

Katedra i Zakład Chemii Organicznej

Wydział Farmaceutyczny

Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Załącznik 2:
Autoreferat – podsumowanie osiągnięć
naukowych

Jacek Kujawski



Poznań 2019

1. **Imię i nazwisko:** Jacek Kujawski
2. **Dyplomy i stopnie naukowe:**

8.09.2002 r.: dyplom **magistra farmacji** na podstawie pracy „*Synteza i identyfikacja nowego związku fluorenyliowego*”; promotor: prof. dr hab. Tadeusz W. Hermann, Katedra i Zakład Chemii Fizycznej (obecnie Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej i Farmakokinetyki), Akademia Medyczna im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu) obecnie Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu).

6.03.2013 r.: stopień naukowy **doktora nauk farmaceutycznych** na podstawie pracy „*Synteza i właściwości biologiczne niektórych skondensowanych pochodnych pirazolu*”; promotor: dr hab. Marek K. Bernard, Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, na podstawie uchwały nr 160 podjętej przez Radę Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w dniu 13 marca 2013.

3. **Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:**

1.11.2002 – 30.11.2006: **samodzielny referent techniczny**; Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Akademia Medyczna im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

1.12.2006 – 30.09.2007: **specjalista naukowo-techniczny**; Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Akademia Medyczna im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

1.10.2007 – 31.03.2014: **asystent**; Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

1.05.2014 – nadal: **adiunkt**; Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

4. **Wskazanie osiągnięcia* wynikającego** art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311), w związku z art. 179 ust. 2, ust. 3 pkt. 1, pkt. 2 lit. a, pkt. 2 lit. b ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. poz. 1669), w związku z ustawą Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. poz. 1668, 2024 i 2245):

- a) tytuł osiągnięcia naukowego:

„Interakcje aktywnych biologicznie systemów azolowych w otoczeniu chemicznym – studia obliczeniowe”

- b) **publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:**

H.1. Jacek Kujawski, Kornelia Czaja, Marek Doskocz, Marek K. Bernard, Beata Drabińska, Joanna Kruk, Anna Myka

„On the interactions of indazole derivative with nucleosides - Toward modeling the cytotoxic activity mechanism”

Comput. Theor. Chem. **2015**, 1059, 45-50

IF = 1,403

MNiSW = 20,000

H.2. Kornelia Czaja, **Jacek Kujawski**, Elżbieta Jodłowska-Siewert, Paulina Szulc, Tomasz Ratajczak, Dominika Krygier, Marcin K. Chmielewski, Marek K. Bernard
„On the interactions of fused pyrazole derivative with selected amino acids: DFT calculations”

J. Chem. **2017**, 2017, art. ID: 8124323 [1-9]

IF = 1,726

MNiSW = 20,000.

H.3. **Jacek Kujawski**, Marek K. Bernard, Elżbieta Jodłowska, Kornelia Czaja, Beata Drabińska

„On the interactions of leflunomide and teriflunomide within receptor cavity - NMR studies and energy calculations”

J. Mol. Model. **2015**, 21, 5, art. 105 [1-12]

IF = 1,438

MNiSW = 20,000.

H.4. **Jacek Kujawski**, Kornelia Czaja, Tomasz Ratajczak, Elżbieta Jodłowska, Marcin K. Chmielewski

„Investigations on synperiplanar and antiperiplanar isomers of Losartan: theoretical and experimental NMR studies”

Molecules **2015**, 20, 7, 11875-11890

IF = 2,465

MNiSW = 30,000.

H.5. **Jacek Kujawski**, Kornelia Czaja, Elżbieta Jodłowska, Katarzyna Dettlaff, Marta Politańska, Justyna Żwawiak, Radosław Kujawski, Tomasz Ratajczak, Marcin K. Chmielewski, Marek K. Bernard

„Structural and spectroscopic properties of econazole and sulconazole - experimental and theoretical studies”

J. Mol. Struct. **2016**, 1119, 250-258

IF = 1,753

MNiSW = 20,000.

H.6. **Jacek Kujawski**, Kornelia Czaja, Elżbieta Jodłowska-Siewert, Katarzyna Dettlaff, Justyna Żwawiak, Radosław Kujawski, Tomasz Ratajczak, Marek K. Bernard

„Structural and spectroscopic properties of itraconazole and ketoconazole - experimental and theoretical studies”

J. Mol. Struct. **2017**, 1146, 259-266

IF = 2,011

MNiSW = 20,000.

H.7. **Jacek Kujawski**, Kornelia Czaja, Katarzyna Dettlaff, Justyna Żwawiak, Tomasz Ratajczak, Marek K. Bernard

„Structural and spectroscopic properties of posaconazole - experimental and theoretical studies”

J. Mol. Struct. **2019**, 1181, 179-189

IF = 2,011

MNiSW = 20,000.

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego stanowią cykl siedmiu prac (**H.1.–H.7.**). W większości prac (**H.1, H.3–H.7**) jestem pierwszym autorem, z kolei we wszystkich ww. pracach jestem autorem korespondencyjnym. Łączna wartość wskaźnika **Impact Factor** (IF) dla prezentowanego cyklu prac wynosi: **12,807**, punktacja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (**MNiSW**): **150,000** (według bazy Web of Science).

Oświadczenia Habilitanta dotyczące wykonywanych prac i procentowego w nich udziału znajdują się w **Załączniku 4**.

Oświadczenia Współautorów wraz z określeniem indywidualnego wkładu każdego z nich w powstanie poszczególnych prac znajdują się w **Załączniku 6**.

c) omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

Wstęp

Zagadnienie mechanizmu działania substancji aktywnych biologicznie jest bodajże najbardziej istotnym problemem, jakim zajmuje współczesna farmakologia. Analiza interakcji lek–receptor nierozzerwalnie wiąże się z ogólnie rozumianą ciekawością ludzką, czego naturalną konsekwencją są nieustanne próby odnajdywania nowych substancji leczniczych. W dynamicznym nurcie poszukiwania nowych leków znamionną rolę odgrywa chemia medyczna wykorzystująca intensywnie rozwijające się zdobycze chemii obliczeniowej. Dzięki postępowi zarówno w metodach syntezy, analizy, jak i w technikach obliczeniowych (*in silico*) począwszy od drugiej połowy XX wieku stało się możliwe bardziej racjonalne podejście w poszukiwaniu leków wpisujące się w nurt m.in. tzw. *komputerowo wspomaganego projektowania leków* (ang. computer-aided drug design, CADD). Metody poszukiwania nowych substancji o potencjalnym działaniu terapeutycznym, jak i przewidywania ich właściwości spektralnych i aktywności biologicznej przeszły w minionym czasie rewolucyjne zmiany. Istotnym wyzwaniem w poszukiwaniu nowych leków jest znalezienie *struktury wiodącej* (ang. lead compound). W tym kontekście interesującym obiektem badań współczesnej nauki wydają się być układy azolowe, w tym również związki zawierające pierścień pirazolu, oksazolu, triazolu, tetrazolu bądź ich skondensowane analogi [1-2]. System azolowy stanowi element strukturalny licznych pochodnych heterocyklicznych odznaczających się szerokim profilem aktywności biologicznej (**Tabela 1**)[2], w tym wykazujących aktywność przeciwgrzybiczą [3], czy też przeciwnowotworową [4-5].

Tabela 1. Wykaz aktywności biologicznej wybranych pirazolopochodnych; ACE – inhibitory konwertazy angiotensyny II, PDE5 – fosfodiesteraza 5 [2].

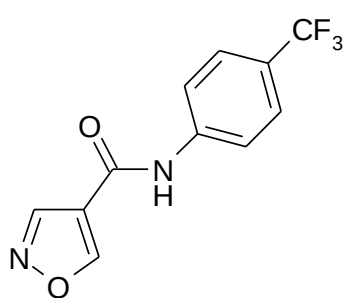
Aktywność biologiczna	Specyfikacja strukturalna
Działanie przeciwnowotworowe	związki koordynacyjne z palladem i platyną; inhibitory kinazy Aurora; inhibitory angiogenezy; inhibitory proliferacji guzów nowotworowych; pochodne o działaniu antyestrogennym
Działanie przeciwwirusowe	pochodne adamantanu; pochodne pirazolo[3,4- <i>d</i>]pirymidyny; pochodne pirazolilopirazolu
Działanie przeciwgrzybicze	pochodne benzoksazolu; pochodne 4-fluoro- i 4-chloro-1,5-diarylopirazoli; pochodne 2-amino-9,10- antrachinonu; pochodne benzofuranów
Działanie przeciwzapalne	pochodne celekoksylu; pochodne kurkuminy; pochodne 5-aminopirazolu; pochodne kwasu galusowego
Działanie przeciwnadciśnieniowe	analogi inhibitorów ACE
Działanie przeciwmalaryczne	pochodne pirazoliny
Działanie przeciwzakrzepowe	analogi inhibitorów procesu krzepnięcia
Działanie w zaburzeniach potencji	analogi inhibitorów PDE5
Działanie obniżające stężenie kwasów tłuszczowych we krwi	bicykliczne pochodne pirazolu
Leczenie otyłości	antagoniści receptorów kanabinoidowych
Terapia choroby Alzheimera	analogi inhibitorów γ -sekreazy

Pochodne indazolu są rzadko spotykane w świecie naturalnym. Połączenia te są bioizosterami jednych z najważniejszych związków naturalnych, a mianowicie indolu i puryny. Z tego względu również stanowią ważny kierunek poszukiwań nowych układów leczniczych. Przegląd literatury wskazuje na wielokierunkowe działanie licznych indazolopochodnych. Wśród nich są połączenia o aktywności cytostatycznej, przeciwnowotworowej, przeciwbakteryjnej, przeciwgrzybiczej, przeciwwirusowej, przeciwzapalnej, hipotensyjnej, przeciwdrgawkowej, przeciwdepresyjnej, estrogenozależnej oraz stosowane w zaburzeniach erekcji [6].

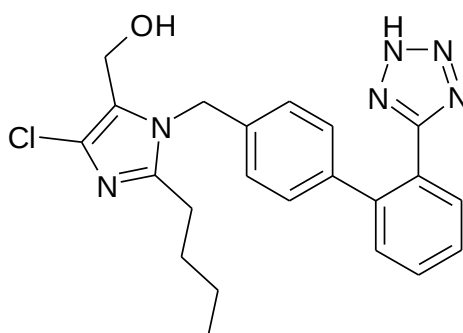
Układy azolowe znajdują również zastosowanie w terapii schorzeń reumatoidalnych, której złożoność nierzadko wynika z nieznanego czynnika (etiologii) choroby reumatoidalnej, co z kolei wymusza szczególnie wieloletnie leczenie objawowe. Mając na względzie fakt, iż choroba reumatyczna dotyczy istotnego odsetka populacji ludzkiej, stanowi ona ważny problem społeczny. W odróżnieniu do powszechnie stosowanych niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) swoiste leki przeciwreumatyczne nie wykazują profilu przeciwzapalnego, przeciwbólowego czy przeciwgorączkowego, a u podstaw ich wykorzystania znajduje się empiryczne dostrzeżenie ich aktywności w terapii innych jednostek chorobowych. W tym kontekście interesującym kierunkiem badań w obszarze chemii medycznej i farmakologii jest dogłębna analiza autoimmunologicznego charakteru choroby reumatycznej oraz udziału cytokin w powstawaniu procesów zapalnych. Przykładem pochodnej oksazolowej wykazującej aktywność immunosupresyjną w tym względzie jest *leflunomid* (**Rys. 1**) [7].

Pomimo wielu programów profilaktycznych choroby układu sercowo-naczyniowego nadal pozostają wiodącym problemem zdrowotnym krajów rozwiniętych. Niezwykle istotnym orężem w walce z jednostkami chorobowymi związanymi z nadciśnieniem tętniczym okazują się być antagoniści receptorów angiotensynowych (AT), w tym receptorów AT₁ zlokalizowanych głównie w mięśniach gładkich i nerkach, pośredniczących w naczyniowo-skurczowej i proliferacyjnej aktywności angiotensyny II. Blokery receptorów AT₁, w odróżnieniu do równie powszechnie stosowanych w terapii nadciśnienia tętniczego inhibitorów konwertazy angiotensyny (I-ACE), nie wpływają na wzrost poziomu bradykininy (przez co m.in. nie powodują duszącego kaszlu pojawiającego się u pacjentów stosujących I-ACE) oraz hamują biosyntezę angiotensyny II niezależną od konwertazy angiotensyny (ACE), przeciwdziałając m.in. przerostowi naczyń czy serca. Przykładem inhibitora receptorów AT₁ zawierającego w swej budowie planarny system tetrazolu, spełniającego wymagania stawiane lekom hipotensyjnym jest *losartan* (**Rys. 1**) [8].

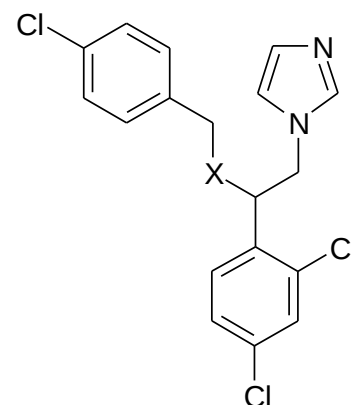
Obecność chityny w ścianie komórkowej oraz ergosterolu w błonie komórkowej komórek grzybów determinuje natomiast profil aktywności środków przeciwgrzybiczych. Należy zaznaczyć, iż azole (pochodne imidazolu oraz triazolu) stanowią najliczniejszą grupę układów odznaczających się aktywnością przeciwgrzybiczą polegającą na hamowaniu biosyntezy ergosterolu (inhibicji lanosterolo-14 α -dmetylazy) [9]. Do tej grupy terapeutycznej można zaliczyć m.in. następujące azolopochodne: *ekonazol*, *sulkonazol*, *ketokonazol*, *itrakonazol* oraz *posakonazol* (**Rys. 1**).



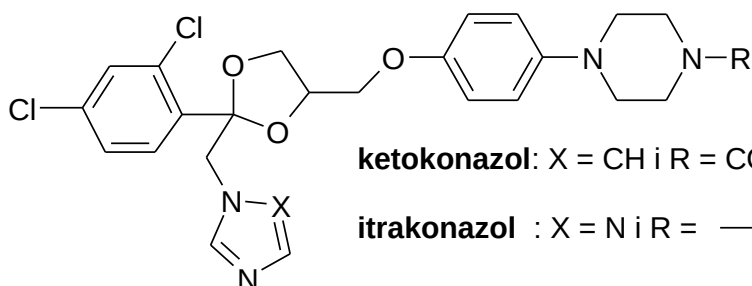
leflunomid



losartan

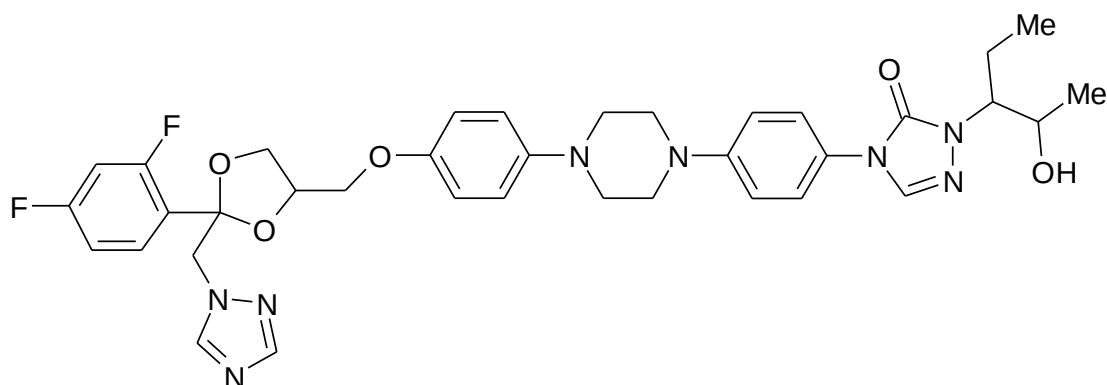


ekonazol: X = O
sulkonazol: X = S



ketokonazol: X = CH i R = COMe

itrakonazol : X = N i R =



posakonazol

Rys. 1. Struktury *leflunomidu*, *losartanu* (formy neutralnej), *ekonazolu*, *sulkonazolu*, *ketokonazolu*, *itrakonazolu* oraz *posakonazolu*.

Oddziaływania cząsteczek substancji analizowanej w otoczeniu chemicznym stanowią jeden z fascynujących obiektów badań zmierzających do poznania ich natury oraz dających się opisać w formie numerycznej, tj. językiem z pogranicza chemii, fizyki i matematyki, szczególnie uwzględniających rolę tworzących się wiązań (w tym i wodorowych, HB, ang. hydrogen bonds), efektów sterycznych oraz energii układów. Badania oddziaływań można przeprowadzać zastosowaniem różnych metod analitycznych, w tym: NMR [10-13]. Dodatkową metodą badania tychże interakcji stanowią metody chemii kwantowej, które,

oprócz danych energetycznych, dostarczają bardzo cennych informacji poprzez wizualizację sposobu badanych oddziaływań. W tym kontekście na szczególną uwagę zasługuje podejście uwzględniające sferę solwatacyjną jonów, opisujące procesy zachodzące także pod wpływem rozpuszczalników [14]. W tym miejscu należy podkreślić kluczową rolę wiązań HB determinujących w istotny sposób oddziaływania międzycząsteczkowe [15-16]. Zachowanie się małych cząsteczek w otoczeniu chemicznym oraz mechanizmy działania makromolekuł biologicznych synergistycznie łączy szeroka dziedzina chemii supramolekularnej, której wiodącą rolę wydaje się być zrozumienie natury oddziaływań międzycząsteczkowych różnego typu. To z kolei niewątpliwie umożliwia badaczom racjonalne projektowanie połączeń cząsteczek o pożądanej strukturze [17].

Informację o naturze oddziaływań międzymolekularnych daje się opisać w oparciu przyczynki (ang. terms) energetyczne bliskozasięgowe (wkłady wymienne i penetracyjne), jak i wkłady dalekiego zasięgu (elektrostatyczne, indukcyjne momentów dipolowych oraz dyspersyjne), przy czym dominujący wkład elektrostatyczny daje się odnotować w przypadku kompleksów (adduktów) z wiązaniami HB oraz w odniesieniu do interakcji polarnych indywiduów chemicznych. Z kolei energię oddziaływania w obrębie kompleksów można metodami obliczeniowymi oszacować, wyznaczając różnicę energii kompleksu i jego elementów składowych. W przypadku jednakże słabych interakcji międzycząsteczkowych energia oddziaływania przyjmuje zwykle wartości znacznie mniejsze w porównaniu do wartości energii całego układu. Mając powyższe na względzie warto zauważyć, iż w wyniku wzajemnego oddziaływania składowych kompleksu geometrie poszczególnych podukładów ulegają zmianie (relaksacji). Z tego względu energia relaksacji definiowana jest jako różnica pomiędzy energią podukładu o energii dla niego optymalnej a energią tegoż samego podukładu o geometrii „wyciętej” niejako z badanego kompleksu. Ponadto obliczenia energii izolowanych monomerów realizowane są w oparciu o mniejszą bazę funkcyjną w porównaniu do obliczeń uwzględniających poszczególne monomery (podukłady) w dimerze (kompleksie). Konsekwencją tegoż rozumowania jest stwierdzenie, iż w przypadku izolowanego monomeru A możemy mówić o N_A funkcjach bazy. Z kolei implementacja tegoż monomeru A w dimerze AB skutkuje wzrostem liczby funkcji bazy do wartości $N_A + N_B$, zatem w rozważaniach dotyczących energii interakcji podukładów A i B w dimerze AB z użyciem tej samej skończonej bazy należy uwzględnić efekt niefizyczny określany jako *błąd superpozycji bazy* (ang. basis set superposition error, BSSE) [18]. Stosowanie dużych baz funkcyjnych w celu pominięcia czynnika BSSE okazuje się nierzadko niepraktyczne z uwagi na czasochłonność obliczeń (koszt obliczeniowy) szczególnie dla większych układów. Jednym

ze sposobów uwzględniających podział energii układów na ww. wkłady, jednocześnie pomijających aspekty parametru BSSE, jest metodologia *rachunku zaburzeń o adaptowanej symetrii* (ang. symmetry-adapted perturbation energy, SAPT) [19], jednakże, z uwagi na prostotę realizacji i osiągalny kompromis w relacji czasochłonność–dokładność wyniku najczęściej stosowanym w literaturze, praktycznym sposobem minimalizacji BSSE jest *poprawka równoważenia bazowego* (ang. counterpoise-corrected method, CP) [20]. Owo podejście znajduje swoje istotne odzwierciedlenie licznych w pracach opierających się na formalizmie *teorii funkcjonału gęstości* (ang. density functional theory, DFT) [21-25].

