approx 1,52 \text{ \AA}$). Druga grupa efektów to efekty elektronowe odpowiednio zwiększające lub zmniejszające gęstość ładunku w centrum aktywnym. Jak wiemy, grupy halogenowe i hydroksylowe wyciągają elektrony z pierścienia w sposób indukcyjny, jak również dostarczają elektronów na pierścień w wyniku rezonansu. Fluor wykazuje silniejszy efekt indukcyjny i tym samym jest dezaktywatorem pierścienia. Natomiast grupa hydroksylowa wykazuje silniejszy efekt rezonansowy i tym samym jest aktywatorem pierścienia. Zastąpienie atomu fluoru w aryłu grupą OH powoduje wprowadzenie centrum akceptorowego wiązania wodorowego, jak również przyczynia się do wzrostu właściwości kwasowych układu. Skutkuje to istotnym zmniejszeniem lipofilowości układu (log P dla Ph-F wynosi 2,27, natomiast dla Ph-OH 1,51). Ponieważ w badaniach farmakologicznych potwierdzono aktywność dla związku zawierającego we fragmencie arylowym grupę OH, sugeruje to, że istotną cechą molekularną jest hydrofilowość układu oraz obecność podstawnika aktywującego pierścień aromatyczny.

Ad (4)

A. Nowaczyk, R. Przybylski, K. Kulig, B. Malawska; "Structure activity relationship studies of a number of α_1 -adrenoceptor antagonists and antiarrhythmic agents", Mol. Inf. 2010, 29 (4), 343-351

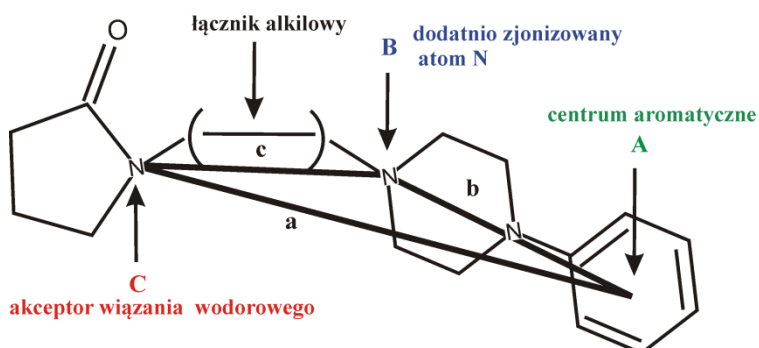
K. Kulig, J. Sapa, **A. Nowaczyk**, B. Filipek, B. Malawska; "Design, synthesis and pharmacological evaluation of new 1-[3-(4-Arylpiperazin-1-yl)-2-hydroxy-propyl]-3,3-diphenylpyrrolidin-2-one derivatives with antiarrhythmic, antihypertensive, and α -adrenolytic activity", Eur. J. Med. Chem 2009, 44, 3994-4003

Wyniki badań własnych uzyskane na gruncie metod ilościowych (QSAR, PASS) jednoznacznie wskazywały na konieczność pogłębienia analiz za pomocą technik o charakterze jakościowym. W licznych badaniach modelowych prowadzonych w oparciu o różnorodne struktury ligandów blokujących kanały hERG udowodniono, że punkty farmakoforowe zaproponowane przez Aronova i współ. (schemat 1) mają fundamentalne znaczenie dla tego typu aktywności biologicznej.



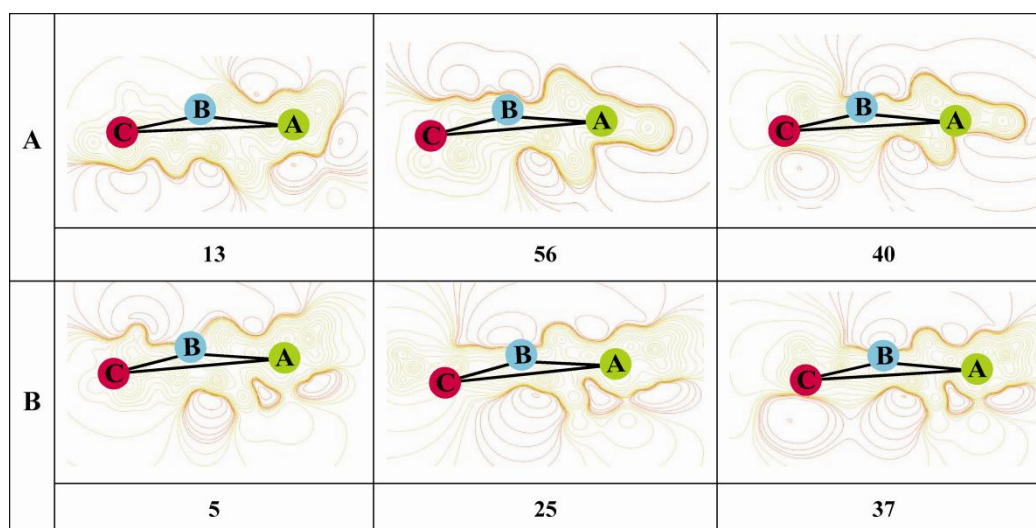
Schemat 1. Model farmakoforowy dla blokerów kanału hERG opracowany przez Aronova i współ.

Wstępne badania modelowe określające zależność aktywności α_1 -AR od struktury związków w badanej grupie pochodnych ujawniły taki sam zbiór cech farmakoforowych (schemat 2). Fakty te stały się inspiracją do przeprowadzenia szczegółowych analiz poszczególnych cech farmakoforowych w badanym zbiorze pochodnych. Badaniem tym objęto wszystkie zsyntezowane i przebadane pochodne, czyli związki: 1-57.



Schemat 2. Schemat modelu farmakoforowego dla antagonistów α_1 -AR opracowany dla pochodnych N-(arylopiperazynylopropylo)pirolidyn-2-onu.

Podstawowym celem analiz było poszukiwanie trendu zmian cech farmakoforowych w obu typach aktywności (α_1 -adrenolitycznej oraz przeciwartymicznej). Bazując na zoptymalizowanych geometriach, zmierzono wartości liczbowe poszczególnych cech farmakoforowych dla każdej analizowanej struktury. Porównanie wartości uzyskanych w prowadzonych analizach z danymi z piśmiennictwa wskazuje, że badana grupa pochodnych charakteryzuje się analogiczną specyfikacją odpowiednich cech farmakoforowych. Zaobserwowano, że układy wykazujące jednocześnie dwa typy aktywności cechowały raczej maksymalne wartości długości odcinków **a**, **b**, **c**. Brak możliwości jednoznacznego zdefiniowania współzależności pomiędzy tymi cechami farmakoforowymi i analizowanymi typami aktywności biologicznej przyczynił się do badań w kierunku analizy rozkładu gęstości ładunku elektrostatycznego w badanych związkach. Na podstawie danych obliczeniowych dotyczących rozkładu gęstości elektronowej w molekułę wyznaczono szczegółowy rozkład potencjału elektrostatycznego w bezpośrednim otoczeniu cząsteczki, który dalej zwizualizowano w formie map rozkładu ładunku w płaszczyźnie farmakofora. Na podstawie analiz współzależności aktywności biologicznej i określonych cech topologicznych rozkładu potencjału elektrostatycznego stwierdzono, że zasadnicze różnice w dystrybucji ładunku dotyczą różnorodnego sposobu rozkładu ładunku ujemnego (kolor czerwony). Wynikają one z heterogenicznego rozmieszczenia obiektów silnie elektroujemnych (atomy N, O, F, pierścień fenyłowy) w badanych związkach. W zależności od sposobu rozmieszczenia ładunku elektrostatycznego w płaszczyźnie farmakofora, badane związki mogą zostać sklasyfikowane do jednego z dwóch zbiorów przedstawionych na schemacie 3. Zbiór **A** obejmuje związki, dla których stwierdzono obecność wyraźnego rozległego obszaru ujemnego potencjału elektrostatycznego wokół fragmentu arylopiperazynowego. Natomiast zbiór **B** grupuje struktury, dla których stwierdzono istnienie wyraźnie zaznaczonego zielonego obszaru rozdziału płaszczyzny konturu ładunku ujemnego na dwa brzegowo zlokalizowane skupiska (kolor czerwony). Analizując te dwa wzorce rozkładu gęstości elektronowej w kontekście danych farmakologicznych tychże struktur, określono zależność jakościową. Związki, które charakteryzują się rozkładem umownie oznaczonym jako zbiór **A** charakteryzowały się niższą aktywnością przeciwartymiczną bądź jej całkowitym brakiem. Natomiast związki wykazujące aktywność przeciwartymiczną cechował rozkład ładunku oznaczony jako zbiór **B**. Szczegółowa analiza wszystkich map konturowych wskazywała na istnienie pewnej tendencji jakościowej w obrębie interesującej nas aktywności biologicznej. Zaobserwowano, że w związkach o wysokim powinowactwie do receptora α_1 -adrenergicznego, jak i aktywności przeciwartymicznej występuje charakterystyczny rozkład ładunku w płaszczyźnie farmakofora (schemat 3, zbiór **B**).