Zgodnie ze sformułowanym w XX wieku twierdzeniem Hellmana-Feynmana postuluje się, iż jeśli znany jest przestrzenny rozkład ładunku elektronowego (rozumiany jako wynik rozwiązania równania Schrödingera), to wszystkie siły działające w układzie można wyznaczyć w oparciu o klasyczną elektrostatykę [26]. Mimo iż podejście owo w miarę rozwoju mechaniki kwantowej oraz zdobyczy chemii kwantowej ulegało swoistemu „skomplikowaniu”, naturalna ludzka skłonność do poszukiwaniu w otaczającym nas środowisku schematów dających się zdefiniować w mierzalne ramy nieprzerwanie skłania badaczy do m.in. definiowania wiązań tworzących się pomiędzy ligandem a otoczeniem chemicznym. Doskonałym narzędziem do analizy różnorodnych oddziaływań występujących w cząsteczkach (w tym i wiązań typu HB [27]), jonach, kompleksach, różnej wielkości agregatach molekularnych czy nawet kryształach okazuje się być uznana w światowej literaturze *Kwantowa teoria Atomów w Cząsteczkach* (ang. Quantum Theory of Atoms In Molecules, QTAIM)[28]. Stanowi ona usystematyzowaną analizę rozkładu ładunku elektronowego i opiera się na wyznaczeniu i analizie funkcji gęstości elektronowej, jej parametrów w tzw. *punktach krytycznych* (ang. critical points, CP) oraz topologicznej analizie pola gradientu.

Jednym z wkładów energetycznych odnoszących się do energii całkowitej badanego układu jest energia elektronowa związana z przejściami pomiędzy stanami elektronowymi cząsteczek (ang. vertical excited states) zachodzącymi pod wpływem promieniowania z zakresu widzialnego czy nadfioletowego. Narzędziem eksperymentalnym opisującym owe zjawisko jest spektroskopia UV-Vis. Z punktu widzenia chemii kwantowej z kolei opis stanów wzbudzonych w porównaniu do stanów podstawowych jest znacznie bardziej skomplikowany. W piśmiennictwie jedną z najczęściej wykorzystywanych w opisie stanów wzbudzonych wykorzystujących przybliżenie wertykalne metod jest technika *DFT uwzględniająca zależność potencjałów* (ang. time-dependent density functional theory, TD

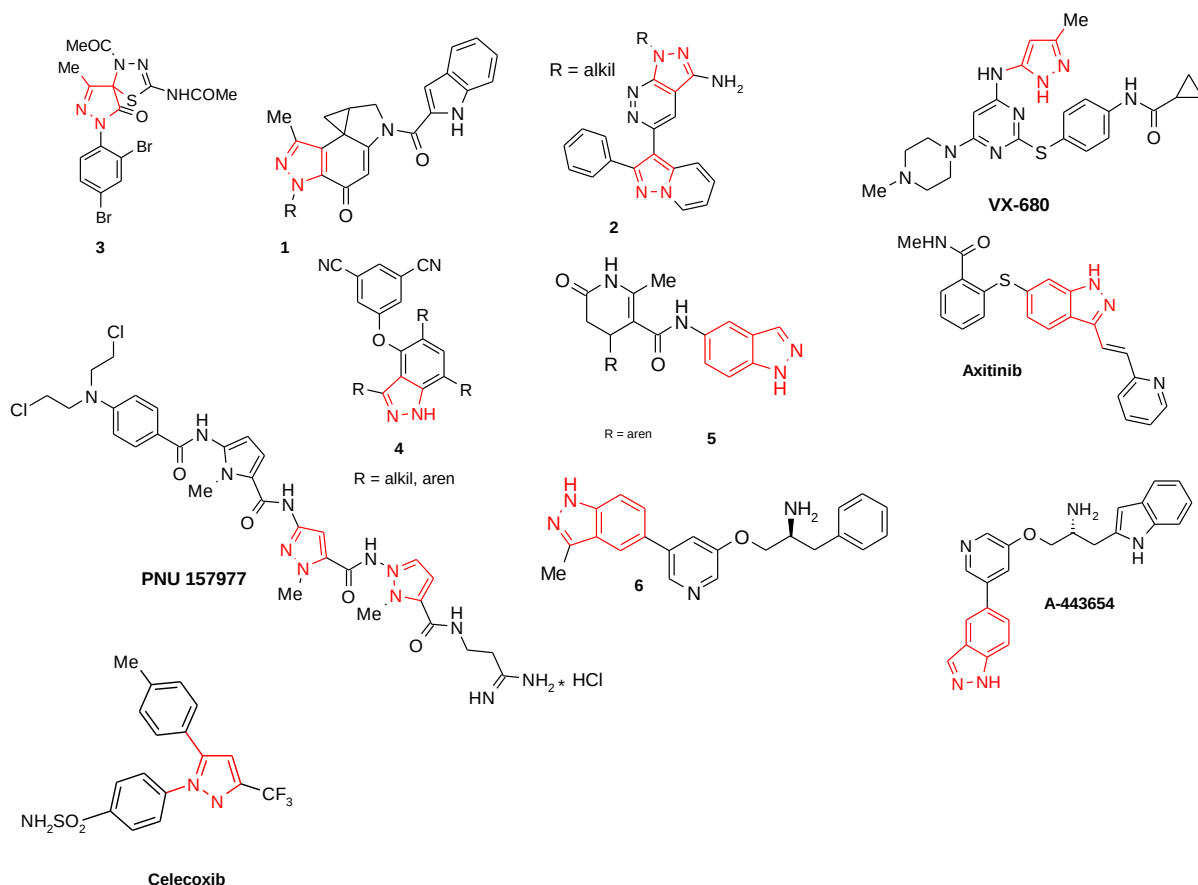
DFT) [29], w tym funkcjonały z rodziny GGA (ang. Generalized Gradient Approximation) i *meta*-GGA oraz funkcje rozmyte (ang. diffuse functions) [30].

Mając na uwadze zasygnalizowane powyżej zagadnienia, pragnąłbym przedstawić cykl prac omawiających (w przeważającej mierze w oparciu o formalizm DFT i zagadnienia zaakcentowane powyżej) **oddziaływania aktywnych biologicznie azoli ze swym otoczeniem chemicznym** bądź ich **właściwości spektralne**, tj. w odniesieniu do: a) syntetyzowanych w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego UMP (w zespole dra hab. Marka K. Bernarda) pirazolopochodnych i indazolopochodnych o zdefiniowanej w modelu *in vitro* aktywności przeciwnowotworowej i cytostatycznej, jak również b) zawierającego system oksazolu *leflunomidu*, c) losartanu zawierającego w swej strukturze system imidazolu i tetrazolu, a także d) wykazujących aktywność przeciwgrzybiczą tzw. ‘konazoli’, tj. *ekonazolu*, *sulkonazolu*, *ketokonazolu*, *itrakonazolu* oraz *posakonazolu*.

Pirazolopochodne i ich skondensowane analogi o aktywności przeciwnowotworowej

Sygnalizując działanie przeciwnowotworowe połączeń będących pochodnymi pirazolu bądź indazolu [31], nie sposób wymienić *Celecoxibu* (**Rys. 2**) hamującego aktywność cyklooksygenazy-2 (COX-2). W ostatnim czasie stwierdzono, że inhibitory COX-2, w tym *Celecoxib*, posiadają działanie hamujące wzrost komórek nowotworu jelita grubego i prostaty. Wykazano ponadto, że *Celecoxib* blokuje aktywację czynnika transkrypcyjnego NF-kb, co ma również znaczenie w działaniu przeciwnowotworowym [32]. Spośród znanych analogów pirazolu ciekawymi właściwościami cechują się inhibitory kinazy VEGF-R hamujące proces angiogenezy znajdujące się w badaniach klinicznych (pochodna pirazolu o symbolu VX-680 oraz dwie pochodne indazolu, a mianowicie *Axitinib* i związek oznaczony symbolem A-443654). Pozytywną właściwością *Axitinibu* jest możliwość podawania doustnego (**Rys. 2**) [32]. Obiecujące wyniki testów biologicznych prowadzonych na liniach komórkowych białaczki L1210 oraz K562 dostarczyły prace prowadzone na heteroanalogach tallimustyny (**1**, PNU 157977 na **Rys. 2**) znajdującej się w fazie badań klinicznych [33-34]. W piśmiennictwie odnaleźć można dane odnoszące się do prób symulacji interkalacji pochodnych tallimustyny do DNA (**Rys. 2**) [34]. W grupie pirazolo[3,4-c]-pirydazyny natomiast znaleziono szereg związków będących inhibitorami kinazy-2 i hamujących przekazywanie sygnałów międzykomórkowych (np. związek **2**, **Rys. 2**) [35]. Wysoką aktywnością cytotoksyczną wobec związku referencyjnego (dimerycznej pochodnej

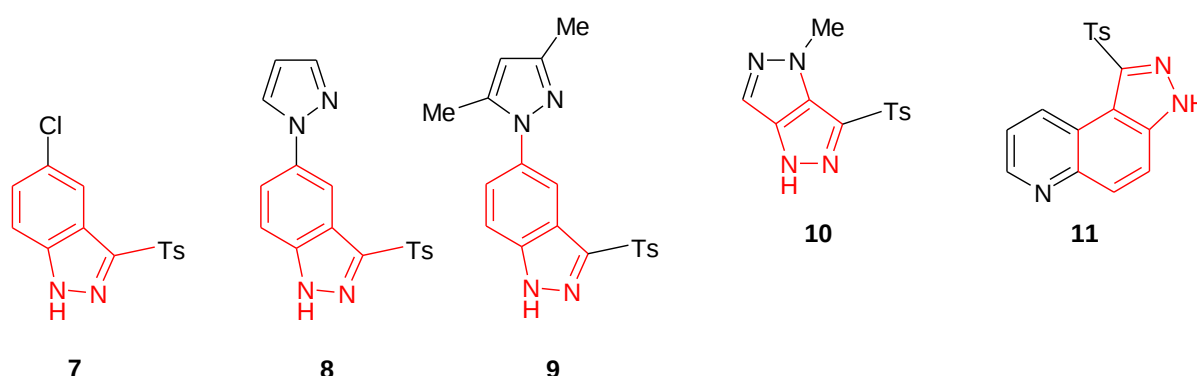
pirazolu) wykazano także dla związku **3** (**Rys. 2**) [36]. Obiecującą aktywność cytotoksyczną zbadaną w aspekcie mutacji odwrotnej transkryptazy (linie K103N i Y181C-RT) wykazały z kolei pochodne indazolu typu **4** (**Rys. 2**) [37]. Największą aktywność w tym aspekcie wykazały związki posiadające ugrupowania nitrylowe. Indeks cytotoksyczności IC_{50} wyznaczany był również dla indazolowych układów będących pochodnymi dihydropirydonu (**5**, **Rys. 2**) [38]. Badania dotyczyły kinaz serotoninino-treoninowych (m.in. ROCK1 i RSK1) i wykazały, że optymalnymi właściwościami biologicznymi cechowały się pochodne zawierające podstawnik naftyłowy bądź *p*-trifluorometylofenyłowy. Z kolei interesującymi inhibitorami kinaz z rodziny B/Akt okazały się dimeryczne pochodne indazolu podstawione ugrupowaniem alkoksypirydyny. Wśród licznych przebadanych związków najbardziej obiecującym układem - w odniesieniu do IC_{50} oraz biodostępności - okazała się pochodna **6** (**Rys. 2**) [39].



Rys. 2. Wybrane pochodne pirazolu i indazolu o aktywności przeciwnowotworowej (system pirazolu i indazolu zaznaczono na czerwono).

Przedstawione powyżej dane wyraźnie dowodzą, iż liczne dimeryczne pirazolopochodne oraz ich skondensowane izostery legitymizują się aktywnością przeciwnowotworową w modelu komórkowym *in vitro* bądź zdolne są do pośredniego

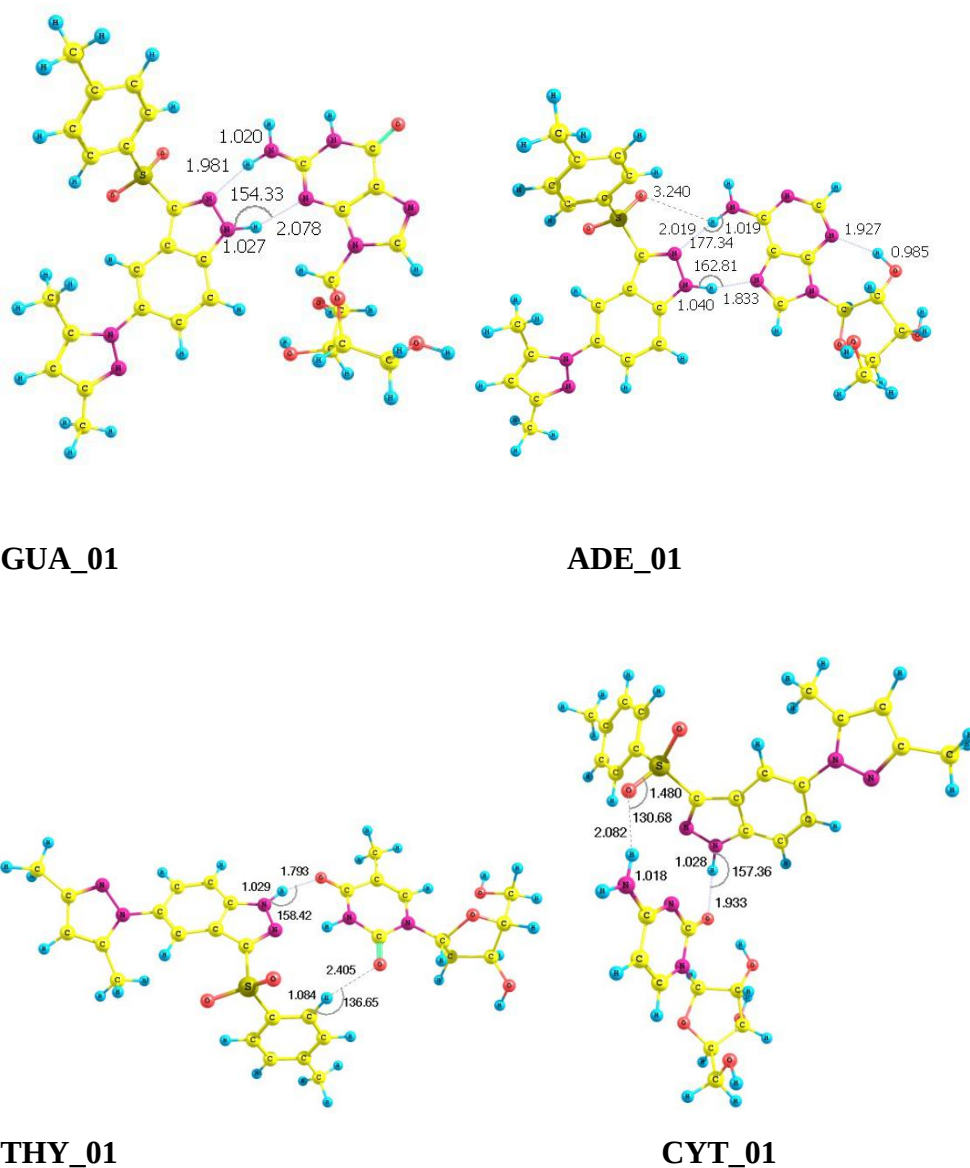
wpływu na proces nowotworzenia (azole jako ligandy m.in. wybranych kinaz białkowych). Owe przesłanki stały się motywem przewodnim działalności naukowej zespołu dra hab. Marka Bernarda w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej UMP, którego jestem członkiem, i zaowocowały syntezą wybranych arylosulfonowych pochodnych pirazolu i indazolu (**Rys. 3**) oraz oceną ich aktywności cytostatycznej i przeciwnowotworowej w z użyciem linii komórek nowotworowych: HT29 (pochodne **7** i **11** na **Rys. 3** [40]), jak i MCF7 oraz MDA-MB-231 (pochodne **7–11** na **Rys. 3** [41]).



Rys. 3. Wybrane arylosulfonylopochodne pirazolu i indazolu o aktywności przeciwnowotworowej (na czerwono zaznaczono pierścień azolu); Ts – grupa tosylowa ($-\text{O}_2\text{S}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_3$).

Uzyskane w zespole dane wskazywały, iż aktywność propapoptotyczna azoli **7** i **11** (**Rys. 3**) względem komórek HT29 wyrażała się w postaci ich interakcji z DNA komórek oraz rozpadem białek PARP. Z kolei aktywność pochodnych **7–11** (**Rys. 3**) sprowadzała się do indukcji zarówno zjawiska apoptozy, ale również i autofagii komórek MCF7 oraz MDA-MB-231 i sugerowała również udział w tym kontekście kaskady kinaz białkowych. Zainspirowany dotychczasowymi rezultatami dotyczącymi otrzymywanych w zespole hetarenów postanowiłem przeprowadzić na gruncie obliczeń statycznych rozważania natury kwantowo-mechanicznej (QM) w oparciu o formalizm DFT zmierzające do przeanalizowania możliwości oddziaływania modelowej pochodnej **9** (**Rys. 3**) z nukleozydami wchodzącymi w skład kwasów nukleinowych, jak i z fragmentem DNA. Wyniki zostały opublikowane w pierwszej ze wskazanych w prezentowanym cyklu publikacji **H.1**. W tym celu wykorzystałem najczęściej stosowany i relatywnie tani funkcjonal, stosując przybliżenie B3LYP/6-31G(d,p), przy czym wszystkie addukty badany związek–nukleozyd (DNA) optymalizowane były w rozumieniu założeń oscylatora harmonicznego do zaniku częstości ujemnych w

wygenerowanym widmie IR z uwzględnieniem sfery solwatacyjnej (pola reakcji) cząsteczek wody i modelu rozpuszczalnikowego PCM w celu odwzorowania środowiska komórkowego.



Rys. 4. Addukty azol 9–nukleozyd z „największą” wartością energii interakcji analizowane w publikacji [H.1](#).

W swoich rozważaniach skupiłem się na m.in. oddziaływaniu systemu pirazolowego oraz ugrupowania tosyłowego hetarenu **9** (**Rys. 3**) z: guanozyną, adenozyną, cytydyną oraz tymidyną. W przypadku oddziaływania badanego azolu z guanozyną na szczególną uwagę zasługuje silny kontakt typu: N-H $\cdots$ N ($l_{N-H} = 1,027$ Å, $d_{H-N} = 2,080$ Å, $\theta = 154,3^\circ$, **GUA_01** na **Rys. 4**). Rzutował on bowiem na geometrię adduktu, w odniesieniu do którego energia interakcji jego podukładów z uwzględnieniem błędu BSSE wyniosła -13,4 kcal/mol, a o sile

ww. oddziaływania świadczyć też mogła zmiana długości wiązania N-H zoptymalizowanego adduktu **GUA_01** w porównaniu do jego geometrii startowej wynosząca ok. 0,2 Å.

Z kolei w stosunku do adenozyiny w swej publikacji uwagę poświęciłem trzem modelom adduktów azol–adenozyina. Ich optymalizacja zaowocowała uzyskaniem geometrii, w których dominowały oddziaływania systemu pirazolowego (**ADE_01** na **Rys. 4**) bądź grupy tosyłowej (model drugi) z nukleozydem lub też kontakty typu N-H $\cdots$ N and C-H $\cdots$ N (model trzeci), tzn. wskazujące na oddziaływania atomu wodoru (związanego z pirolowym atomem azotu indazolu) z grupą aminową nukleozydu, jak również pierścienia fenyłowego indazolu z atomami azotu pięciocłonowego pierścienia adenozyiny. Wyznaczona energia oddziaływania podjednostek w odniesieniu do tychże trzech kolejnych modeli przedstawiała się następująco: -15,7 (**ADE_01** na **Rys. 4**), -6,2 oraz -5,2 kcal/mol. Za największym co do wartości bezwzględnej poziomem energii oddziaływania w przypadku adduktu **ADE_01**, pomimo iż w jego, jak i w modelu trzecim, budowie, odnotowałem obecność silnego kontaktu HB typu N-H $\cdots$ N z udziałem pirolowego atomu azotu indazolu, przemawiała nie tylko większa wartość zmiany długości wiązania N-H (wynosząca odpowiednio: 0,02 Å w przypadku **ADE_01** oraz 0,007 Å w modelu trzecim), jak i bliskość systemu tosyłowego względem nukleozydu w addukcie **ADE_01**. Istotny był też fakt, iż w modelu trzecim aromatyczne pierścienie indazolu oraz adenozyiny nie były w stosunku do siebie koplanarne. Warto także nadmienić, iż uzyskana wartość energii interakcji indazolopochodnej z adenozyiną w addukcie **ADE_01** pozostała w zgodzie z literaturową wartością energii wzajemnego oddziaływania adenozyina–tymidyna [42].

Z kolei analiza oddziaływania azolu **9** (**Rys. 3**) z tymidyną skutkowała uzyskaniem dwóch zoptymalizowanych modeli z dominującą rolą silnego kontaktu wodorowego typu N-H $\cdots$ O=C ($l_{\text{N-H}} = 1,029$ Å, $d_{\text{H-O}} = 1,793$ Å, $\theta = 158,4^\circ$ w przypadku modelu **THY_01** na **Rys. 4**), w przypadku których energia interakcji (z uwzględnieniem parametru BSSE) była podobna i wynosiła odpowiednio: -13,5 (**THY_01** na **Rys. 4**) oraz -13,0 kcal/mol (model drugi). Stwierdziłem przy tym, iż drobne różnice energetyczne wynikały głównie z odległości pomiędzy pentozą nukleozydu a systemem indazolu, która była istotnie większa w przypadku adduktu **THY_01**. Również i w przypadku tegoż modelu uzyskane dane korelują z wartościami energii odnoszącymi się do interakcji pary zasad adenozyina–tymidyna [42].

Optymalizacja adduktu badanej indazolopochodnej oraz cytydyny z kolei pozwoliła na uzyskanie modelu **CYT_01** (**Rys. 4**), w przypadku którego dostrzec można było dwa kontakty HB typu N-H $\cdots$ O=C ($l_{\text{N-H}} = 1,028$ Å, $d_{\text{H-O}} = 1,933$ Å, $\theta = 157,4^\circ$) i S=O $\cdots$ H-N

($d_{\text{O-H}} = 2,082 \text{ \AA}$, $l_{\text{H-N}} = 1,009 \text{ \AA}$, $\theta = 130,7^\circ$). Oszacowana energia interakcji w oparciu o parametr BSSE była o ok. 1 kcal/mol niższa w porównaniu do adduktu **ADE_01** i wyniosła -14,8 kcal/moli i wynikała z faktu, iż pierścienie indazolu oraz cytozyny były względem siebie niemalże prostopadłe, co powodowane było odpychaniem się atomów azotu o hybrydyzacji sp^2 podjednostek analizowanego adduktu.

Mając powyższe na względzie, postanowiłem w kolejnej części publikacji **H.1** prześledzić możliwość oddziaływania arylosulfonowej pochodnej indazolu **9** (**Rys. 3**) z fragmentem DNA. W tym celu wykorzystałem plik pobrany z bazy Protein Data Bank (PDB, 309D.pdb [43]), a do obliczeń zaimplementowałem dwuwarstwowy model QM:MM (ONIOM), balansując niejako na pograniczu światów mechaniki molekularnej (MM) oraz mechaniki kwantowej (QM), wykorzystując klasyczne pole siłowe UFF oraz formalizm DFT, tj. podejście B3LYP/6-31g(d,p):UFF. Pozwoliło mi to na optymalizację kompleksu azol–DNA, w którym z punktu widzenia energii interakcji kluczową rolę odgrywał m.in. proton związany z pirolowym atomem azotu indazolu tworzący kontakty typu: $\text{N-H}\cdots\text{N}_{\text{adenozyna}}$, $\text{N-H}\cdots\text{O}_{\text{deoksyryboza}}$ oraz $\text{N-H}\cdots\text{O}=\text{C}_{\text{tymidyna}}$. Nie bez znaczenia okazała się stabilizująca rola grupy sulfonowej oraz systemu fenyłowego ugrupowania tosyłowego azolowej podjednostki tworzącego kontakty typu: $\text{S}=\text{O}\cdots\text{N}_{\text{adenozyna}}$, $\text{C-H}\cdots\text{O}=\text{C}_{\text{tymidyna}}$ i $\text{C-H}\cdots\text{N}_{\text{guanozyna}}$, dowodząc przy tym, iż badany azol mógłby być efektywnym ligandem wiążącym się z poszczególnymi bruzdami DNA komórki nowotworowej. W tym miejscu pragnąłbym nadmienić, iż stabilizująca rola protonu N-H azolu oraz ugrupowania tosyłowego w oddziaływaniu z jego otoczeniem chemicznym była także potwierdzona przeze mnie w naszym zespole w stosunku do interakcji arylosulfonowych pochodnych indazolu **9** oraz **10** (**Rys. 3**) z ważnymi z punktu widzenia procesu kancerogenezy jonami Mg^{2+} [44-45].

Wychodząc z założenia, iż uzyskiwane w naszym zespole badawczym arylosulfonowe pochodne pirazolu i indazolu wykazywały w modelu komórkowym aktywność przeciwnowotworową, która mogła być również podyktowana możliwością ich wpływu na wybrane kinazy białkowe, jak i zachęcony danymi uzyskanymi względem tej pochodnej w stosunku do jonów magnezu [45], w kolejnej publikacji **H.2** postanowiłem prześledzić możliwość oddziaływania skondensowanego azolu **10** (**Rys. 3**, w oryginalnej publikacji azol opatrzony numerem 7) z najważniejszymi (z punktu widzenia interakcji pirazolopochodne–kinazy) aminokwasami występującymi w kieszeni tychże makrocząsteczek, tj. alaniną (Ala), lizyną (Lys), kwasem glutaminowym (Glu) oraz metioniną (Met). W swych rozważaniach skupiałem się na tworzących się w adduktach azol–aminokwas wiązaniach HB, wykorzystując do obliczeń formalizm DFT, czynnik BSSE oraz teorię

topologicznej analizy gęstości elektronowej (QTAIM), jak również metodę Gauge-Including Atomic Orbital (GIAO) [46] w celu oszacowania zmian przesunięć chemicznych w obrazie spektralnym ^1H NMR poszczególnych adduktów. Pomiąłem przy tym aspekt jonizacji grupy karboksylowej bądź aminowej z uwagi m.in. na fakt, iż ewentualne addukty jonów obojnaczych aminokwasów z badanym azolem mogłyby być również z powodzeniem opisane ładunkiem oraz multipletowością (tj. parametrami niezbędnymi do poprawnej konstrukcji plików wspadowych) wynoszącymi odpowiednio „0” i „1”. Najbardziej ujemną wartością energii interakcji (**Tabela 2**) arylosulfonowej pochodnej pirazolu **10** (**Rys. 3**) z alaniną, szczególnie wyznaczonej w większej bazie, tj. w podejściu B3LYP/6-311++G(2d,3p), odznaczał się addukt **10AlaB** (**Rys. 5**), w budowie którego dało się zaobserwować silny kontakt HB typu $\text{O}-\text{H}\cdots\text{N}$ ($l_{\text{O}-\text{H}} = 0,989 \text{ \AA}$, $d_{\text{H}-\text{N}} = 1,892 \text{ \AA}$, $\theta = 160,1^\circ$) pomiędzy karboksylem aminokwasu a atomami azotu azolu, jak również słaby kontakt pomiędzy grupą karbonylową aminokwasu a protonem fenylu grupy tosyłowej azolu ($d = 2,236 \text{ \AA}$). Uwzględnienie funkcjonału M06L do optymalizacji adduktu hetarenu **10** (**Rys. 3**) z alaniną również pozwoliło na uzyskanie modelu **10AlaM**, którego budowa była stabilizowana przez silny kontakt pomiędzy grupą karboksylową Ala a pirydynowym atomem azotu ($d_{\text{H}-\text{N}} = 1,906 \text{ \AA}$, $l_{\text{O}-\text{H}} = 0,986 \text{ \AA}$, $\theta = 173,0^\circ$) oraz słabe oddziaływanie pomiędzy grupą karbonylową aminokwasu a protonem *orto* systemu fenylowego tosyłu ($d = 2,236 \text{ \AA}$). Mając na względzie oddziaływanie alaniny na pochodną pirazolu, potwierdziłem w swej publikacji, iż interakcja grupy karboksylowej aminokwasu z atomami azotu systemu diazoluowego wykazuje silniejszy charakter w porównaniu do heteroatomów diazolu w relacji z grupą aminową alaniny (addukt **10AlaB-N**). Uwzględniając z kolei wzajemny wpływ lizyny i analizowanego azolu, wykazałem, iż najbardziej ujemną wartość energii oddziaływania składowych powstałego adduktu (**Tabela 2**) determinuje kontakt pomiędzy grupą karboksylową aminokwasu a pirolowym atomem azotu heterocyklu **10**. Z tego punktu widzenia preferowany wydawał się addukt **10LysP** (**Rys. 5**), optymalizowany z użyciem funkcjonału PBE1PBE (tj. funkcjonału Perdew-Burke-Enzerhafa opisywanego w literaturze również jako PBE0), którego geometria stabilizowana była przez dwa silne kontakty HB typu: $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{C}$ ($l_{\text{N}-\text{H}} = 1,027 \text{ \AA}$, $d_{\text{H}-\text{O}} = 1,816 \text{ \AA}$, $\theta = 147,6^\circ$) i $\text{O}-\text{H}\cdots\text{N}$ ($l_{\text{O}-\text{H}} = 1,027 \text{ \AA}$, $d_{\text{H}-\text{N}} = 1,726 \text{ \AA}$, $\theta = 169,4^\circ$), przy czym zastosowanie funkcjonału B3LYP zaowocowało uzyskaniem adduktu (addukt **10LysB**) - o znacznie niższym (co do wartości bezwzględnej) poziomie energii oddziaływania - z jednym kontaktem typu $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{C}$. Ponadto przeanalizowałem relację azol **10**-lizyna, skupiając swą uwagę na interakcję pirolowego atomu azolu z terminalną grupą aminową (addukt **10LysP-N**) oraz położoną w pozycji α (addukt **10LysP- α N**). Porównując

dwa ww. addukty, najmniej korzystnym z punktu widzenia energii oddziaływania okazał się wpływ terminalnej grupy aminowej na ugrupowanie N-H azolu, na co wpływ miało słabe wiązanie wodorowe typu $N-H\cdots NH_2$. Oddziaływanie zaś azolu z grupą aminową w pozycji α lizyny związane było z uformowaniem kontaktu typu $N-H\cdots NH_2$.

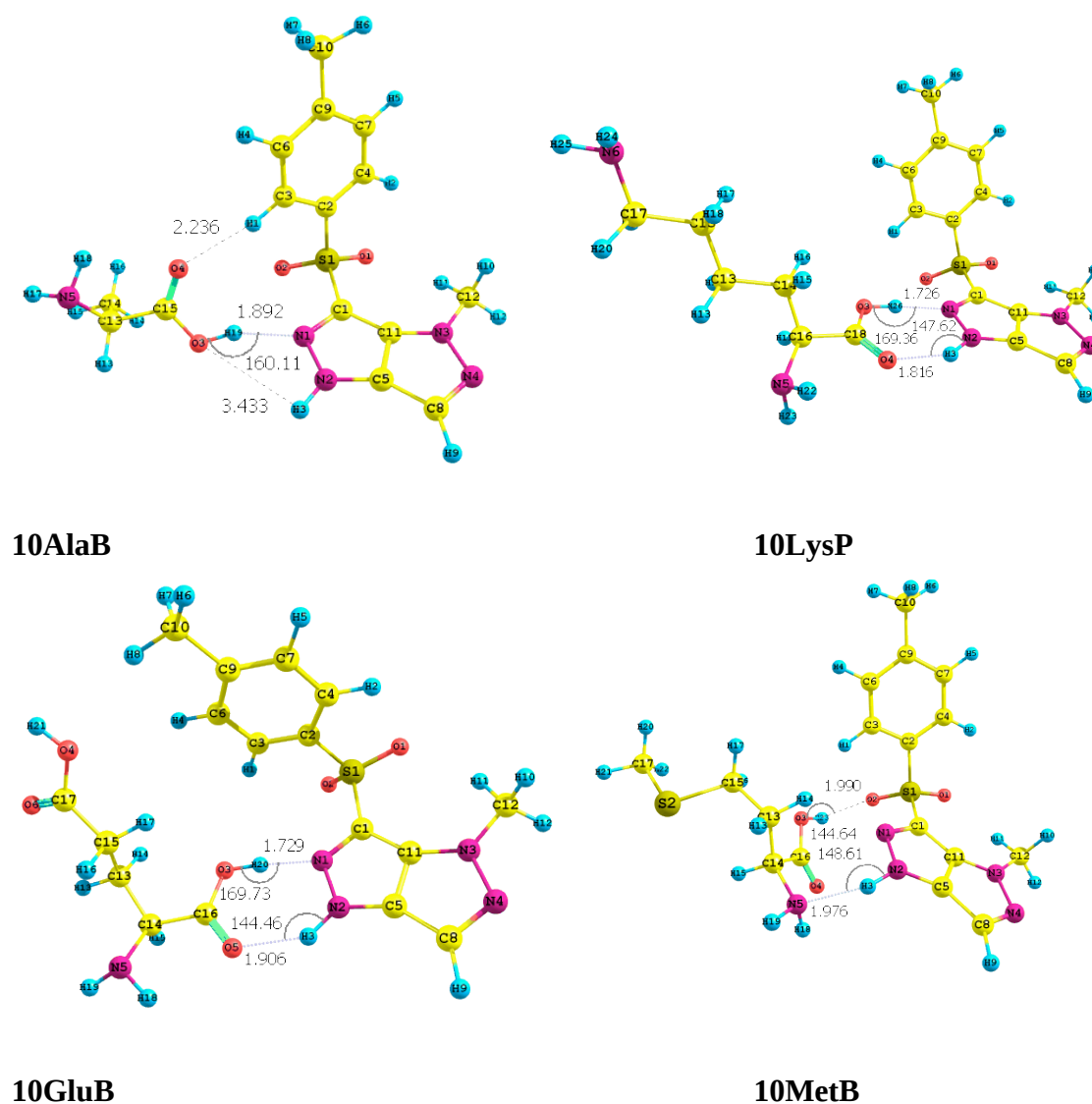
Z punktu widzenia energii oddziaływania azolu **10** (**Rys. 3**) z kwasem glutaminowym (**Tabela 2**) najkorzystniejszym okazały się addukty **10GluB** (**Rys. 5**, zastosowanie do optymalizacji podejścia B3LYP/6-31G(d,p)) i **10GluP** (wykorzystanie do optymalizacji funkcjonału PBE0), w przypadku których wydaje się, iż największy wkład w energię układu posiadały dostrzeżone kontakty HB typu $N-H\cdots O=C$ ($l_{N-H} = 1,023 \text{ \AA}$, $d_{H-O} = 1,906 \text{ \AA}$, $\theta = 144,5^\circ$) i $O-H\cdots N$ ($l_{O-H} = 1,006 \text{ \AA}$, $d_{H-N} = 1,729 \text{ \AA}$, $\theta = 169,7^\circ$). Z kolei użycie do optymalizacji adduktu **10**-Glu funkcji polaryzacyjnych i rozmytych (**10GluB6**, podejście B3LYP/6-311+G(d,p)) skutkowało obniżeniem co do wartości bezwzględnej energii oddziaływania, na co wpływ miał jeden silny kontakt typu $N-H\cdots O=C$. Podobnym do poprzednio wymienionego modelu poziomem energii wzajemnego oddziaływania cechował się addukt **10GluB-C** uwzględniający interakcję terminalnej grupy karboksylowej aminokwasu oraz systemu pirazolowego azolu, co było uwarunkowane również utworzeniem silnego kontaktu typu $N-H\cdots O=C$. Ponadto podobnie, jak to było w przypadku oddziaływania azolu z lizyną, interakcja grupy aminowej aminokwasu położonej w pozycji α z atomami azotu hetarenu **10** i utworzenie kontaktu typu $N-H\cdots NH_2$ miało najmniej wpływ na energię oddziaływania w obrębie powstałego adduktu **10GluB- α N**.

Zastosowanie funkcjonału B3LYP w celu optymalizacji adduktu badanego hetarenu z metioniną pozwoliło na uzyskanie modelu **10MetB** (**Rys. 5**) z najbardziej (spośród wszystkich wygenerowanych adduktów **10**-Met) ujemną wartością energii oddziaływania posiadającym w swej budowie dwa silne kontakty HB typu: $N-H\cdots NH_2$ ($l_{N-H} = 1,033 \text{ \AA}$, $d_{H-O} = 1,976 \text{ \AA}$, $\theta = 148,6^\circ$) i $O-H\cdots O_2S$ ($l_{O-H} = 0,981 \text{ \AA}$, $d_{H-N} = 1,990 \text{ \AA}$, $\theta = 144,6^\circ$). Optymalizacja z zastosowaniem podejścia B3LYP/6-311+G(d,p) skutkowało otrzymaniem adduktu **10MetB6** znacznie mniej korzystnego energetycznie, tworzącego kontakt typu $O-H\cdots O_2S$. Wykazałem również w publikacji, iż, analogicznie do oddziaływania azolu z Glu oraz Lys, interakcja grupy aminowej metioniny w pozycji α z systemem pirazolu rzutowała na uzyskanie adduktu **10MetB- α N** o znacznie mniej korzystnym poziomie energii interakcji w obrębie powstałego adduktu, w budowie którego odnotowałem jedynie dwa słabe kontakty typu: $N-H\cdots NH_2$ i $NH_2\cdots O_2S$.

Tabela 2. Obliczone energie interakcji pomiędzy azolem **10** (**Rys. 3**) i aminokwasami: Ala (**10Ala**), Lys (**10Lys**), Glu (**10Glu**) i Met (**10Met**). Przyrostki dodane do nazw (akronimów) adduktów oznaczają, iż były one zoptymalizowane z użyciem następujących przybliżeń: **B**, **B-C**, **B-N**, **B- α N** – B3LYP/6-31G(d,p); **B6** – B3LYP/6-311+G(d,p); **C** – CAM-B3LYP/6-31G(d,p); **P**, **P-N**, **P- α N** – PBE0/6-31G(d,p); **M** – M06L/6-31G(d,p).

Addukt	Energia oddziaływania (kcal mol ⁻¹)	
	B3LYP/6-31G(d,p)	B3LYP/6-311++G(2d,3p)
10AlaB	-9.36	-8.77
10AlaB6	-9.24	-8.67
10AlaC	-9.28	-8.68
10AlaP	-9.33	-8.74
10AlaM	-8.56	-8.07
7AlaB-N	-10.85	-8.73
10LysB	-5.11	-4.73
10LysB6	-14.88	-14.73
10LysC	-15.70	-14.81
10LysP	-15.96	-15.06
10LysM	-15.46	-14.57
10LysP-N	1.05	1.41
10LysP-αN	-8.69	-7.20
10GluB	-15.88	-14.85
10GluB6	-10.90	-9.97
10GluC	-15.53	-14.46
10GluP	-15.88	-14.84
10GluM	-14.30	-13.34
10GluB-αN	-9.70	-7.71
10GluB-C	-9.94	-9.14
10MetB	-13.69	-11.67
10MetB6	-8.63	-8.39
10MetC	-13.19	-11.11
10MetP	-13.19	-11.11
10MetM	-3.08	-2.37
10MetB-αN	-8.42	-7.79

Mając na względzie wnioski płynące z powyższych rozważań - w stosunku do adduktów azolu **10** (**Rys. 3**) z ww. aminokwasami wykazujących najbardziej ujemną energię oddziaływania (czynnik BSSE) - odnotowane w ich strukturze wiązania wodorowe przeanalizowałem na gruncie analizy QTAİM. Reasumując wyniki tej analizy dla wygenerowanych w publikacji adduktów, pragnąłbym podkreślić, iż oszacowane wartości Laplacjanu $\nabla^2\rho$ okazały się pozytywne i stosunkowo małe, co dowodziło wysoce elektrostatycznej natury tychże kontaktów wodorowych. Z kolei eliptyczność analizowanych kontaktów HB przyjmowała wartości 0,01–0,04, co potwierdzało cylindryczność oraz wysoką kierunkowość tychże wiązań. Uogólniając nasuwające się wnioski, stwierdzić przy tym należało, iż w obrębie adduktów **10AlaB**, **10LysB6**, **10LysM** oraz **10MetB** dostrzec można było znacznie silniejsze wiązania wodorowe niż to miało miejsce w przypadku adduktów: **10AlaM**, **10LysP**, **10GluB6**, jak i **10MetB6**.