Schemat 3. Graficzna reprezentacja charakterystycznych map potencjałów elektrostatycznych wyznaczonych w płaszczyźnie farmakofora ABC w oparciu o metody chemii obliczeniowej w grupie pochodnych N-(arylopiperazynylopropylo)pirolidyn-2-onu. Zbiór **A**, obejmuje pochodne dla których aktywność przeciwartymiczna jest blokowana np. - związek **13** 1-[3-(4-(4-metoksyfenylo)piperazin-1-ylo)propylo]pirolidyn-2-on, związek **56** 1-[2-hydroksy-3-(4-(4-

metoksyfenylo)piperazin-1-ylo)propylo]pirolidyn-2-on, związek **40**, 1-[2-hydroksy-3-(4-(4-metoksyfenylo)piperazin-1-ylo)propylo]3,3-difenylpirolidyn-2-on. Zbiór **B** obejmuje pochodne aktywne przeciwartymicznie, np. - związek **5**, 1-[3-(4-(2-etoksyfenylo)piperazin-1-ylo)propylo]pirolidyn-2-on, związek **25**, 1-[2-hydroksy-3-(4-(2-etoksyfenylo)piperazin-1-ylo)propylo]pirolidyn-2-on, związek **37**, 1-[2-hydroksy-3-(4-(2-etoksyfenylo)piperazin-1-ylo)propylo]3,3-difenylpirolidyn-2-on.

Ad 2.

A. Nowaczyk, J. Nowaczyk, T. Ligor, B. Buszewski; "Application of computational chemistry in characterization of solid phase microextraction fibers for selective sorption of drugs", *QSAR Comb. Sci.* 2009, 28 (11-12), 1255 - 1262

Przedstawione osiągnięcie dotyczy problematyki oceny stężenia leków w płynach ustrojowych pacjenta. W zespole kierowanym przez prof. dr. hab. Bogusława Buszewskiego zainicjowano prace skupione wokół rozwoju metod analitycznych pozwalających ocenić stężenie leków w układzie krwionośnym pacjenta. Badania eksperymentalne prowadzono w UMK w Toruniu w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalitik Wydziału Chemii. Podstawową ideą badań była aplikacja metody mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) do oznaczenia stężenia leków przeciwartymicznych. Ogólnie mikroekstrakcja do fazy stałej polega na sorpcji składników roztworu złożonego na powierzchni określonego ciała stałego (sorbenta). W ten sposób określone składniki roztworu ulegają załężeniu, co pozwala po desorpcji na analizę ich stężeń standardowymi metodami chromatograficznymi. Ekstrakcję badanych leków prowadzono z wykorzystaniem SPME z sorbentem w postaci polipirołu napolimeryzowanego na powierzchni włókna metalicznego. Wyniki analizy stężeń leku w roztworze i fazie stałej w stanie równowagi (zarówno w procesie sorpcji, jak również w procesie desorpcji) były interpretowane (fitowane) za pomocą izotermy adsorpcji Langmuira.