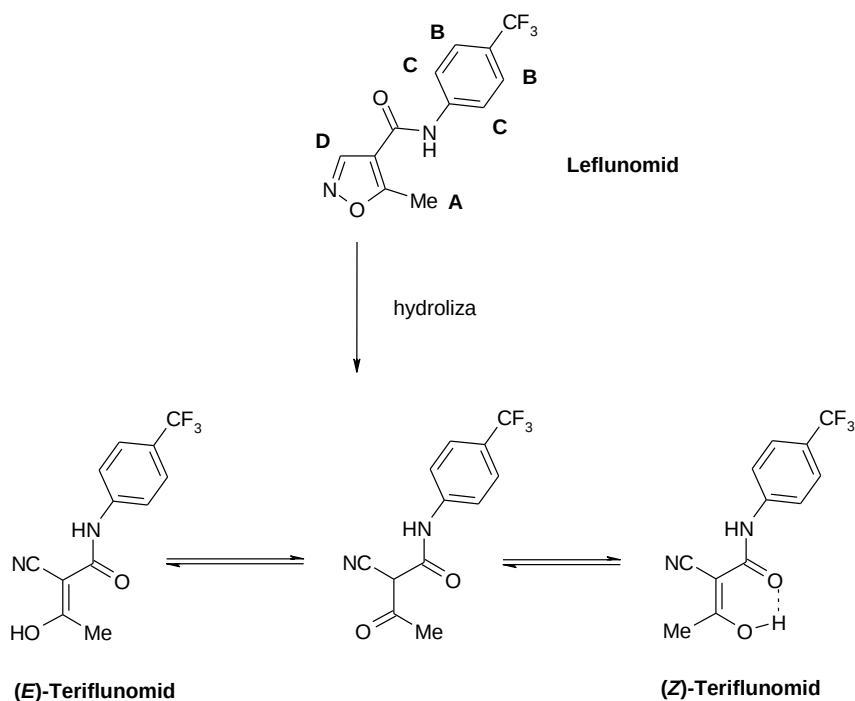
Rys. 5. Zoptymalizowane addukty azolu **10** (Rys. 3) z poszczególnymi aminokwasami.

W ostatniej fazie badań wszystkie uzyskane addukty przeanalizowałem pod kątem tworzonych przez azol widm ^1H NMR (metoda GIAO, trimetylosilan TMS jako wzorzec wewnętrzny), skupiając uwagę na zmianie oszacowanych przesunięć chemicznych protonów oraz wyznaczając parametr MAD (ang. mean absolute deviation), jak również oceniając oszacowaną wartość stałej sprzężenia spinowo-spinowego (ang. spin-spin coupling constant) w obrębie utworzonych kontaktów wodorowych i kąta θ w relacji donor–akceptor HB. Wykazałem przy tym, iż względem niemal wszystkich adduktów cechujących się najbardziej ujemną wartością energii oddziaływania (**Tabela 2**, **10AlaB**, **10LysP**, **10GluB**) uzyskiwano, w porównaniu do eksperymentalnego protonowego widma NMR azolu, relatywnie niskie, satysfakcjonujące wartości parametru MAD. Stwierdziłem ponadto m.in., iż w przypadku

oddziaływania azolu z lizyną w adduktach tworzących silny kontakt N-H...O=C (addukty **10LysB** i **10LysP**) długości wiązań HB oraz odnoszące się do nich wartości kąta torsyjnego oraz stałej sprzężenia okazały się zbliżone.

Oddziaływania *leflunomidu* i jego aktywnego metabolitu w otoczeniu chemicznym

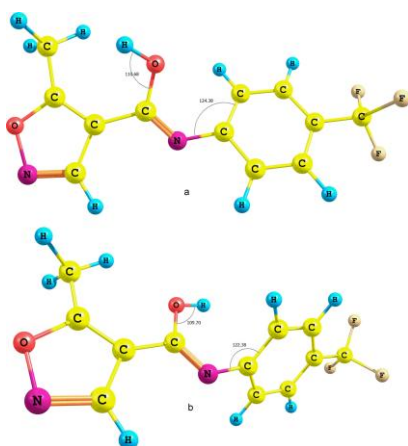
Kontynuując rozważania przyświecające myśli przewodniej niniejszej dysertacji, wykorzystując formalizm DFT, analizę wiązań wodorowych w oparciu o energię interakcji z uwzględnieniem błędu superpozycji bazy, jak również obraz spektralny protonowego rezonansu jądrowego aktywnych farmakologicznie azoli, pragnąłbym omówić wyniki zaprezentowane w publikacji **H.3**, a odnoszące się do *leflunomidu* (**Rys. 1**) oraz jego aktywnego metabolitu, *teriflunomidu* (**Rys. 6**).



Rys. 6. Struktura *leflunomidu* i izomerów jego aktywnego metabolitu – *teriflunomidu*.

Przesłanką do podjęcia rozważań były literaturowe dane dotyczące oddziaływania *teriflunomidu* z arginina (Arg) oraz tyrozyna (Tyr) dehydrogenazy dihydrobursztynianowej (DHODH) oraz cząsteczkami wody. Należy w tym miejscu podkreślić, iż moja publikacja w swym oryginalnym podejściu obejmowała pełną analizę DFT (funkcjonał B3LYP, faza gazowa, jak również model rozpuszczalnikowy CPCM oraz woda jako rozpuszczalnik) wszystkich możliwych rotamerów (E) i (Z) ww. metabolitu (w niniejszym opracowaniu

zastosowano oryginalną numerację poszczególnych rotamerów oraz adduktów), jak również implementację podejścia QM:MM (ONIOM) w ocenie interakcji *teriflunomid*–DHODH (plik 3GOU.pdb pobrany z bazy Protein Data Bank [47]), a także metodę GIAO (TMS jako wzorzec wewnętrzny) pozwalającą na zdefiniowanie wpływu Arg oraz Tyr na obraz spektralny *leflunomidu* w oparciu o ocenę zmiany przesunięć chemicznych jego protonów oraz średniego błędu procentowego. W tym kontekście wykazałem, iż w celu wyznaczenia wartości tensorów magnetycznych zastosowanie wyższej bazy czy funkcji rozmytych wcale nie skutkowało większą korelacją obliczonych przesunięć chemicznych protonów w zestawieniu z danymi eksperymentalnymi. Poza tym w świetle uzyskanych na tym etapie wyników podatność ugrupowania amidowego na otoczenie chemiczne (m.in. zdolność tworzenia kontaktów wodorowych z cząsteczkami wody) nie budził żadnych wątpliwości (błąd procentowy zmian przesunięć chemicznych protonów w podejściu B3LYP/6-31G(d,p)//B3LYP/6-31G(d,p)/woda oraz B3LYP/6-311+G(d,p)//B3LYP/6-311+G(d,p)/woda wynosił odpowiednio: 29 i 28%). Uwzględniłem także mobilność protonu grupy amidowej mogącą skutkować tautomerią keto-enolową anionowej postaci *leflunomidu*. Mając to na względzie, generując jego izomery *syn* i *anti* co do położenia hydroksylu względem do mostka C=N (**Rys. 7**), oszacowałem ich różnicę energetyczną na poziomie 3,28 kcal/mol, typując izomer *anti* jako bardziej preferowany energetycznie (podejście B3LYP/6-31G(d,p)), przy czym wpływ grupy trifluorometylowej związanej z systemem fenylowym na tautomeryzację okazał się zaniedbywalny.



Rys. 7. Tautomery *syn* i *anti* *leflunomidu* z różnym położeniem (**a** bądź **b**) hydroksylu.

W kolejnej fazie badań swoją uwagę skupiłem na ocenie energii oddziaływania (z uwzględnieniem czynnika BSSE w przybliżeniu B3LYP/6-31G(d,p)) izomerów (*E*)- i (*Z*)-*teriflunomidu* z tyrozyną, jak również tegoż metabolitu z arginina w połączeniu z cząsteczką wody. Godne podkreślenia jest to, iż w publikacji brano pod uwagę wpływ grupy hydroksylowej, amidowej (-CO, -NH) oraz nitrylowej *teriflunomidu* w relacji z polarnymi grupami poszczególnych aminokwasów. Wyniki uzyskane na drodze obliczeń zostały zebrane w **Tabeli 3** i **Tabeli 4**, przy czym addukty **X–XVII** odnosiły się do oddziaływania *teriflunomidu* z tyrozyną, z kolei addukty **XIX** i **XX** odnosiły się do systemu: (*E*)-*teriflunomid*–woda–arginina, a addukty **XXI–XXIII** związane były z systemem (*Z*)-*teriflunomid*–woda–arginina. Mnogość danych uzyskanych w toku realizacji prac badawczych, zarówno w zakresie analizy tworzących się kontaktów HB, jak i oceny energii oddziaływania poszczególnych adduktów, pozwoliła na wysnucie uogólnionych wniosków, które można by sprowadzić do stwierdzenia, iż w interakcji *teriflunomidu* z tyrozyną, jak i arginina wiodącą rolę odgrywało jego ugrupowanie amidowe, a wpływ grupy nitrylowej okazał się najmniejszy. Odnotowałem także fakt, iż obecność wewnątrzcząsteczkowego HB pomiędzy karbonyłem a enolowym hydroksylem *teriflunomidu* skutkowało obniżeniem (co do wartości bezwzględnej) poziom oddziaływania badanego metabolitu z aminokwasami. Nie ulegało przy tym wątpliwości, iż izomeryzacja (*E*)-*teriflunomidu* podwyższała siłę oddziaływania analitu z tyrozyną i arginina. Swego „rodzaju kropką na i” dokumentującą kluczową rolę ugrupowania amidowego *teriflunomidu* z makrocząsteczką DHODH było zastosowanie przeze mnie dwóch dwuwarstwowych modeli obliczeniowych ONIOM (PM6:UFF), przy czym model pierwszy obejmował optymalizację wszystkich atomów, z kolei w modelu drugim optymalizacja obejmowała atomy łączące oraz warstwę QM (tj. zoptymalizowany *teriflunomid* oraz jego otoczenie do 4Å). Wyniki obliczeń zostały przedstawione na **Rys. 8** oraz zebrane w **Tabeli 5**.

Tabela 3. Porównanie energii oddziaływania adduktów *teriflunomidu* z uwzględnieniem jego izomerów (*Z*) oraz (*E*).

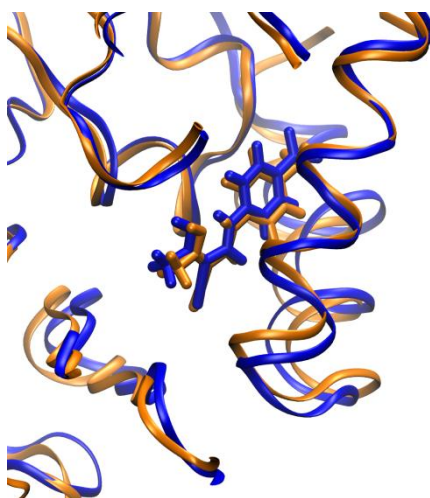
<i>Teriflunomid</i>	<i>E</i> izomer		<i>Z</i> izomer		
Grupa zaangażowana w oddziaływanie	Addukt	Energia interakcji [kcal/mol]	Addukt	Energia interakcji Rotamer <i>teriflunomidu</i> z wewnętrznym HB [kcal/mol]	Energia interakcji Rotamer <i>teriflunomidu</i> bez wewnętrznego HB [kcal/mol]
OH	X	-10,94	XIV	-4,90	-7,28
NH	XI	-3,53	XV	-7,14	-19,95
CO	XII	-5,84	XVI	-3,55	-7,67
CN	XIII	-2,41	XVII	-2,10	

Tabela 4. Obliczona energia interakcji (kcal/mol) izomerów (Z)- lub (E)-teriflunomidu z arginina poprzez cząsteczkę wody – addukty **XVIII–XXIII**; E_{H_2O} – energia interakcji teriflunomidu z cząsteczką wody; E - energia interakcji adduktu teriflunomid–woda–arginina.

<i>Teriflunomid</i>	<i>E izomer</i>	<i>Z izomer</i>	<i>E izomer</i>		<i>Z izomer</i>	
Kompleks	<i>Teriflunomid</i> –woda		<i>Teriflunomid</i> –woda–Arg			
Grupa zaangażowana w oddziaływanie	<i>E</i> _{H2O} [kcal/mol]	<i>E</i> _{H2O} [kcal/mol]	Addukt	<i>E</i> [kcal/mol]	Addukt	<i>Z</i> [kcal/mol]
OH	–14,24	–11,50	XVIII	–23,95	XXI	–76,70
NH	–5,80	–6,50	XIX	–11,20	XXII	–8,82
CO	–4,18	–1,89	XX	–3,26	XXIII	–11,59

Tabela 5. Obliczone odległości (Å) pomiędzy teriflunomidem a poszczególnymi aminokwasami w obrębie kieszeni DHODH; 3GOU – oryginalne białko DHODH pobrane z bazy PDB (nieoptymalizowane), FMN – flawinowy mononukleotyd (kofactor); RMS = 1,763 (model 1) bądź 0,187 (model 2); Tyr – tyrozyna, Arg – arginina, Pro – prolina, Leu – leucyna, Val – walina.

Oddziaływanie <i>teriflunomid–aminokwas</i>	3GOU	model 1	model 2
OH ... O _{Tyr356}	2,710	2,546	2,570
CN ... H–N _{g(Arg136)}	3,499	3,106	3,076
CH₃ ... CH₃ (FMN)	4,037	3,420	4,112
CH₃ ... CH₃ (Val134)	4,006	3,615	4,037
CN ... O _{Pro52}	4,100	4,853	4,128
CH_{phenyl} ... CH₃ (Leu46)	3,847	3,401	3,589
F₃C ... C_{ring} (Pro364)	4,058	4,716	4,476
C=O_{amide} ... (H₂N)₂C _{Arg136}	4,308	2,862	2,823

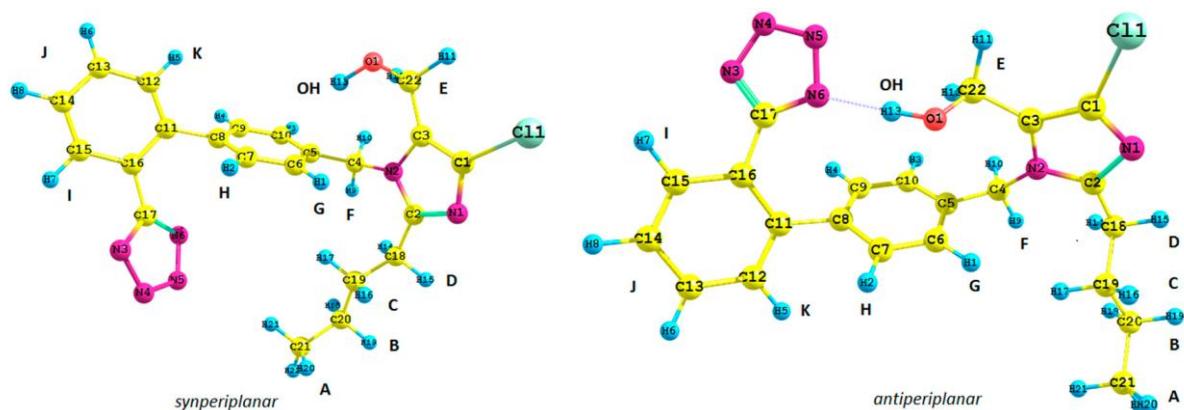


Rys. 8. Struktura kompleksu teriflunomid–DHODH zoptymalizowana w oparciu o metodę ONIOM; niebieski – model po optymalizacji, pomarańczowy – oryginalna struktura kompleksu DHODH (plik 3GOU.pdb).

Oddziaływania losartanu w otoczeniu chemicznym

Liryczny balet spektroskopii ^1H NMR oraz obliczeń kwantowo-mechanicznych zaprzęgniętych w Mickiewiczowskim ujęciu „szkiełka i oka” do analizy właściwości

strukturalnych i spektralnych aktywnych farmakologicznie azoli znalazł swoje odzwierciedlenie w publikacji **H.4** uwzględnionej w niniejszym cyklu, a poświęconej wymienionemu we wstępie *losartanowi* (**Rys. 1**). Dotychczasowe dane literaturowe odnosiły się jedynie do izomerów *anti* analitu (uwzględniających położenie pierścieni imidazolu i tetrazolu względem systemu fenyłowego), a metodologia obliczeniowa ograniczona była do jednego funkcyjonu, obliczeń ^{13}C NMR jedynie w fazie gazowej bądź dotyczyły aspektów dynamiki molekularnej w relacji *losartan*–białko. W prezentowanej publikacji zastosowałem optymalizację izomerów *syn* i *anti* anionowej formy *losartanu* (**Rys. 9**), uwzględniając zarówno fazę gazową, jak i model rozpuszczalnikowy CPCM i wodę jako rozpuszczalnik. Poza tym wszystkie rotamery, jak i ich klaster z cząsteczkami wody były optymalizowane w oparciu o formalizm DFT (podejścia: a) B3LYP/6-31G(d,p), b) CAM-B3LYP/6-31G(d,p), c) B3LYP/6-311+G(d,p), d) PBE1PBE/6-31G(d,p)), jak i metodę perturbacyjną Möllera-Plesseta MP2 [49](podejście MP2/6-31G(d,p)). Z kolei w celu wyznaczenia wartości tensorów magnetycznych zastosowałem metodę GIAO oraz zoptymalizowany TMS jako wzorzec (H^{ref}), analizując przy tym zmiany przesunięć chemicznych protonów *losartanu* względem danych eksperymentalnych. W badaniu uwzględniłem również analizę Badera (QTAIM). W niniejszym autoreferacie zastosowałem oryginalną numerację rotamerów oraz pozycji (lokantów) badanego analitu.



Rys. 9. Możliwe izomery anionowej formy *losartanu*: synperiplanarna (*syn*) i antiperiplanarna (*anti*) konformacja; literami oznaczono analizowane w widmie NMR lokanty.

W swych rozważaniach szczególny nacisk położyłem na ocenę zmian oszacowanych przesunięć chemicznych protonów metylu A łańcucha butylowego oraz grupy hydroksylowej *losartanu* (**Rys. 9**), dla których wartości względnego błędu procentowego okazały się największe, a uzyskane wyniki przedstawione zostały w **Tabeli 6**. Istotna w tym kontekście

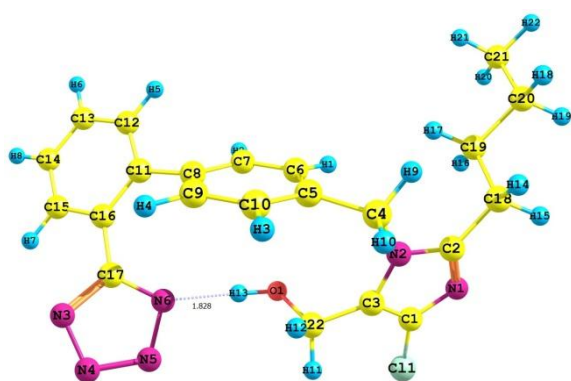
była labilność protonu hydroksylu, jak i ekranowanie protonów metylu A oraz efekt steryczny związany z bliskością atomów azotu pierścienia tetrazolu. Na gruncie teoretycznych rozważań wykazałem, iż zastosowanie modelu CPCM, w porównaniu do wyników uzyskanych w fazie gazowej, w przypadku izomerów *syn* analitu wiązało się z poprawą wartości względnego błędu procentowego dotyczącego przesunięć chemicznych protonów A i OH, szczególnie wobec rotamerów optymalizowanych przy użyciu funkcjonału PBE0. Z kolei optymalizacja klasterów *syn-losartanu* z cząsteczkami wody w fazie gazowej zaowocowało spadkiem wartości błędu procentowego protonów E w porównaniu do wyników uzyskanych dla odpowiadających im niezhydratowanych rotamerów (**Rys. 9**). Przy zastosowaniu funkcjonału B3LYP w stosunku do protonów metylu A odnotowałem spadek wartości błędu z 93% (rotamer **I**) do 43% (klaster **IX**), a użycie funkcjonału PBE0 zmodyfikowało te wartości z 94% (rotamer **I**) do 50% (klaster **X**).

Względem izomerów antiperiplanarnych anionowej postaci *losartanu* w wygenerowanych modelach zwracałem uwagę odległość pomiędzy hydroksylem a systemem tetrazolowym azolu. Różnica odległości N6_{tetrazole}-HO przed i po optymalizacji rotamerów **XI** (optymalizowanym w przybliżeniu B3LYP/6-31G(d,p) w fazie gazowej) i **XII** (optymalizowanym w przybliżeniu B3LYP/6-31G(d,p) w modelu CPCM) lub **XIII** (optymalizowanym w przybliżeniu PBE1PBE/6-31G(d,p) w fazie gazowej) i **XIV** (optymalizowanym w przybliżeniu PBE1PBE/6-31G(d,p) w modelu CPCM) utrzymywała się na podobnym poziomie i wynosiła 0,04 Å. Bliskość protonu OH względem heteroatomów tetrazolu (szczególnie w przypadku rotamerów **XI** i **XIII** optymalizowanych w fazie gazowej z użyciem funkcjonałów odpowiednio: B3LYP i PBE0, **Rys. 10**) rzutowała generalnie na wzrost wartości procentowego błędu względnego protonów badanego azolu. Zastosowanie jednakże modelu CPCM z użyciem względem *anti*-izomerów *losartanu* funkcjonałów B3LYP i PBE0 skutkowało obniżeniem wartości błędu procentowego przesunięć chemicznych protonów metylu A. W oparciu o formalizm DFT stwierdziłem ponadto, iż zastosowanie funkcjonału PBE0 podczas optymalizacji w fazie gazowej klasterów *anti*-izomerów *losartanu* z cząsteczkami wody nie wpłynęło istotnie na zmianę wartości procentowego błędu względnego przesunięć chemicznych protonów metylu A i grupy hydroksylowej. W odniesieniu do funkcjonału B3LYP spadek ten był nieznaczący.

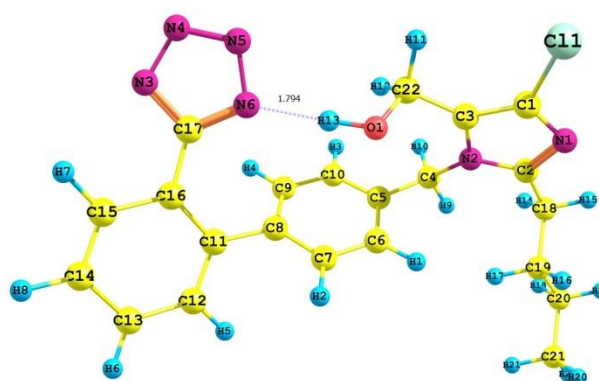
Tabela 6. Obliczone procentowe błędy względne (E) przesunięć chemicznych protonów A oraz OH anionowej formy *losartanu*, jak również wartości współczynnika regresji (R^2) i błędu MAD jako czynniki opisujące zgodność teoretycznego widma ^1H -NMR z danymi eksperymentalnymi; zastosowano następujące podejścia: (a) B3LYP/6-31G(d,p); (b) PBE1PBE/6-31G(d,p); (c) MP2/6-31G(d,p).

Procentowy błąd względny (E) (%)												
Protony	a				b				c			
	Vacuum		Woda		Vacuum		Woda		Vacuum		Woda	
	I	XI	II	XII	VII	XIII	VIII	XIV	XVII	XIX	XVIII	XX
	<i>syn</i>	<i>anti</i>	<i>syn</i>	<i>anti</i>	<i>syn</i>	<i>anti</i>	<i>syn</i>	<i>anti</i>	<i>syn</i>	<i>anti</i>	<i>syn</i>	<i>anti</i>
A	93	20	93	26	94	18	14	25	94	18	28	28
OH	95	27	95	7	94	31	96	12	97	30	95	12

Parametry												
R^2	0.71	0.96	0.73	0.99	0.72	0.95	0.75	0.99	0.72	0.97	0.75	0.99
MAD	0.76	0.40	0.58	0.28	0.77	0.43	0.63	0.37	0.67	0.34	0.65	0.36



rotamer XI



rotamer XIII

Rys. 10. Izomery *anti* anionowej postaci *losartanu* optymalizowane w fazie gazowej z użyciem funkcjonału B3YP (rotamer XI) bądź PBE0 (rotamer XIII).

Z kolei wnioski płynące z analizy teoretycznego widma ^1H NMR zoptymalizowanych w fazie gazowej i w oparciu o model CPCM *syn*- i *anti*-izomerów badanego azolu z wykorzystaniem metody MP2 można sprowadzić do stwierdzenia, iż wartości procentowego błędu względnego przesunięć chemicznych protonów metylu A i OH okazały się przeważnie mniejsze w

przypadku izomerów antiperiplanarnych anionowej formy *losartanu*, przy czym należy podkreślić, iż kosztowność zastosowanej metody w relacji z uzyskanymi danymi wydaje się nie dawać jej przewagi w stosunku do formalizmu DFT. Synergizm zmian wartości błędu procentowego w odniesieniu do obrazu spektralnego protonowego NMR ze zjawiskiem możliwego oddziaływania hydroksylu z systemem tetrazolowym azolu znalazł również swoje odbicie w wykonanym eksperymencie ^1H NMR, przy czym uwzględniłem modyfikację zastosowanego stężenia analitu oraz temperatury pomiaru. W widmach NMR dało się zaobserwować, iż wraz ze wzrostem temperatury triplet pochodzący od protonu OH ulegał wyraźnej migracji ‘upfield’, przy czym zmiana stężenia *losartanu* nie rzutowała na modyfikację przesunięcia chemicznego tegoż ugrupowania. W ostatniej fazie badań możliwość interakcji pomiędzy pierścieniem tetrazolu a hydroksylem została przeze mnie zweryfikowana z użyciem analizy QTAİM, która wykazała istnienie ścieżki wiązania (ang. bond path) $\text{N}^{\cdots}\text{H}-\text{O}$ pomiędzy punktami krytycznymi w oddziaływaniu $\text{N6}_{\text{tetrazole}} \cdots \text{HO}-\text{CH}_2-$ imidazol.

Oddziaływania ‘konazoli’ w otoczeniu chemicznym

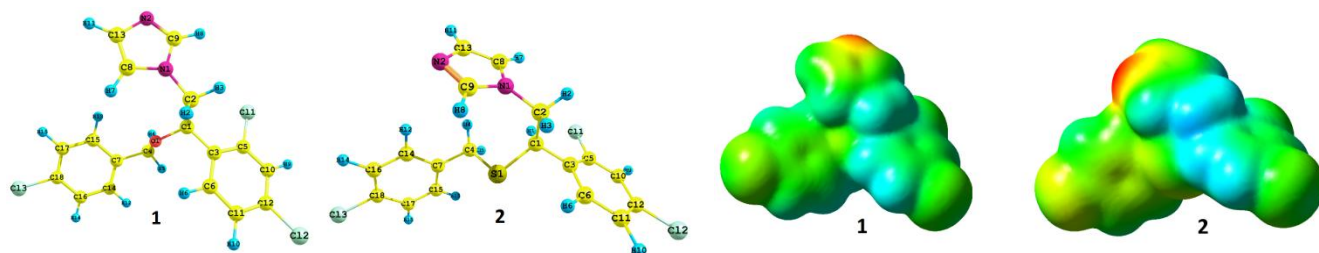
Mając na względzie analizę interakcji biologicznie aktywnych azoli w swym otoczeniu chemicznym, metodologię obliczeń kwantowo-mechanicznych, w tym formalizm DFT, jak i generowanie wartości izotropowych i anizotropowych tensorów magnetycznych w obrazie spektralnym ^1H NMR, a także symulacje widm IR oraz UV-Vis przenieśliem również na grunt wykazujących aktywność przeciwgrzybiczą azoli z grupy tzw. ‘konazoli’ (**Rys. 1**). Publikacje **H.5–H.7** będące elementem składowym prezentowanego cyklu odnoszą się w szczególności do azolowych substancji aktywnych: *ekonazolu* i *sulkonazolu* (publikacja **H.5**), *itrakonazolu* i *ketokonazolu* (publikacja **H.6**) oraz *posakonazolu* (publikacja **H.7**). Pierwsze dwie publikacje poświęcone są rozważaniom dotyczącym analogów strukturalnych różniących się jedynie: mostkowym heteroatomem siarki bądź tlenu (*sulkonazol* lub *ekonazol*) lub też funkcjonalizacją atomu azotu piperazyny (*itrakonazol* lub *ketokonazol*). *Posakonazol* jest izosterem strukturalnym *itrakonazolu* różniącym się podstawieniem grupą hydroksylową terminalnego łańcucha alkilowego związanego z systemem triazolinonu oraz obecnością atomów fluoru związanych z pierścieniem fenylovym w położeniu analogicznym do atomów chloru *itrakonazolu*. Warto przy tym nadmienić, iż oryginalność publikacji **H.5–H.7** zawiera się w stwierdzeniu, iż tak wielowątkowe i implementujące różnorodność metod obliczeniowych podejście do zagadnień analizy spektralnej i oceny ich interakcji w otoczeniu

chemicznym nie było dotychczas zastosowane w odniesieniu do przeciwwgrzybiczych azoli. Optymalizacja poszczególnych rotamerów wszystkich omawianych w tej sekcji azoli odbywała się z uwzględnieniem wysokich kryteriów konwergencji (ang. very tight criteria, słowa kluczowe użyte w plikach startowych: opt=vtight, int=ultrafine) oraz następujących podejść: a) B3LYP/6-31G(d,p), b) CAM-B3LYP/6-31G(d,p), c) B3LYP/6-311+G(d,p), d) PBE1PBE/6-31G(d,p), e) M06L/6-31G(d,p) oraz f) APF/6-31G(d,p). Ponadto, z uwagi na złożoność struktury *posakonazolu*, wstępna pre-optymalizacja jego rotamerów przebiegała z użyciem m.in. parametrów mechaniki molekularnej oraz pola siłowego Amber, po czym tak wygenerowane rotamery były dodatkowo optymalizowane przy użyciu podejścia półempirycznego PM7 [49], a następnie ich geometria była udokładniana w reżimie DFT przy użyciu ww. wcześniej funkcjonałów, metod i baz funkcyjnych.

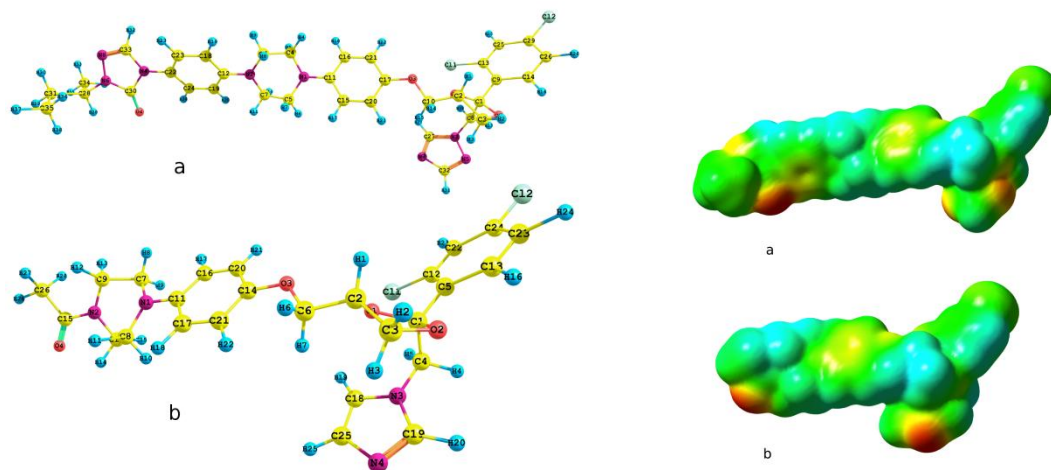
Wobec zoptymalizowanych rotamerów poszczególnych azoli przeprowadziłem analizę ich potencjału elektrostatycznego (ang. molecular electrostatic potential, MEP) z wykorzystaniem funkcjonału B3LYP (**Rys. 11–13**). Uzyskane wyniki okazały się zgodne z danymi literaturowymi odnoszącymi się do poszczególnych badanych hetarenów. Dodatkowym aspektem badań w przypadku *posakonazolu* była odpowiedź na pytanie, jaka konformacja pierścienia piperazynowego rzutująca na układ przestrzenny całej cząsteczki byłaby preferowana. Wykazałem, iż, biorąc pod uwagę model zawierający konformację skrzyśniętej łódki (ang. twist boat) bądź krzesła (ang. chair) tegoż azolu, na gruncie obliczeń QM single-point (B3LYP/6-311++G(2d,3p)) oraz półempirycznych PM7 (wyznaczony parametr ‘heat of formation’, HOF) stwierdzić należało, iż konformacja owej skrzyśniętej łódki była wyraźnie faworyzowana.

Kolejną fazą badań w przypadku omawianych publikacji **H.5–H.7** była symulacja widm IR i porównanie uzyskanych liczb falowych z danymi eksperymentalnymi, przy czym na gruncie oscylatora harmonicznego w obliczeniach w przypadku *itrakonazolu* i *ketokonazolu* (publikacja **H.6**), jak i *posakonazolu* (publikacja **H.7**) uwzględniłem dodatkowo tzw. ‘Grimme's D2 dispersion model’ oraz ‘Petersson-Frisch dispersion model’ funkcjonału APFD (dla rotameru *posakonazolu* zoptymalizowanego przy użyciu funkcjonału APF). W przypadku *ekonazolu* wykazałem, iż największą zgodność teoretycznego i eksperymentalnego widma IR dawał rotamer optymalizowany przy użyciu funkcjonału B3LYP, z kolei w odniesieniu do *sulkonazolu* prym wiódł funkcjonał PBE0 użyty do optymalizacji geometrii danego rotameru. W odniesieniu do geometrii referencyjnej *itrakonazolu* i *ketokonazolu* (odpowiednie pliki pobrane z bazy PubChem, publikacja **H.6**) największą zgodność w ujęciu strukturalnym

uzyskałem dla rotameru optymalizowanego z użyciem funkcjonału CAM-B3LYP (*itrakonazol*, RMSD wynosił 1,25) bądź M06L (*ketokonazol*, RMSD wyniósł 0,67).



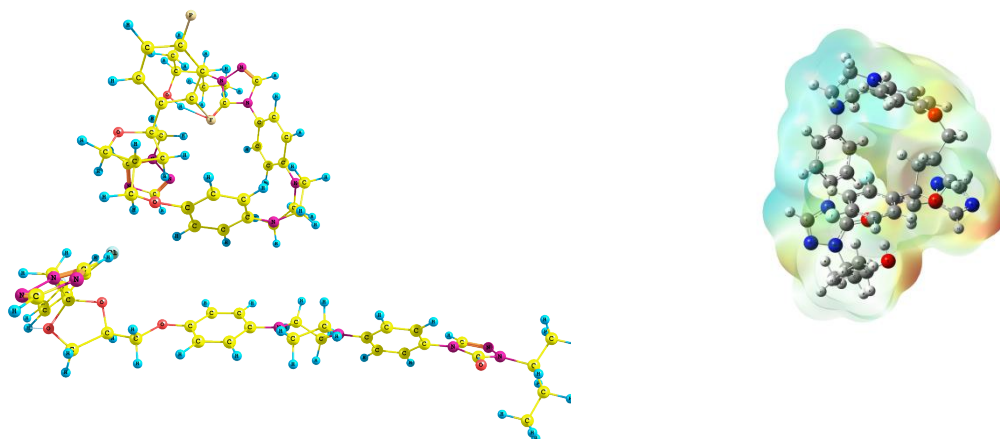
Rys. 11. Analiza MEP *ekonazolu* (1) i *sulkonazolu* (2) wraz z rzutem geometrii po optymalizacji (zastosowano oryginalną numerację zawartą w publikacji H.5).



Rys. 12. Analiza MEP *itrakonazolu* (a) i *ketokonazolu* (b) wraz z rzutem geometrii po optymalizacji (zastosowano oryginalne oznaczenia zawarte w publikacji H.6).

Kontynuacja badania w zakresie wykorzystania metodologii *in silico* w analizie spektralnej omawianych ‘konazoli’ skłoniła mnie do niebanalnego w swej wymowie stwierdzenia, iż źródłem fascynujących wyników okazała się analiza danych związanych z obliczeniami dotyczącymi wertykalnych stanów wzbudzonych w oparciu o podejście TD DFT oraz porównanie tak uzyskanego obrazu spektralnego z danymi eksperymentalnymi UV. Należy wspomnieć, iż w swych obliczeniach uwzględniałem zarówno fazę gazową, jak i model rozpuszczalnikowy CPCM oraz rozpuszczalniki: woda, acetonitryl oraz metanol (te trzy zastosowałem w przypadku *sulkonazolu* i *ekonazolu*, jednakże z uwagi na większą

rozpuszczalność badanych azoli w metanolu właśnie ten rozpuszczalnik brany był pod uwagę w przypadku pozostałych układów heterocyklicznych).

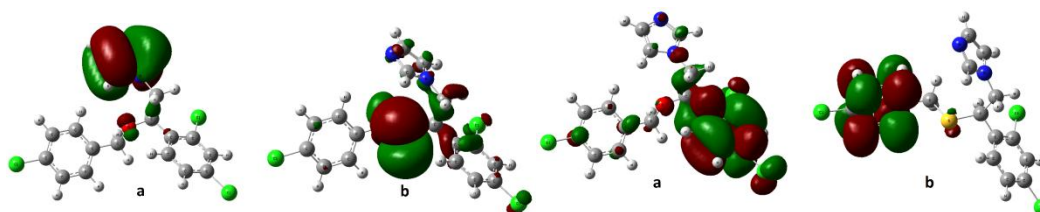


Rys. 13. Analiza MEP *posakonazolu* (prawa strona, publikacja [H.7](#)) wraz z rzutem geometrii po optymalizacji (lewa strona, poniżej na dole dla porównania rzut geometrii jego analogu, *itrakonazolu*).

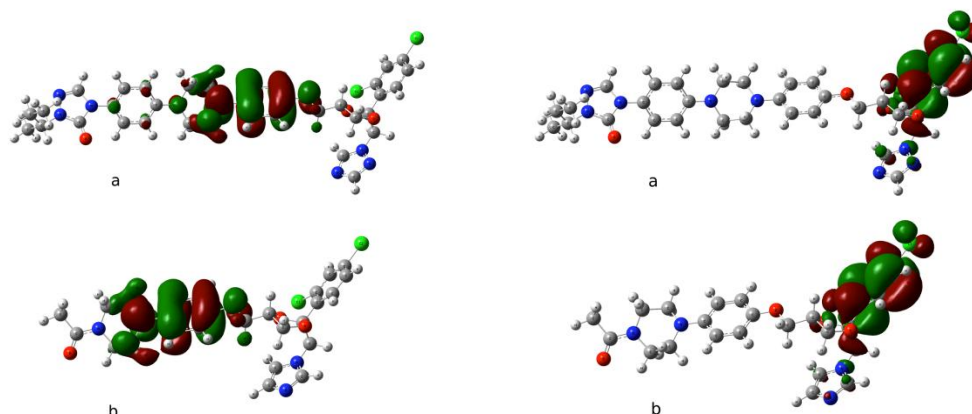
Zadałem sobie przy tym trud, by odpowiedzieć na nurtujące mnie pytania, w tym m.in.:

- jaki funkcjonal najlepiej opisuje teoretyczne widmo UV w porównaniu do danych eksperymentalnych?
- przejścia elektronowe pomiędzy jakimi spinoorbitalami wnoszą największy wkład w opis elektronowy pierwszego stanu wzbudzonego?
- jaki jest rozkład orbitali HOMO–LUMO oraz jaką wartość przyjmuje HOMO–LUMO *gap* [50] dla danego azolu?

Na **Rys. 14–16** przedstawiłem rozkład orbitali HOMO–LUMO uzyskany w oparciu o wyniki obliczeń wertykalnych stanów wzbudzonych (linear response TD DFT, podejście: funkcjonal/6-311++G(2d,3p)) w modelu rozpuszczalnikowym CPCM (metanol użyty jako rozpuszczalnik) w odniesieniu do omawianych w tej części przeciwgrzybiczych azoli.



Rys. 14. Rozkład orbitali HOMO (**a**) oraz LUMO (**b**) uzyskany w odniesieniu do *ekonazolu* (lewa strona) oraz *sulkonazolu* (prawa strona).



Rys. 15. Rozkład orbitali HOMO (a) oraz LUMO (b) uzyskany w odniesieniu do *itrakonazolu* (lewa strona) oraz *ketokonazolu* (prawa strona).



Rys. 16. Rozkład orbitali HOMO (lewa strona) oraz LUMO (prawa strona) uzyskany w odniesieniu do *posakonazolu* (a i b oznaczają różne rzuty perspektywiczne).