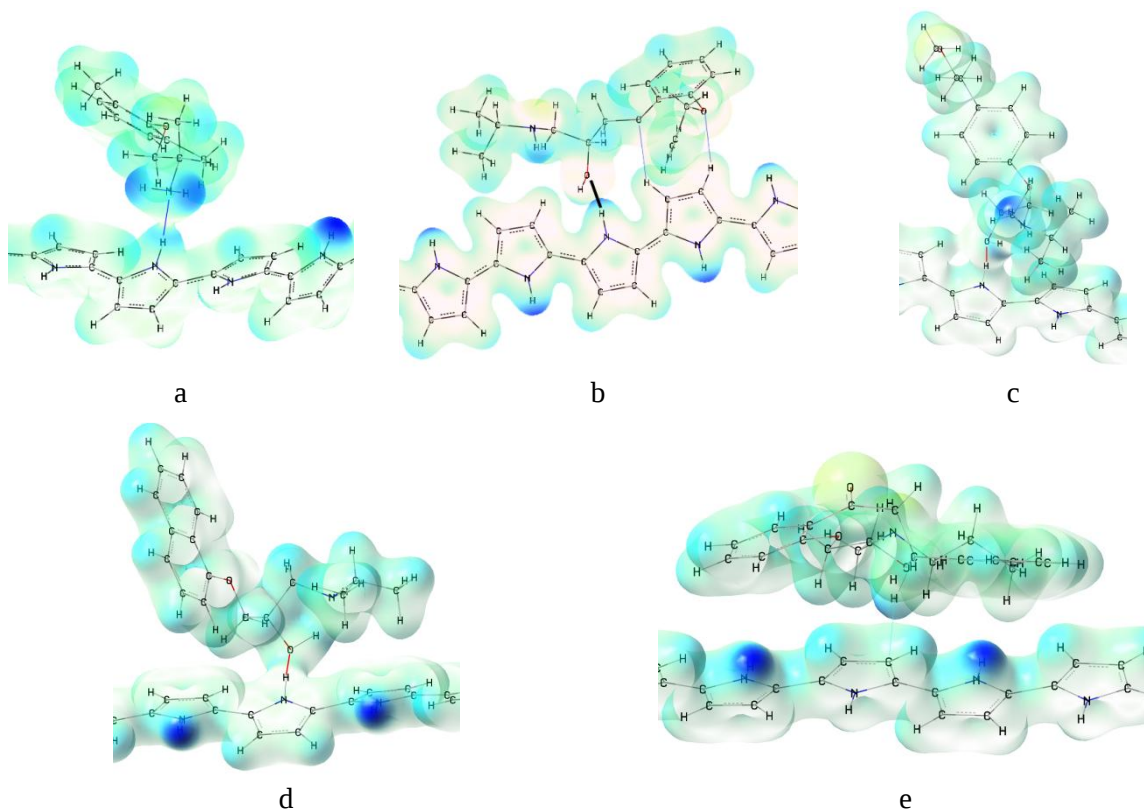
Bezpośrednim celem prezentowanego osiągnięcia był opis mechanizmu sorpcji wybranych leków na powierzchni warstw polipirołowych wykorzystywanych jako pokrycie włókien w procesie mikroekstrakcji do ciała stałego. W ramach pracy przetestowano sorbent polipirołowy pod względem zdolności sorpcyjnych w stosunku do wybranych leków przeciwartymicznych. Następnie zbudowano model teoretyczny tego procesu w oparciu o metody chemii obliczeniowej. Grupę testową stanowiły następujące leki: metoprolol, meksyletyna, oksyprenolol, propafenon, propranolol.

Badania polegały na wyznaczeniu modeli kompleksów lek-polimer. W tym celu wyznaczono geometrię substancji czynnych wybranych leków oraz fragmentu łańcucha polimerowego w fazie gazowej na poziomie metody funkcjonałów gęstości DFT/B3LYP. Następnie na podstawie znalezionych geometrii stanu podstawowego poszczególnych składników wyznaczono obliczeniowo optymalne struktury kompleksów lek-polimer, wyznaczając energie oddziaływań zgodnie z procedurą Counterpoise w analizowanych rozpuszczalnikach, tj. H₂O, MeOH. Godnym nadmienia jest fakt, iż jedna z wyznaczonych struktur kompleksu lek-polimer stała się przedmiotem okładki w *Analytical Bioanalytical Chemistry*, (Impact Factor ISI: 3.841) 2011, 401 (7). Ustalono, że oddziaływanie poszczególnych leków z polimerem warunkowane jest utworzeniem określonych wiązań wodorowych (schemat 4). Energie solwatacji wyznaczono w oparciu o metodę Samouzgodnionego Pola Reakcji Kirkwooda-Onsagera (*Self-Consistent Reaction Field*, SCRF) w Modelu Polaryzowalnego Kontinuum (*Polarizable Continuum Model*, PCM). Na podstawie otrzymanych wyników energii solwatacji obliczono teoretyczne wartości entalpii swobodnej tworzenia (czyli sorpcji) oraz rozpadu (czyli desorpcji) kompleksu lek-polimer. Tak uzyskane dane posłużyły następnie do wyznaczenia modeli teoretycznych procesów sorpcji/desorpcji zachodzących na powierzchni polimeru. W wyniku przeprowadzonych analiz wykazano, że jeden ze współczynników izotermy Langmuira koreluje się z entalpią swobodną tworzenia/rozpadu kompleksu lek-polimer w badanej grupie układów (równanie **3 i 4**).

$$\log K_s = 0.296 (\pm 0.002) + 0.0059 (\pm 0.0001) \Delta_s G^0 \quad (3)$$

$$\log K_d = 4.33 (\pm 0.01) - 0.032 (\pm 0.0007) \Delta_d G^0 \quad (4)$$

gdzie: K_s - wyznaczona eksperymentalnie stała równowagi procesu sorpcji, K_d - wyznaczona eksperymentalnie stała równowagi procesu desorpcji, $\Delta_s G^0$ - wyznaczona obliczeniowo entalpia swobodna procesu sorpcji, $\Delta_d G^0$ - wyznaczona obliczeniowo entalpia swobodna procesu desorpcji.