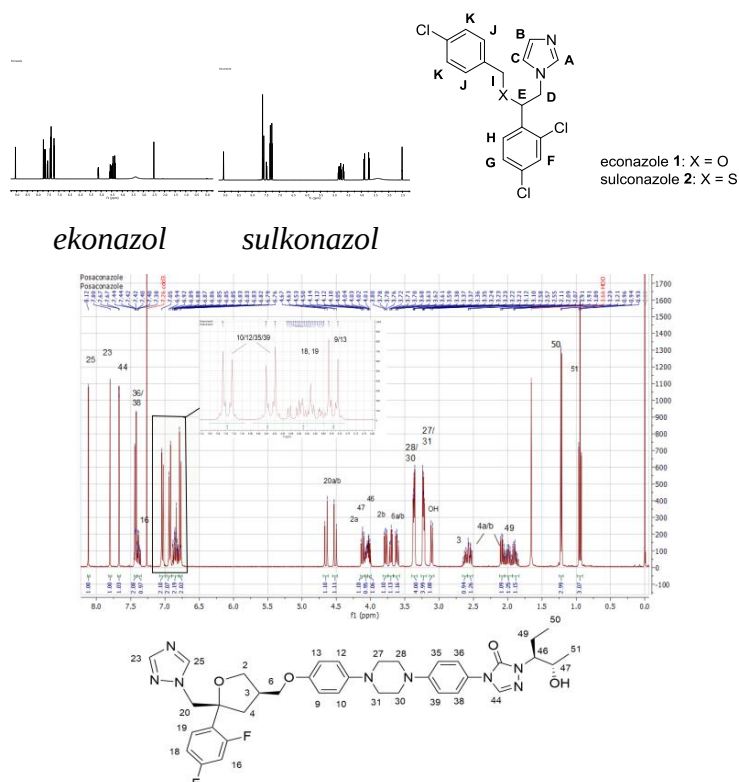
W świetle pozyskanych danych stwierdziłem, iż największą zgodność z widmem eksperymentalnym UV, szczególnie mając na względzie pierwszy stan wzbudzony i maksimum absorpcji ($\lambda_{\max}$) lub piki analityczne, uzyskałem dla rotameru optymalizowanego z użyciem funkcjonału: B3LYP (*ekonazol*), PBE0 (*sulkonazol*), CAM-B3LYP (*itrakonazol*, *ketokonazol*, *posakonazol*).

Wykazałem ponadto, iż orbitale HOMO w przypadku *sulkonazolu* zlokalizowane były zasadniczo na mostkowym atomie siarki, z kolei zastąpienie tegoż heteroatomu atomem tlenu w przypadku *ekonazolu* zreorganizowało położenie orbitali HOMO, koncentrując je tym razem na jego systemie imidazolowym. Orbitale LUMO *sulkonazolu* dały się zaobserwować na pierścieniu 2,4-dichlorofenyłowym, a w przypadku *ekonazolu* – na pierścieniu

p-chlorofenylowym (**Rys. 14**). W przypadku *itrakonazolu* i *ketokonazolu* rozkład orbitali HOMO–LUMO (**Rys. 15**) okazał się podobny i obejmował: w przypadku orbitali HOMO – mostkowy atom tlenu, pierścień fenylowy oraz system piperazyny z wyjątkiem atomów C22 (*itrakonazol*) bądź C11 (*ketokonazol*). Podobnie, jak to miało miejsce w przypadku *sulkonazolu*, orbitale LUMO w odniesieniu do *itrakonazolu* i *ketokonazolu* zlokalizowane były na pierścieniu 2,4-dichlorofenylowym. Podobieństwo do *itrakonazolu* odnotowałem również w przypadku rozkładu HOMO–LUMO *posakonazolu* (**Rys. 16**), w odniesieniu do którego orbitale HOMO obejmowały swym zasięgiem system fenylowy (z wyjątkiem triazolinonu), piperazynowy i fenoksyłowy, z kolei orbitale LUMO zlokalizowane były na pierścieniu difluorofenylowym.

Pragnąłbym jednocześnie zaznaczyć, iż w odniesieniu do pierwszego stanu wzbudzonego największy wkład energetyczny miały następujące przejścia elektronowe: HOMO → LUMO (*sulkonazol*, *ekonazol*, *itrakonazol*, *ketokonazol*) bądź HOMO → LUMO+7 (*posakonazol*), przy czym oszacowane współczynniki (ang. coefficients; odczytane z plików wynikowych) odnoszące się do przejść elektronowych pomiędzy konkretnymi spinoorbitalami pierwszego stanu wzbudzonego wskazują, iż największy wkład tychże przejść wyrażony w procentach przyjmował następujące wartości: 95 (*ekonazol*), 85 (*sulkonazol*), 99 (*itrakonazol*), 100 (*ketokonazol*) oraz 26% (*posakonazol*). Ponadto wyznaczona dla wszystkich badanych azoli wartość HOMO–LUMO *gap* oscylowała w zakresie 3,98–5,35 eV i przyjmowała następujące wartości: 5,34758 (*ekonazol*), 5,15248 (*sulkonazol*), 3,91357 (*itrakonazol*), 3,97942 (*ketokonazol*) oraz 4,3258 eV (*posakonazol*).

Wartością dodaną związaną z wynikami analizy TD DFT azoli znajdujących się w obszarze mojego zainteresowania była także przeprowadzona przeze mnie analiza Natural Bond Orbital (NBO), w przebiegu której szczególną uwagę zwracałem na heteroatomy biorące udział w rozkładzie orbitali HOMO–LUMO przeciwgrzybiczych ksenobiotyków. Szczegółowy, numeryczny opis rezultatów analizy NBO przekracza znacząco rozmiary prezentowanej dysertacji i przedstawiony został w publikacjach **H.5–H.7**.



Rys. 17. Struktura *sulkonazolu*, *ekonazolu* (góra) i *posakonazolu* (dół) analizowana na gruncie obliczeń NMR (zastosowano oryginalny opis lokantów zawarty w publikacjach [H.5](#) i [H.7](#)).

Jedną z myśli przewodnich cyklu publikacji przedstawionego do oceny było zaprzęgnięcie obliczeń kwantowo-mechanicznych w celu symulacji widm protonowego rezonansu magnetycznego aktywnych farmakologicznie azoli. Owo podejście z użyciem metody GIAO (TMS jako wzorzec wewnętrzny) znalazło swoje odzwierciedlenie w wynikach zaprezentowanych w publikacjach [H.5](#) i [H.7](#) (**Rys. 17**) dotyczących analizy NMR: *sulkonazolu* i *ekonazolu* ([H.5](#)), jak i *posakonazolu* ([H.7](#)). Odnotowałem przy tym fakt, iż w przypadku obojga tych azoli największa wartość procentowego błędu względnego przesunięć chemicznych dotyczyła protonów imidazolu A i metylenowych D z uwagi na efekt steryczny, tj. ich względną bliskość. Ponadto wysoką wartość parametr ten osiągnął w przypadku protonów I w budowie *sulkonazolu*, na co niewątpliwy wpływ miało sąsiedztwo dużego atomu siarki. Poczynione obserwacje korespondowały z danymi literaturowymi [51-52]. Z kolei optymalizacja adduktów *sulkonazolu* i *ekonazolu* z cząsteczkami wody w fazie gazowej skutkowała obniżeniem wartości błędu względnego przesunięć chemicznych protonów A i D oraz spadkiem ogólnej wartości parametru MAD (z 0,49 do 0,35 w stosunku do *ekonazolu* oraz z 0,56 do 0,42 w odniesieniu do *sulkonazolu*) rotamerów badanych cząsteczek. Wnioskować przy tym należało, iż bliskie sąsiedztwo cząsteczek polarnego rozpuszczalnika istotnie wpływała polarność i labilność protonów C-H_A i C-H_D badanych ‘konazoli’. W

eksperymentalnym widmie ^1H NMR *posakonazolu* (**Rys. 17**) odnotowałem rozszczepienie (ang. splitting) sygnału protonu hydroksylu oraz migrację ‘upfield’ odnoszącego się do niego dubletu wraz ze wzrostem temperatury, który to sygnał jednak nie ulegał wygaszeniu przy zmianie stężenia analitu. W tym miejscu pragnąłbym zaznaczyć, iż z podobnym zjawiskiem Czytelnik mógł się zapoznać, analizując wyniki zawarte w publikacji **H.4**, a odnoszące się do omawianego uprzednio *losartanu*. Analizując zmiany przesunięć chemicznych wyznaczonych metodą GIAO, dostrzegłem, iż największą wartością procentowego błędu względnego cechowały się protony OH, metylenu pierścienia tetrahydrofuranu oraz 51 łańcucha alkilowego. Przyczynę tego zjawiska należało upatrywać: w labilności protonu hydroksylu, w efekcie sterycznym sprowadzającym się do bliskości systemu 2,4-difluorofenyłowego (w odniesieniu do poszczególnych rotamerów odległość $\text{CH}_2\cdots\text{F}$ wahała się w zakresie 2,58–2,77 Å) i triazolu (odległość $\text{CH}_2\cdots\text{N-21}$ oscylowała w zakresie 2,61–3,99 Å) oraz sąsiedztwa pierścienia triazolinonu (odległość $\text{OH}\cdots\text{O}=\text{C}$ wahała się w zakresie 1,80–4,87 Å, odległość $\text{O-H}\cdots\text{N42}$ oscylowała w przedziale 2,59–2,76 Å). Rozpatrując prawdopodobieństwo tworzenia wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego pomiędzy protonem OH a atomem azotu bądź tlenu triazolinonu *posakonazolu*, w oparciu o wyniki obliczeń oraz z uwagi na fakt, iż w pierwszym przypadku doszłoby do utworzenia bardziej energetycznie faworyzowanego sześcioczłonowego pierścienia, kontakt $\text{O-H}\cdots\text{N42}_{\text{triazolinon}}$ wydawał się być znacząco preferowany.

Piśmiennictwo

- [1] Eicher T., Hauptmann S. *The Chemistry of Heterocycles* **2003**, 2nd Ed. Wiley-VCH Verlag, Weinheim.
- [2] Popielarska H., Myka A., Drabińska B., Gruszczyńska A., Kruk J., Kurczab R., Kujawski J. *Przem. Chem.* **2013**, 92, 6, 905-914.
- [3] Peyton L.R., Gallagher S., Hashemzadeh M. *Drugs Today* **2015**, 51, 12, 705-718.
- [4] Shrivastava A., Chakraborty A.K., Upmanyu N., Singh A. *Austin J. Anal. Pharm. Chem.* **2016**, 3, 4, id1076 [1-23]
- [5] Shu-Guang Zhang, Chao-Gen Liang, Wei-Hua Zhang *Molecules* **2018**, 23, 2783 [1-41]
- [6] Patrick G.L. *An Introduction to Medicinal Chemistry*, wyd. 4, Oxford University Press **2009**.
- [7] Rückemann K., Fairbanks L.D., Carrey E.A., Hawrylowicz C.M., Richards D.F., Kirschbaum B., Simmonds H.A. *J. Biol. Chem.* **1998**, 273, 21682-21691.
- [8] Liu H., Liu X., Wei X., Chen L., Xiang Y., Ti F., Zhang X. *Brain Res. Bull.* **2012**, 89, 65-70.
- [9] Allen D., Wilson D., Drew R., Perfect J. *Expert. Rev. Anti Infect. Ther.* **2015**, 13, 6, 787-798.
- [10] Fielding L. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2007**, 51, 219-242.
- [11] Vokáčová Z., Trantírek L., Sychrovský V. *J. Phys. Chem. A* **2010**, 114, 37, 10202-10208.

- [12] Yilmazer N.D., Korth M. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, 17, 742 [1-13].
- [13] Cala O., Guillièrre F., Krimm I. *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, 406, 943-956.
- [14] Pierens G.K. *J. Comput. Chem.* **2014**, 35, 18, 1388–1394.
- [15] Sobczyk L., Grabowski S.J., Krygowski T.D. *Chem. Rev.* **2005**, 105, 10, 3513–3560.
- [16] Desiraju G. R. *Crystal Engineering. The design of organic solids*, Elsevier, Amsterdam, **1989**.
- [17] Lehn J.-M. *Science* **1993**, 260, 1762-1763.
- [18] van Duijneveldt F.B., van Duijneveldt-van de Rijdt G.C.M.J., van Lenthe J.H. *Chem. Rev.* **1994**, 94, 1873.
- [19] Jeziorski B., Moszynski R., Szalewicz K. *Chem. Rev.* **1994**, 94, 7, 1887-1930.
- [20] Boys S.F., Bernardi F. *Mol. Phys.* **1970**, 19, 553-566.
- [21] Oliveira B.G., Araújo R.C.M.U., Carvalho A.B., Ramos M.N. *J. Mol. Model.* **2009**, 15, 123-131.
- [22] Papadopoulos A.G., Sigalas M.P. *J. Mol. Model.* **2011**, 17, 1669-1678.
- [23] Özdemir N. *J. Mol. Model.* **2012**, 19, 1, 397-406.
- [24] Zhao Shu-sen, Shi Wen-jing, Wang Jian-long *J. Mol. Model.* **2013**, 19, 163-171.
- [25] Fodil R., Sekkal-Rahal M., Sayede A. *J. Mol. Model.* **2017**, 23, 31 [3-10].
- [26] Feynman R.P. *Phys. Rev.* **1939**, 56, 340.
- [27] Sobczyk L., Grabowski S.J., Krygowski T.D. *Chem. Rev.* **2005**, 105, 10, 3513-3560.
- [28] Bader R. *Chem. Rev.* **1991**, 91, 5, 893-928.
- [29] Trani F., Scalmani G., Zheng G., Carnimeo I., Frisch M.J., Barone V. *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, 7, 3304-3313.
- [30] Jacquemin D., Benedetta Mennucci B., Adamo C. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, 13, 16987-16998.
- [31] Affek A., Niemyjska M., Wępa M. *Biul. Wydz. Farm. WUM* **2017**, 1, 1-7.
- [32] Avendaño, C.; Menéndez, J. C. *Medicinal Chemistry of Anticancer Agents*, Elsevier **2008**.
- [33] Baraldi P.G., Bovero A., Fruttarolo F., Preti D., Tabrizi M.A., Pavani M.G., Romagnoli R. *Med. Res. Rev.* **2004**, 24, 4, 475-528.
- [34] Baraldi P.G., Beria I., Cozzi P., Geroni C., Espinosa A., Gallo M.A., Entrena A., Bingham J.P., Hartley J.A., Romagnolia R. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 3911-3921.
- [35] Kinoshita T., Warizaya M., Ohori M., Sato K., Neya M., Fujii T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 55-58.
- [36] Ahasan N.B., Islam Md.R. *Bangladesh J. Pharmacol.* **2007**, 2, 81-87.
- [37] Jones L.H., Allan G., Barba O., Burt C., Corbau R., Dupont T., Knöchel T., Irving S., Middleton D.S., Mowbray C.E., Perros M., Ringrose H., Swain N.A., Webster R., Westby M., Phillips C. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 1219-1223.
- [38] Goodman K.B., Cui H., Dowdell S.E., Gaitanopoulos D.E., Ivy R.L., Sehon C.A., Stavenger R.A., Wang G.Z., Viet A.Q., Xu W., Ye G., Semus S.F., Evans C., Fries H.E., Jolivet L.J., Kirkpatrick R.B., Dul E., Khandekar S.S., Yi T., Jung D.K., Wright L.L., Smith G.K., Behm D.J, Bentley R., Doe C.P., Hu E., Lee D. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 6-9.
- [39] Gui-Dong Zh., Gandhi V.B., Gong J., Thomas S., Woods K.W., Song X., Li T., Diebold R.B., Luo Y., Liu X., Guan R., Klinghofer V., Johnson E.F., Bouska J., Olson A., Marsh K.C., Stoll V.S., Mamo M., Polakowski J., Campbell T.J., Martin R.L., Gintant G.A., Penning T.D., Li Q., Rosenberg S.H., Giranda V.L. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 2990-3003.
- [40] Toton E., Ignatowicz E., Bernard M.K., Kujawski J., Rybczynska M. *J. Physiol. Pharmacol.* **2013**, 64, 1, 115-123.

- [41] Lehmann T.P, Kujawski J., Kruk J., Czaja K., Bernard M.K., Jagodziński P.P. *J. Physiol. Pharmacol.* **2017**, 68, 2, 201-207.
- [42] Šponer J., Leszczynski J. *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 1965-1974.
- [43] <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=309d>; logowanie: styczeń **2015**.
- [44] Kujawski J., Doscocz M., Popielarska H., Myka A., Drabińska B., Kruk J., Bernard M.K. *J. Mol. Struct.* **2013**, 1047, 292-301.
- [45] Czaja K., Kujawski J., Girreser U., Panek J.J., Doscocz M., Bernard M.K. *Arkivoc* **2016**, 4, 22-43.
- [46] Wolinski K., Hinton J.F., Pulay P. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 8251-8260.
- [47] <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=3G0U>; login: lipiec **2014**.
- [48] Frisch M.J., Head-Gordon M., Pople J.A. *Chem. Phys. Lett.* 1990, 166, 275-280.
- [49] Stewart J.J.P. *J. Mol. Model.* **2013**, 19, 1-32.
- [50] Bredas J-L. *Mater. Horiz.* **2014**, 1, 17-19.
- [51] Freer A.A., Pearson A., Salole E.G. *Acta Cryst. Sect. C* **1986**, 42, 1350-1352.
- [52] Shin H.-S., Song H., Cho S., Park K. *Bull. Korean Chem. Soc.* **1997**, 18, 14-18.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.1. Opis działalności naukowo-badawczej przed uzyskaniem stopnia doktora

W 2002 r. ukończyłem studia na Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (obecnie Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, UMP) na kierunku farmacja. Już podczas realizacji pracy magisterskiej pod kierownictwem prof. dra hab. Tadeusza Hermanna w Katedrze i Zakładzie Chemii Fizycznej (obecnie Katedrze i Zakładzie Farmacji Fizycznej i Farmakokinetyki) swoją uwagę skupiałem na strategii syntezy związków heterocyklicznych oraz analizie farmaceutycznej z uwzględnieniem metod UV-Vis, IR oraz NMR, a także było mi dane zaznajamiać się z technikami podziałowymi i ciekłą chromatografią kolumnową (ang. liquid chromatography, LC). W listopadzie 2002 r. zostałem zatrudniony w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej WF UMP w zespole dra hab. Marka K. Bernarda. Od tego czasu roku awansowałem w swej ścieżce zawodowej na kolejne stanowiska naukowo-techniczne, by w 2007 roku w drodze konkursu być zatrudnionym w pionie nauczycieli akademickich. W owym czasie sukcesywnie rozbudowywałem swój warsztat badawczy w zakresie syntezy pochodnych pirazolu i indazolu ze szczególnym uwzględnieniem reakcji *zastępczego podstawienia nukleofilowego atomu wodoru* (ang. vicarious nucleophilic substitution of hydrogen, VNS) [53]. W tym czasie intensywnie uczęszczałem także na wykłady prof. Henryka Koroniaka oraz prof. Elżbiety Wyrzykiewicz z Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza (UAM) w Poznaniu, które obejmowały odpowiednio syntezę i retrosyntezę heterocyklicznych związków biologicznie

aktywnych oraz zagadnienia współczesnej spektrometrii mas (MS). Doświadczenie z zakresu optymalizacji syntez organicznych poszerzyłem w 2008 r., biorąc udział w szkoleniu organizowanym przez firmę Mettler Toledo pt. „Optymalizacja i monitorowanie reakcji chemicznych – bezpieczeństwo reakcji” (**Załącznik 4-1**). Punktem zwrotnym w propagacji moich umiejętności analityczno-poznawczych w zakresie ogólnie rozumianej chemii związków heterocyklicznych było odbycie przeze mnie w 2009 r. dwumiesięcznego **stażu** naukowego w Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (CAU, Pharmazeutische Abteilung) w Kilonii (Niemcy), w grupie badawczej dra Ulricha Girressera (**Załącznik 4-2**). Oprócz intensyfikacji syntezy arylosulfonowych pochodnych pirazolu i indazolu o spodziewanej aktywności przeciwnowotworowej pobyt w CAU w oparciu o doświadczenie dra Girressera stanowił dla mnie wyjątkową okazję do niezmiernie gruntownego zaznajomienia się z „kuchnią” obejmującą przygotowanie próbek analitu do eksperymentu NMR, samodzielną obsługę spektrometru NMR „Bruker”, wykreślenie szeregu widm (w tym szczególnie dwuwymiarowych) oraz obsługę spektrometru mas i wykreślenia szeregu nisko- i wysokorozdzielczych widm MS. Nie mogę przy tym pominąć faktu, iż odbywanie stażu ugruntowało moje zdolności leksykalne w obszarze języka niemieckiego i angielskiego, czego owocem była możliwość przeprowadzenia przez mnie dwóch seminariów z zakresu spektroskopii NMR dla studentów IV roku farmacji. Swego rodzaju podsumowaniem prac badawczych realizowanych podczas tegoż stażu była publikacja eksperymentalna, jaka ukazała się po obronie doktoratu w *Arkivoc* (publikacja **P.15**), łącząca aspekty syntezy azoli, analizy NMR i MS oraz obliczeń kwantowo-mechanicznych. Jak widać, już w tym czasie swoje horyzonty poznawcze starałem się rozbudowywać o zagadnienia chemii obliczeniowej, zarówno odnośnie metodologii predykcji *współczynnika podziału* ($\log P$; rezultatem tegoż podejścia było opublikowanie dwóch punktowanych publikacji: pierwszej **P.1** - w *J. Chem. Educ.*, drugiej **P.11** - w *Comput. Meth. Sci. Technol.*) oraz obliczeń QM i MM dotyczących azoli, symulacji ich właściwości spektralnych oraz procedur dokowania hetarenów do wybranych celów biologicznych. W okresie przed doktoratem nawiązałem także współpracę z drem Markiem Dorskoczem (*RootInnovation* sp. z o.o.), we współpracy z którym podjąłem się próby zaproponowania podejścia analitycznego polegającego na przewidywaniu miejsc oddziaływania małych cząsteczek z otoczeniem chemicznym, w tym z ważnymi z punktu widzenia kancerogenezy jonami magnezu, czego efektem było moje zaangażowanie się (w ramach oddolnej inicjatywy społecznej) w prace portalu internetowego *Molnet.eu* [54], którego autorem jest dr M. Dorskocz, oraz prezentacja wyników prac w ww. zakresie w *J. Mol. Struct.* publikacja **P.3**). W dniach 6-11.09.2010 r. uczestniczyłem w

warsztatach „Toruńskiej Szkoły Chemii Obliczeniowej” organizowanej przez dr Annę Kaczmarek-Kędzię, dra Dariusza Kędzię i dr Martę Ziegler-Borowską z Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika (UMK) w Toruniu (**Załącznik 4-3**). Moje zaangażowanie się w obszarze popularyzacji nauki zaowocowało założeniem w 2011 r. wraz z drem Markiem Daskoczem i drem Jackiem Daskoczem (RootInnovation, sp. z o.o.) *Fundacji Rozwoju Nauki i Biznesu w Obszarze Nauk Medycznych i Ścisłych* (www.pusuj.pl), której jestem v-ce prezesem (wolontariat, **Załącznik 4-4**). W aspekcie oceny aktywności przeciwnowotworowej otrzymywanych sukcesywnie przeze mnie indazolopochodnych (m.in. publikacja **P.2** w Arkivoc) w modelu *in vitro* nawiązałem współpracę z dr Ewą Totoń z zespołu prof. Marii Rybczyńskiej z Katedry i Zakładu Chemii Klinicznej i Diagnostyki Molekularnej WF UMP. Z kolei w celu wyznaczenia eksperymentalnej wartości $\log P$ syntetyzowanych arenów podjąłem się współpracy z dr Agnieszką Sobczak z zespołu dr hab. Izabeli Muszalskiej z Katedry i Zakładu Chemii Farmaceutycznej WF UMP. Biorąc w 2010 r. udział w jednej z cyklicznie organizowanych konferencji *Konwersatorium Chemii Medycznej* (w przebiegu której wygłosiłem ustny komunikat **K.1** „*New fused and dimeric azahetarens with potential cytostatic activity*”), nawiązałem współpracę z jednym z najbardziej uznanych zespołów „obliczeniowców” w kraju, tj. w zespole prof. dra hab. Andrzeja Bojarskiego z Zakładu Chemii Leków Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie, w tym m.in. z drem Rafałem Kurczabem i dr Sabiną Smusz-Podlewską. W roku 2011 pobierałem stypendium JM Rektora UMP dla doktorantów Uczelni. W 2011 r. na zaproszenie zespołu prof. Bojarskiego z IF PAN miałem przyjemność wygłosić wykład „*Synteza i właściwości biologiczne nowych skondensowanych i dimerycznych pochodnych pirazolu*” (**Załącznik 4-5**). W celu udoskonalenia swoich umiejętności w zakresie bioinformatyki w 2011 r. pomyślnie ukończyłem szkolenie z „*Podstaw bioinformatyki*” organizowane przez firmę VitaInSilica w Poznaniu (**Załącznik 4-6**). Na gruncie współpracy ze wspomnianym uprzednio zespołem prof. Bojarskiego w 2012 r. odbyłem dwutygodniowy **staż naukowy**, prowadząc, w oparciu o pakiet *Schrödinger*, bazy naukowe i opracowywane skrypty programowe do automatyzacji obróbki danych, dokowania wybranych indazolopochodnych do kinaz tyrozynowych (**Załącznik 4-7**). Wybrane aspekty materiału literaturowego zebranego podczas tegoż stażu w aspekcie m.in. aktywności biologicznej szeregu pirazolopochodnych zostały opublikowane po obronie mojej rozprawy doktorskiej w *Przemyśle Chemicznym* (publikacja **P.21**). Pragnąc podtrzymywać kontakt w rozumieniu otoczenia biznesowego z zespołem naukowym firmy VitaInSilica w lutym 2013 r. odbyłem organizowane przez nią szkolenie z zakresu projektowania leków „*Projektowanie leków w oparciu o strukturę receptora – teoria i*

praktyka” (**Załącznik 4-8**). W marcu 2013 r. nastąpiła **publiczna obrona** tez będących przedmiotem mojej dysertacji doktorskiej „*Synteza i właściwości biologiczne niektórych skondensowanych pochodnych pirazolu*” (**Załącznik 1**) realizowanej w tutejszej Katedrze pod kierunkiem dra hab. Marka K. Bernarda, częściowo współfinansowanej w ramach projektu promotorskiego NCN (**N N401 642340**), którego byłem głównym wykonawcą.

Piśmiennictwo

[53] Mąkosza M., Wojciechowski K. *Chem. Rev.* **2004**, 104, 2631-2666 i literatura tam cytowana.

[54] www.molnet.eu; logowanie: styczeń **2019**.

Publikacje oryginalne

P.1. Jacek Kujawski*, Marek K. Bernard, Anna Janusz, Weronika Kuźma
„Prediction of log *P* : ALOGPS application in medicinal chemistry education”
J. Chem. Educ. **2012**, 89, 1, 64-67
IF = 0,817
MNiSW = 20,000.

P.2. Marek K. Bernard, **Jacek Kujawski**, Urszula Skierska, Andrzej K. Gzella, Wojciech Jankowski
„On the reactions of tertiary carbanions with some nitroindazoles and nitrobenzotriazoles”
Arkivoc **2012**, 8, 69-186
IF = 1,057
MNiSW = 20,000.

P.3. Jacek Kujawski*, Marek Doscocz, Hanna Popielarska, Anna Myka, Beata Drabińska, Joanna Kruk, Marek K. Bernard
„Interactions between indazole derivative and magnesium cations - NMR investigations and theoretical calculations”
J. Mol. Struct. **2013**, 1047, 292-301
IF = 1,599
MNiSW = 20,000.

Publikacje pogładowe

P.4. Jacek Kujawski*
„Na Ukrainie byłem, a com widział i słyszał, w księgi umieściłem - Lwów 2005... wspomnienia”
Puls AM **2005**, 82, 12-13

P.5. Anna Chodorkowska, Justyna Drzewiecka, **Jacek Kujawski***
„Jak to Lwów brata się z Poznaniem, czyli słów kilka o wizycie ukraińskich farmaceutów”
Puls AM **2005**, 84, 10-11

P.6. Jacek Kujawski*, Marek K. Bernard, Justyna Dawidziak, Anna Janusz, Weronika Kuźma, Mariusz Michałowski, Roman B. Lesyk
„Program PASS. Wykorzystanie do przewidywania aktywności biologicznej w aspekcie badań nad nowymi lekami”
Laboratorium **2009**, 6, 34-36

P.7. Radosław Kujawski, Anna Bogacz, Natalia Derebecka-Hołyś, Joanna Cichocka, **Jacek Kujawski**, Przemysław Ł. Mikołajczak, Teresa Bobkiewicz-Kozłowska, Edmund Grześkowiak, Anna Krajewska-Patan, Bogusław Czerny, Przemysław M. Mrozikiewicz
„Rośliny lecznicze z rodzaju *Epilobium* - działanie biologiczne i farmakologiczne”
Herba Pol. **2010**, 56, 1, 66-82
MNiSW = 9,000.

P.8. Jacek Kujawski*, Anna Janusz, Weronika Kuźma, Marcin Ożarowski, Radosław Kujawski
„Biologicznie ważne substancje zawierające pierścień pirolu - działanie i występowanie”
Farm. Pol. **2010**, 66, 2, 117-125
MNiSW = 6,000.

P.9. Jacek Kujawski*
„Techniki *in silico*. Redukcja niebezpieczeństwa”
Laboratorium **2011**, 11-12, 21-23

P.10. Jacek Kujawski*, Anna Myka
„Partition coefficient ($\log P$) prediction in rationalized drug design - Pt. 1”
Farm. Prz. Nauk. **2011**, 8 (12), 2, 8-13

P.11. Jacek Kujawski*, Hanna Popielarska, Anna Myka, Beata Drabińska, Marek K. Bernard
„The $\log P$ parameter as a molecular descriptor in the computer-aided drug design - an overview”
Comput. Meth. Sci. Technol. **2012**, 18, 2, 81-88
MNiSW = 7,000.

P.12. Jacek Kujawski*, Radosław Kujawski
„Spektroskopia NMR w nowoczesnej farmacji i medycynie - znaczenie i przykłady wykorzystanie. Cz. 1”
Farm. Pol. **2012**, 68, 1, 54-62
MNiSW = 3,000.

Komunikaty ustne

K.1. Jacek Kujawski, Anna Janusz, Anna Myka, Joanna Kruk, Urszula Skierska, Marek K. Bernard
„New fused and dimeric azahetarens with potential cytostatic activity”
III Konwersatorium Chemii Medycznej. Lublin, 20-22 września **2010**.

5.1.1. Udział w projektach naukowych

„Poszukiwanie nowych środków cytotoksycznych wśród dimerycznych pochodnych indazolu” – wykonawca **grantu promotorskiego** NCN na lata 2011-2013 (nr wniosku N N401 642340/2011). **Załącznik 4-9**

„Skondensowane związki heteroaromatyczne o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej” – opiekun grantu Studenckich Badań Naukowych SBN nr 10/2009 (nr tematu 502-05-03308417-50529). **Załącznik 4-10**

„Dimeryczne azahetareny o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej” – opiekun grantu Studenckich Badań Naukowych SBN nr 60/2010 (nr tematu 502-05-03308417-50599). **Załącznik 4-11**

„Nowe skondensowane i dimeryczne analogi pirazolu o aktywności przeciwnowotworowej” – wykonawca uczelnianego grantu promotorskiego na rok 2010 (nr tematu 501-02-03308417-04523-50555). **Załącznik 4-12**

„Właściwości fizykochemiczne i biologiczne trójpierścieniowych hetarenów o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej” – kierownik wydziałowego grantu uczelnianego 2011-2012 (nr tematu 502-1403308417-08345). **Załącznik 4-13**

„Zasadowe indazolopochodne o potencjalnej aktywności cytostatycznej” – opiekun grantu SBN nr 126/2012. **Załącznik 4-14**

„Funkcjonalizowane indazolopochodne o potencjalnej aktywności biologicznej” – opiekun grantu SBN nr 174/2013. **Załącznik 4-15**

„Skondensowane i dimeryczne pirazolopochodne-projektowanie *in silico*” – kierownik grantu obliczeniowego Poznańskiego Centrum Superkomputerowo-Sieciowego, PCSS nr 92/2011-2013. **Załącznik 4-16**

5.1.2. Staże w zagranicznych i krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich

Kwiecień–maj 2009: zagraniczny staż naukowy w Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (CAU, Pharmazeutische Abteilung) w Kilonii (Niemcy) w grupie badawczej dra Ulricha Girressera. **Załącznik 4-2**

Luty 2012: krajowy dwutygodniowy (13-24.02.2012) staż naukowy w Zakładzie Chemii Leków Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie w zespole obliczeniowym prof. dra hab. Andrzeja Bojarskiego. **Załącznik 4-7**

5.2. Opis działalności naukowo-badawczej po uzyskaniu stopnia doktora

W pierwszej fazie okresu po obronie pracy doktorskiej kontynuowałem prace związane z chemią arylosulfonowych pochodnych pirazolu i indazolu i ich aktywnością przeciwnowotworową w modelu komórkowym. W tym celu podtrzymywałem współpracę m.in. z dr Ewą Totoń z Katedry i Zakładu Chemii Klinicznej i Diagnostyki Molekularnej Wydziału Farmaceutycznego macierzystej Uczelni (publikacja **P.13**), ale również podjąłem

się kooperacji z drem Tomaszem Lehmannem z Katedry i Zakładu Biochemii i Biologii Molekularnej Wydziału Lekarskiego I UMP z zespołu prof. dra hab. Pawła Jagodzińskiego (publikacja **P.17**). Był to także czas, w którym rosnąca determinacja co do poszerzania moich horyzontów poznawczych orientowała się w kierunku metodologii chemii obliczeniowej, zainicjowana już w trakcie prac nad rozprawą doktorską. W tym aspekcie efektem odbycia przeze mnie stażu w CAU (2009 r., współpraca z drem U. Girresserem) było rozwijanie metodologii zmierzającej do oszacowania miejsc (pozycji) arylosulfonowych pochodnych pirazolu i indazolu w oddziaływaniu z jonami Mg^{2+} , czego owocem była publikacja w *Arkivoc* (publikacja **P.15**). Ponadto w 2013 r. brałem udział w warsztatach „*Introduction to Gaussian – Theory and Practice*” (organizowanych przez czołową w zakresie chemii kwantowej firmę *Gaussian Ltd.* i Politechnikę Wrocławską, 24–28.06.2013, Wrocław; **Załącznik 4-17**). Okres szczególnie po uzyskaniu stopnia doktora okazał się również dla mnie inspiracją - w rozumieniu oddolnej inicjatywy społecznej - do wzmożonej aktywności w ramach *Fundacji Rozwoju Nauki i Biznesu w Obszarze Nauk Medycznych i Ścisłych*, co przełożyło się m.in. na zorganizowanie przeze mnie wspólnie z drem Markiem Dosczychem przy współpracy z Interdyscyplinarnym Centrum Modelowania (ICM) Uniwersytetu Warszawskiego *III Praktycznej Szkoły Modelowania Molekularnego* (ICM UW, 19–29.03.2013, Warszawa; **Załącznik 4-18**).

W lutym 2014 r. odbyłem dwutygodniowy **staż** w zespole badawczym dra Dariusza Kędzioły oraz dr Anny Kaczmarek-Kędzioły z Wydziału Chemii UMK (**Załącznik 4-19**), intensywnie wgłębiając się w zawiłości: szczególnie symulacji widm IR (z użyciem modeli dyspersyjnych PFGD, GD2 i GD3) oraz NMR (wyznaczanie wartości izotropowych i anizotropowych tensorów magnetycznych, w tym TMS jako H^{ref} , metodą GIAO przy użyciu funkcjonałów GGA, meta-GGA, baz Dunninga czy bazy IGLO-II i IGLO-III w fazie gazowej i wobec rodziny modelu rozpuszczalnikowego PCM). Stosowałem także wówczas podejście *Intrinsic Reaction Coordinate* (IRC) w celu poszukiwania stanów przejściowych na gruncie badania mechanizmów substytucji nukleofilowej aromatycznej (S_N^{Ar}) indazolopochodnych - z użyciem programu *Gaussian G09 D.01* oraz programowania w środowisku systemu operacyjnego Linux (dystrybucja Ubuntu, język C++ oraz Python 3.0, powłoka bash). W 2014 odbyłem szkolenie „*Dynamika molekularna Cara-Parrinello dla niewtajemniczonych*” (16.06.2014; **Załącznik 4-20**) organizowane przez Wrocławskie Centrum Sieciowo-Superkomputerowe (WCSS) i współprowadzone m.in. przez dra hab. Jarosława J. Panka z Zespołu Teoretycznego Modelowania Procesów Chemicznych Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, z którym współpraca (uwidoczniła również w

publikacji **P.15**) rozwijana jest do dnia dzisiejszego. W tym też samym roku uczestniczyłem w warsztatach „*Computational Approaches for Bio-marker Design*” (Politechnika Wrocławska, 23–27.06.2014, Wrocław; **Załącznik 4-21**). W 2015 roku brałem udział w dwóch szkoleniach związanych z chemią obliczeniową. Warsztaty „*Cząsteczka w otoczeniu chemicznym*” odbyły się na terenie WCSS we Wrocławiu (25–27.02.2015; **Załącznik 4-22**) i poświęcone były obliczeniom w QM w różnych modelach solwatacyjnych, jak i metodologii obliczeń QTAIM. Z kolei warsztaty „*1st HADDOCK workshop*” organizowane na terenie Wydziału Biologii UAM w Poznaniu (27–29.05.2015; **Załącznik 4-23**) skupiały moją uwagę na zagadnieniach dokowania ligand–białko i interakcji białko–białko.

Intensyfikacja moich doświadczeń z zakresu chemii kwantowej i metodologii obliczeń pozwoliła mi na m.in. współpracę z drem hab. Kamilem Kamińskim prof. UŚ z Zakładu Biofizyki i Fizyki Molekularnej Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach umożliwiającą mi m.in. podjęcie rozważań kwantowo-mechanicznych dotyczących przechłodzonego ibuprofenu (publikacja **P.14**). Zaangażowanie się w badania właściwości hetarenów w otoczeniu chemicznym przy wykorzystaniu formalizmu DFT umożliwiło mi ponadto nawiązanie współpracy z dr Alicją Urbaniak z Wydziału Chemii UAM w Poznaniu oraz dr Małgorzatą Szeląg z Wydziału Biologii UAM, co na gruncie obliczeń QM pozwoliło mi na zainteresowanie się właściwościami stanów rodnikowych i w konsekwencji przeciwutleniających licznych estrów kwasu kafeinowego (publikacja **P.18**). Implementacja technik DFT, ale również zdobywane doświadczenie w obszarze MD i metodologii półempirycznej PM7 zaowocowała rozwinięciem współpracy z mgr Agnieszką Witkowską, dr Jolantą Brzezińską oraz drem hab. prof. IChB Marcinem Chmielewskim z Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, której wymiernym efektem była publikacja opublikowana w *PLoS ONE* poświęcona m.in. analizie potencjalnych miejsc protonowania pochodnych pirydyny jako prekursorów Termolabilnych Grup Ochronnych (publikacja **P.19**). Z kolei - rozwijana jeszcze od okresu przejścia przeze mnie w 2010 r. obowiązków opiekuna Studenckiego Koła Naukowego *SKN Chemii Organicznej* przy Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej - współpraca z mgr Kornelią Czają, słuchaczką studiów doktoranckich w tutejszej Katedrze, udokumentowana licznymi, wykazanymi w niniejszej dysertacji publikacjami w sferze chemii obliczeniowej, przyczyniła się do powierzenia mi roli **promotora pomocniczego** Jej rozprawy doktorskiej pt. „*Symulacja oddziaływań arylosulfonowych pochodnych indazolu o aktywności przeciwnowotworowej z wybranymi kinazami – studia obliczeniowe*” (decyzja Rady Wydziału Farmaceutycznego UMP nr 29 z dnia 14.11.2018 r.; **Załącznik 4-24**). W tym kontekście, mając na względzie obliczenia MD

(z użyciem pakietu *Gromacs*), nawiązałem nadal rozwijaną kooperację z drem Karolem Kamelem z Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu. Na gruncie mechaniki kwantowej w zakresie analizy NMR badanych azoli współpracuję także z drem Tomaszem Ratajczakiem z Centrum Nowych Technologii Uniwersytetu Warszawskiego (publikacje [H.2](#), [H.4–H.7](#)). Ponadto, wykorzystując swoje zainteresowania w zakresie symulacji interakcji arenów w otoczeniu chemicznym, w obszarze obliczeń dotyczących konsorcjów molekularnych zawierających rdzeń kurkuminy współpracuję z mgr Katarzyną Sową-Kasprzak z zespołu prof. dra hab. Lucjusza Zaprutki w macierzystej Katedrze, będąc współwykonawcą Jej **grantu NCN *Preludium 14*** (UMO-2017/27/N/NZ7/02423; [Załącznik 4-27](#)). Ponadto za swoją aktywność naukową byłem **nagrodzony** przez JMR Rektora UMP ([Załącznik 4-60](#)).