Schemat 4. Wyznaczone obliczeniowo mapy potencjałów elektrostatycznych stabilnych kompleksów a) meksyletyny, b) oksyprenololu, c) metoprololu, d) propranololu, e) propafenonu z fragmentem heptamerowym łańcucha pirolowego ze wskazaniem dominujących wiązań wodorowych.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Tematy badawcze realizowane przeze mnie przed uzyskaniem stopnia doktora nauk chemicznych

Przedmiotem badań obejmujących moją specjalizację magisterską było określenie zdolności adsorpcyjnych węgla aktywnego z naturą fizykochemiczną jego "powierzchni", ilością i rodzajem porów, stałymi fizykochemicznymi adsorbatów. Ustaliłam wpływ modyfikacji "powierzchni" węgla aktywnych na jego zdolności sorpcyjne oraz mechanizm adsorpcji na podstawie analiz wyznaczonych eksperymentalnie izoterm adsorpcji wybranych adsorbatów.

Przedmiotem badań, których rezultaty przedstawiłam w rozprawie doktorskiej było:

- rozwinięcie złożonego koncepcyjnie formalizmu hamiltonianów pośrednich w zastosowaniu do walencyjnie uniwersalnej metody sprzężonych klasterów,
- napisanie i modyfikacja oryginalnych programów komputerowych, stanowiących podstawowe narzędzie pracy,
- optymalizacja oryginalnych baz funkcyjnych STO dla wybranych układów atomowych i jonowych zawierających jeden elektron walencyjny,

- wykonanie obliczeń dla wybranych układów atomowych wykazujących praktyczną użyteczność rozwijanego formalizmu.

Efektem tego okresu mojej pracy naukowej było opublikowanie 2 prac naukowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, 2 komunikaty przedstawione na konferencjach naukowych oraz 7 referatów wygłoszonych na seminariach naukowych.

Tematy badawcze realizowane przeze mnie po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych

Rozumiejąc kluczowe znaczenie kooperacji badań w ramach współpracy między różnymi zespołami badawczymi, nawiązałam współpracę naukową ze specjalistami z różnych ośrodków. Od 2004 roku współpracuję z następującymi Katedrami:

- Katedrą Chemii Farmaceutycznej, w Zakładzie Fizykochemicznej Analizy Leku Wydziału Farmaceutycznego CM UJ w Krakowie,
- Katedrą Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego, CM UJ w Krakowie,
- Katedrą i Zakładem Biofarmacji CMUMK w Bydgoszczy,
- Katedrą i Zakładem Chemii Fizycznej CMUMK w Bydgoszczy
- Katedrą Chemii Środowiska i Bioanalizy UMK w Toruniu,
- Katedrą Chemii Fizycznej i Fizykochemii Polimerów UMK w Toruniu

Za zgodą Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy prowadzę retrospektywne badania epidemiologiczne w następujących szpitalach:

- Szpitalu Uniwersyteckim im. dr. A. Jurasza w Bydgoszczy,
- Szpitalu Uniwersyteckim im. dr. Jana Biziela w Bydgoszczy,
- Regionalnym Szpitalu Specjalistycznym im. dr. Władysława Biegańskiego w Grudziądzu,
- Publicznym Specjalistycznym Zakładzie Opieki Zdrowotnej w Inowrocławiu,
- Szpitalu Wojewódzkim we Włocławku,
- Wojewódzkim Szpitalu Zespolonym im. Ludwika Rydygiera w Toruniu.

Problematyka badawcza obejmująca moje pozostałe osiągnięcia naukowe skoncentrowana jest głównie na analizach zależności pomiędzy wykazaną lub spodziewaną aktywnością biologiczną a strukturą molekularną związków. Rezultaty z analiz teoretycznych modeli pozwalają wskazać ważne, z punktu widzenia ogólnej aktywności fizjologicznej, cechy strukturalne związków. W toku moich badań teoretycznych opracowałam między innymi liniowe (QSAR) i nieliniowe (ANN), ilościowe i jakościowe (SAR) modele matematyczne pozwalające przewidywać aktywność biologiczną (przeciwgrzybiczną, działanie na OUN, antyproliferacyjne) na podstawie parametrów strukturalnych uzyskanych metodami chemii obliczeniowej w różnych grupach związków.

Opracowałam modele matematyczne typu QSPR i ANN pozwalające przewidywać współczynniki retencji: substancji należących do różnych grup farmakologicznych (antagonistów i agonistów receptorów α -AR, antagonistów receptorów: histaminowych H_1 i H_2 , β -AR) oraz wybranych związków w różnych układach nanofiltracyjnych dla niektórych rozpuszczalników organicznych. Prowadziłam badanie zjawisk zachodzących na powierzchni faz stacjonarnych w kolumnie chromatograficznej na gruncie metod modelowania molekularnego. Badania te pozwoliły na sformułowanie istotnych wniosków dotyczących właściwości fizykochemicznych w różny sposób powierzchniowo modyfikowanych żeli krzemionkowych. Przeprowadziłam również analizę statystyczną zmian morfologicznych folii wylewanych z poli[3-pentylotiofenu] pod wpływem ozonu.

Od 2008 roku rozpoczęłam także badania dotyczące epidemiologii grzybic układowych na terenie województwa kujawsko-pomorskiego. W związku z faktem, że dane epidemiologiczne ze świata są zróżnicowane i niepełne, niezwykle interesująca wydawała się ocena częstotliwości występowania grzybic układowych w jednym z polskich województw. Dodatkowo doniesienia

z piśmiennictwa alarmują o zwiększającej się częstości zachorowań na inwazyjne zakażenia grzybicze oraz narastającej oporności grzybów chorobotwórczych na stosowane leki. Celem prowadzonych badań jest retrospektywna ocena częstości występowania grzybic układowych u chorych leczonych w oddziałach anestezjologii i intensywnej terapii w największych szpitalach w regionie kujawsko-pomorskim.

W 2011 roku ukazała się drukiem moja rozprawa habilitacyjna pt. "*Badania ilościowej zależności pomiędzy strukturą a aktywnością α_1 -adrenolityczną i przeciwartmicyzną pochodnych N-(arylopiperazynylopropylo)pirolidyn-2-onu*". Następnie zwróciłam się z wnioskiem do Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Mikołaja Kopernika Collegium Medicum w Bydgoszczy (CM UMK) o ocenę mojego dorobku naukowego, uzyskując pozytywny wynik. Następnie wygłosiłam tezy mojej rozprawy habilitacyjnej przed Radą Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego (UM) w Lublinie. Na mój wniosek, pozytywnie zaopiniowany przez Radę Wydziału Farmaceutycznego CM UMK, wszczęto przewód habilitacyjny stanowiący podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego w zakresie nauk farmaceutycznych na Wydziale Farmaceutycznym UM w Lublinie. W czasie czynności przewodu habilitacyjnego mój dorobek naukowy uzyskał pozytywne oceny wszystkich recenzentów. W dniu 23.04.2012 odbyło się kolokwium habilitacyjne. Rada Wydziału UM podjęła uchwałę o odmowie przyjęcia mojego kolokwium habilitacyjnego, co zakończyło czynności prowadzonego przewodu habilitacyjnego.

O aktualności podejmowanej przeze mnie tematyki świadczą liczne prośby o odbitki oraz cytowania. Prace cytowane są 93 razy wg bazy Web of Science. Sumarycznie wskaźniki oddziaływania wynoszą: IF = 35,866, KBN/MNiSW = 385.000, Index h = 7. Ponadto od 2010 roku jestem zapraszana przez edytorów zagranicznych czasopism do recenzowania prac naukowo-badawczych przeznaczonych do publikacji. Przedstawiane mi prace (16 artykułów) dotyczą zagadnień z zakresu badań i analiz aktywności biologicznej (przeciwgrzybicza, przeciwnowotworowa, cytotoksyczności) w oparciu o metody *in silico* (analizy (3D-)QSAR, CoMFA, CoMSIA, MCMF, dokowanie). Opiniowałam także przydatność dydaktyczną 2. podręczników akademickich. Dodatkowo w ramach ciągłego szkolenia farmaceutów przygotowałam i wygłosiłam 3 wykłady o tematyce dotyczącej współczesnej farmakoterapii grzybic układowych.

Otrzymuję również imienne prośby o rozszerzenie mojej współpracy naukowo-badawczej o kolejne analizy obejmujące nowe typy aktywności biologicznej związków.

Aligia Norczyńska