Publikacje oryginalne

P.13. Ewa Totoń, Ewa Ignatowicz, Marek K. Bernard, **Jacek Kujawski**, Maria Rybczyńska
„Evaluation of apoptotic activity of new condensed pyrazole derivatives”
J. Physiol. Pharmacol. **2013**, 64, 1, 115-123
IF = 2,720
MNiSW = 20,000.

P.14. Karolina Adrjanowicz, Kamil Kaminski, Mateusz Dulski, Patryk Włodarczyk, Grażyna Bartkowiak, Lukasz Popenda, Stefan Jurga, **Jacek Kujawski**, Joanna Kruk, Marek K. Bernard, Marian Paluch
„Communication: Synperiplanar to antiperiplanar conformation changes as underlying the mechanism of Debye process in supercooled ibuprofen”
J. Chem. Phys. **2013**, 139, 11, 111103 [1-4]
IF = 3,122
MNiSW = 35,000.

P.15. Kornelia Czaja, **Jacek Kujawski***, Ulrich Girreser, Jarosław J. Panek, Marek Doskocz, Marek K. Bernard
„Possible interactions between fused pyrazole derivative and magnesium ions - NMR experiments and theoretical calculations”
Arkivoc **2016**, 4, 22-43
IF = 1,031
MNiSW = 20,000.

P.16. Justyna Żwawiak, **Jacek Kujawski**, Lucjusz Zaprutko
„Structure - tuberculostatic activity evaluation among isomeric bicyclic nitroimidazoles”
Acta Pol. Pharm. **2017**, 74, 5, 1447-1452
IF = 0,531
MNiSW = 15,000.

P.17. Tomasz P. Lehmann, **Jacek Kujawski**, Joanna Kruk, Kornelia Czaja, Marek K. Bernard, Paweł P. Jagodziński
„Cell-specific cytotoxic effect of pyrazole derivatives on breast cancer cell lines MCF7 and MDA-MB-231”

J. Physiol. Pharmacol. **2017**, 68, 2, 201-207

IF = 2,478

MNiSW = 25,000.

P.18. Alicja Urbaniak, **Jacek Kujawski**, Kornelia Czaja, Małgorzata Szelaż
„Antioxidant properties of several caffeic acid derivatives: a theoretical study”

C.R. Chim. **2017**, 20, 11-12, 1072-1082

IF = 1,877

MNiSW = 25,000.

P.19. Jolanta Brzezińska, **Jacek Kujawski**, Agnieszka Witkowska, Kornelia Czaja, Marek K. Bernard, Marcin K. Chmielewski

„Experimental and computational studies on a protonated 2-pyridinyl moiety and its switchable effect for the design of thermolytic devices”

PLoS ONE **2018**, 13, 9, e0203604 [1-18]

IF = 2,766

MNiSW = 35,000.

Gwiazdką (*) oznaczono mój udział jako autora korespondencyjnego.

Publikacje poglądowe

P.20. Elżbieta Jodłowska, Anna Myka, Joanna Adamus, Kornelia Czaja, Beata Drabińska, Hanna Popielarska, Joanna Kruk, **Jacek Kujawski***

„NMR w nowoczesnej farmacji i medycynie - znaczenie i przykłady wykorzystania. Cz. 2”

Farm. Pol. **2013**, 69, 3, 188-195

MNiSW = 3,00.

P.21. Joanna Kruk, Beata Drabińska, Elżbieta Jodłowska, Anna Myka, Joanna Adamus, Kornelia Czaja, Hanna Popielarska, Paweł Kunstman, Anna Froelich, **Jacek Kujawski***

„Biologicznie ważne substancje zawierające pierścień pirolu - działanie i występowanie. Cz. 2. Pochodne pirazolu”

Farm. Pol. **2013**, 69, 11, 662-676

MNiSW = 3,00.

P.22. Hanna Popielarska, Anna Myka, Beata Drabińska, Aleksandra Gruszczyńska, Joanna Kruk, Rafał Kurczab, **Jacek Kujawski***

„Pochodne pirazolowe. Wyzwanie współczesnej chemii akademickiej i przemysłowej”

Przem. Chem. **2013**, 92, 6, 905-914

IF = 0,367

MNiSW = 15,00.

P.23. Elżbieta Jodłowska, Anna Zacharzewska, Paulina Szulc, Joanna Adamus, Kornelia Czaja, Marek Dąbrowski, Zofia Marchewka, Joanna Kruk, **Jacek Kujawski***

„NMR w nowoczesnej farmacji i medycynie - znaczenie i przykłady wykorzystania. Cz. 3. NMR w metabolomice”

Farm. Pol. **2014**, 70, 2, 94-104
MNiSW = 3,00.

P.24. Joanna Bartkowiak-Wieczorek, Radosław Kujawski, **Jacek Kujawski**, Anna Bogacz
„Użytkowanie i nadzorowanie sprzętu laboratoryjnego”
Laboratorium **2016**, 1-2, 53-58
MNiSW = 2,00.

P.25. Joanna Kruk, Marek Doscocz, Elżbieta Jodłowska, Anna Zacharzewska, Joanna Łakomicz, Kornelia Czaja, **Jacek Kujawski**
„NMR techniques in metabolomic studies: a quick overview on examples of utilization”
Appl. Magn. Reson. **2017**, 48, 1, 1-21
IF = 0,835
MNiSW = 20,000.
Gwiazdką (*) oznaczono mój udział jako autora korespondencyjnego.

Komunikaty ustne

K.2. Jacek Kujawski*, Marek Doscocz, Beata Drabińska, Anna Myka, Joanna Kruk, Marek K. Bernard
„Theoretical studies on the interactions of cytostatic pyrazole derivative with DNA bases”
Curr. Topics Biophys. **2013**, 36, suppl. B, 9-10
EQBS - International Symposium Electromagnetic fields and Quantum phenomena in the Biological Systems. Poznań, 3-4 październik **2013**.

Redakcja monografii

R.1. „Innowacje w polskiej nauce: przegląd aktualnej tematyki badawczej branży chemicznej”
Red. nauk.: **Jacek Kujawski** (red. gł.), Jacek Doscocz
Materiały z I Ogólnopolskiej Konferencji Innowacyjni Naukowcy. Wrocław, 30 V 2016 r.
p-ISBN: 978-83-65357-28-1
Katowice : Wydaw. Nauk. Sophia, 2016.

5.2.1. Udział w projektach naukowych

„Oddziaływania ligandów azaheterocyklicznych o potencjalnej aktywności biologicznej z wybranymi celami biologicznymi” – kierownik grantu obliczeniowego Poznańskiego Centrum Superkomputerowo-Sieciowego, PCSS nr 199/2014 **Załącznik 4-25**

„Analiza kwantowo-mechaniczna oddziaływań biologicznie aktywnych azahetarenów z wybranymi celami biologicznymi” – kierownik grantu obliczeniowego Wrocławskiego Centrum Sieciowo-Superkomputerowego, WCSS nr 327/2014 **Załącznik 4-26**

„Modulowanie struktury i właściwości kurkuminy z wykorzystaniem triterpenowych modyfikatorów oleanowych” – wykonawca grantu NCN **Preludium 14** (UMO-2017/27/N/NZ7/02423, 3.09.2018–2.09.2020) **Załącznik 4-27**

Podsumowanie dorobku naukowego

Podstawowe dane bibliometryczne dotyczące prac opublikowanych w czasopismach z Listy Filadelfijskiej; zliczano wartości punktów MNiSW oraz IF za rok wydania publikacji, cytowania i indeks Hirscha według bazy Web of Science:

Dorobek	Przed obroną pracy doktorskiej	Po obronie pracy doktorskiej	Sumarycznie
Łączna liczba publikacji punktowanych	12	22	34
MNiSW	85,00	371,00	456,00
IF	3,473	28,534	32,007

Łączna liczba doniesień konferencyjnych, posterów: 42.

Łączna liczba cytowań (bez autocytowań): 102 (72).

Indeks h: 7.

5.2.2. Staże w zagranicznych i krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich

10-21.02.2014: staż naukowy Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w zespole obliczeniowym dra D. Kędziery i dr A. Kaczmarek-Kędziery. **Załącznik 4-19**

5.3. Dalsze plany naukowe i oferta współpracy dla stron zainteresowanych

Utrzymanie tendencji rozwojowej każdego naukowca, w tym szczególnie ubiegającego się o kolejny stopień naukowy, winno opierać się na solidnym fundamencie wizji realizacji kolejnych planów naukowych. Swoją uwagę w nadchodzącym czasie pragnęłbym skupić na opisie numerycznym w kategoriach metodologii *in silico* interakcji niskocząsteczkowych (w tym pirazolowych i indazolowych) ligandów z makrocząsteczkami białkowymi biorącymi udział w procesie nowotworzenia (kinazy serynowo-treoninowe czy tyrozynowe, białko PARP, tubulina itd.) ze szczególnym uwzględnieniem: procedur dokowania (programy *AutoDock Vina* i *PLANTS*) i MD (z klasycznym polem siłowym), ale również z polem siłowym DFT według schematu Cara-Parrinello (CPMD) oraz w oparciu o przedyskutowanie oddziaływań typu σ -holes (będących obecnie aspektem ‘hot-topic’) oraz wykorzystując analizę PIEDA (ang. Pair Interaction Energy Decomposition Analysis) dotyczącą wkładu energetycznego poszczególnych aminokwasów kieszeni w oddziaływanie ligand-białko. W roku 2019 pragnę pozyskać finansowanie swoich badań ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach konkursów *Miniatura* (we współpracy z drem hab. Jarosławem J. Pankiem z Uniwersytetu Wrocławskiego) oraz w ujęciu zespołowym *Opus* (m.in. z zespołem dra T. Lehmana oraz prof. P. Jagodzińskiego z UMP). Swoje stale rosnące doświadczenie w obszarze chemii obliczeniowej pragnęłbym zaoferować pracownikom Wydziału

Farmaceutycznego UMP oraz zewnętrznym partnerom na zasadach współpracy zmierzającej do: a) teoretycznego wyznaczania widm w zakresie analizy farmaceutycznej API, nowych połączeń chemicznych czy też struktur pozyskanych z surowców roślinnych (fitochemia), b) poszukiwania aktywnych ligandów (zsyntetyzowanych bądź pozyskanych z surowców) względem wybranych celów biologicznych na drodze procedur dokowania czy podjęć MD i CPMD, c) badania właściwości przeciwutleniających w oparciu o obliczenia dotyczące stanów rodnikowych i mechanizmów: HAT (ang. Hydrogen Atom Transfer), SPLET (ang. Sequential Proton Loss Electron Transfer) czy SET-PT (ang. Single Electron Transfer Followed by Proton Transfer) w różnych modelach rozpuszczalnikowych, co szczególnie może okazać się interesującą ofertą dla zespołów izolujących z surowców roślinnych nowe połączenia chemiczne.

5.4. Działalność dydaktyczna

Jako nauczyciel akademicki prowadzę zajęcia laboratoryjne (ćwiczenia) z przedmiotu „chemia organiczna” dla studentów II roku farmacji (przez cały rok akademicki) oraz I roku analityki medycznej (semestr letni). W roku akademickim 2004/2005 uczestniczyłem w kursie doskonalącym „Podstawy nauczania farmacji” ugruntowującym uprawnienia do kształcenia studentów farmacji i analityki medycznej, prowadzonym przez uczelniany Zakład Edukacji Medycznej (**Załącznik 4-28**). Od 2010 r. kieruję pracami studentów zrzeszonych w Studenckim Kole Naukowym *SKN Chemii Organicznej* przy Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej. Owocem tej działalności był fakt, iż 4 studentki za swoje wyniki naukowe (w tym publikacje z punktacją IF) uzyskały *stypendia naukowe* Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego bądź Ministra Zdrowia (2013, 2015 r.; **Załącznik 4-29** i **Załącznik 4-30**). Ponadto praca magisterska tejże studentki została wyróżniona przez Prezydenta Miasta Poznania w ramach *Nagrody Miasta Poznania za wyróżniającą się pracę magisterską* (**Załącznik 4-31**). Doświadczenie tejże samej studentki zdobyte podczas prac w Kole Naukowym umożliwiło Jej z kolei nabór na studia III stopnia (doktoranckie) na Wydziale Farmaceutycznym oraz pozyskanie najwyższej lokaty spośród wszystkich kandydatów w całej Uczelni przystępujących do naboru. Kierowane przeze mnie Koło Naukowe uzyskiwało wysokie noty w corocznym uczelnianym rankingu kół naukowych. Na moje zaproszenie oraz studentów działających w strukturach kierowanego przeze mnie Koła (przy udziale wydziałowej organizacji studenckiej *ISPE UMP*) swoje wykłady dla studentów farmacji wygłosili następujący pasjonaci nauki: dr Rafał Kurczab i dr Sabina Smusz-Podlowska (oboje z Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie; **Załącznik 4-32** i **Załącznik 4-33**) oraz dr Marta

Jamróż-Dudek (wówczas z Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego; **Załącznik 4-34**). W uznaniu za swoją aktywność na polu dydaktycznym na rzecz rodzimego Wydziału w 2012 r. przez wydziałową organizację zrzeszającą studentów analityki medycznej SKN Biosfera zostałem zaproszony do wykładu „Wybrane techniki *in silico* we współczesnej syntezie i farmacji – przykłady wykorzystania” i udziału w konferencji *Spotkania młodych z nauką* (29.03.2012 r., Poznań; **Załącznik 4-35**). W listopadzie 2016 r. na zaproszenie organizacji studenckiej WF UMP Młoda Farmacja brałem udział w *Symposium Kół Naukowych Wydziału Farmaceutycznego*, przedstawiając działalność i ofertę kierowanego przeze mnie koła naukowego (**Załącznik 4-36**). Swoją pasję dydaktyczną realizowałem także poza strukturami Almae Matris, uczestnicząc w pracach *Fundacji Rozwoju Nauki i Biznesu w Obszarze Nauk Medycznych i Ścisłych*. Przełożyło się to na współorganizowanie szkoleń z obszaru przedsiębiorczości akademickiej, w tym: *Praktycznej Szkoły B+R* (online, 8–9.11.2011; **Załącznik 4-37**). Ponadto byłem i jestem opiekunem bądź promotorem licznych rozpraw magisterskich. Za swoją działalność dydaktyczną byłem **nagrodzony** przez JM Rektora UMP (**Załącznik 4-58**).

5.4.1. Kierownik/opiekun prac magisterskich

2007 r.: „*Próby syntezy układów bi- i tricyklicznych zawierających pierścień pirazolu*” – opiekun
2008 r.: „*Próby optymalizacji nitrowania dibenzotiofenu*” – opiekun
2010 r.: „*Synteza niektórych skondensowanych i dimetrycznych pochodnych pirazolu*” – opiekun
2011 r.: „*Synteza, projektowanie in silico i parametryzacja cząsteczek skondensowanych azoli o charakterze DNA-interkalatorów*” – opiekun
2012 r.: „*Modyfikowane skondensowane i dimeryczne azahetareny o potencjalnej aktywności cytostatycznej - projektowanie i synteza*” – opiekun
2013 r.: „*Projektowanie i synteza sfunkcjonalizowanych azahetarenów o potencjalnej aktywności cytostatycznej*” – opiekun
2015 r.: „*Wykorzystanie produktów reakcji VNS do syntezy ligandów receptora 5-HT₆*” – opiekun
2014 r.: „*Projektowanie i synteza indazolopochodnych o potencjalnej aktywności względem serotoninergicznych 5-HT₆*” – promotor
2015 r.: „*Interakcje biologicznie aktywnych azahetarenów z wybranymi niskocząsteczkowymi ligandami - badania eksperymentalne i in silico*” – promotor; praca wyróżniona przez Prezydenta Miasta Poznania w ramach **Nagrody Miasta Poznania za wyróżniającą się pracę magisterską** **Załącznik 4-31**
2018 r.: „*Interakcje aktywnych przeciwnowotworowo ligandów azolowych z wybranym aminokwasami kieszeni receptorowej kinaz – studia obliczeniowe*” – promotor
2019 r.: „*Oddziaływania aktywnych przeciwnowotworowo ligandów azolowych w kieszeni kinaz tyrozynowych – studia in silico*” – promotor

Do obrony rozprawy doktorskiej byłem opiekunem naukowym **6** rozpraw magisterskich, natomiast po uzyskaniu stopnia naukowego pełniłem rolę opiekuna **2** prac magisterskich oraz byłem (i jestem nadal) promotorem **4** dysertacji (**Załącznik 4-38a i 4-38b**).

5.5. Działalność organizacyjna, popularyzatorska, społeczna

Działalność organizacyjna w sferze inicjatywy społecznej sprowadzała się do aktywności w strukturach współkierowanej przeze mnie **Fundacji Rozwoju Nauki i Biznesu w Obszarze Nauk Medycznych i Ścisłych** i organizacji szkoleń oraz warsztatów (uprzednio wymienionych) z obszaru chemii obliczeniowej oraz ochrony własności intelektualnej i przedsiębiorczości akademickiej. W odniesieniu z kolei do Uczelni byłem członkiem **komitetu organizacyjnego** dydaktycznej konferencji „II Colloquium Pharmaceuticum” (UMP, 12.09.2008 r., Poznań; **Załącznik 4-39**). Ponadto byłem dwukrotnie **opiekunem naukowym** grup studenckich wyjeżdżających w ramach wymiany na „staże” do: a) Narodowego Uniwersytetu Medycznego im. D. Halickiego (2005 r., Lwów, Ukraina; **Załącznik 4-40**), b) Narodowego Uniwersytetu Medycznego w Witebsku (2007, Witebsk, Białoruś; **Załącznik 4-41**). Przez wiele lat organizowałem pobyt na macierzystym Wydziale dla studentów farmacji ze Lwowa i Witebska oraz pełniłem rolę ich opiekuna. W latach 2008–2012 byłem **członkiem Rady Wydziału Farmaceutycznego** UMP z grupy niesamodzielnych pracowników nauki. Za swoją aktywność na polu organizacyjnym na rzecz Wydziału Farmaceutycznego byłem **nagradzany** przez JM Rektora UMP (**Załącznik 4-59 i Załącznik 4-61**). Jestem ponadto członkiem **Wielkopolskiej Okręgowej Izby Aptekarskiej** dysponującym czynnym prawem wykonywania zawodu farmaceuty (**Załącznik 4-42**). W ramach swej aktywności brałem udział w licznych szkoleniach z obszaru **ochrony własności intelektualnej i przedsiębiorczości akademickiej**, których zestawienie zebrano w poniższej tabeli (**Załączniki 4-43–4-53**). Pragnąłbym także nadmienić, iż jestem **ekspertem Narodowego Centrum Badań i Rozwoju** (NCBR) oceniającym projekty małych i średnich przedsiębiorstw składających aplikacje grantowe w ramach programu tzw. „szybkiej ścieżki” Programu Operacyjnego Innowacyjny Rozwój (PO IR) UE (**Załącznik 4-54**).

Szkolenia z zakresu ochrony własności intelektualnej i przedsiębiorczości akademickiej:

Rodzaj	Okres szkolenia
Kurs „Program IDEAS – POMYSŁY – szansa dla polskich naukowców”, Regionalny Punkt Kontaktowy Programów Ramowych UE, Poznań	wrzesień 2008
Kurs „Wnioski o granty”, UAM, Wydział Chemii, Pracownia Fizykochemii Materiałów i Nanotechnologii, Śrem	październik 2008
Szkolenie „Przedsiębiorczy naukowiec”, Centrum Transferu Technologii, Politechnika Krakowska, Kraków	październik 2008
Szkolenie „Jak napisać wniosek do 7PR? Elementy dobrego projektu”, Regionalny Punkt Kontaktowy Programów Ramowych UE, Poznań	listopad 2008
Szkolenie „Zagubieni w sieci dokumentów? Przekraczanie barier - dokumentacja 7. Programu Ramowego UE bez tajemnic”, Poznańskie Centrum Superkomputerowo-Sieciowe PCSS, Branżowy Punkt Kontaktowy dla IT, Poznań	maj 2009
Warsztaty „Własność intelektualna dla przedsiębiorczości akademickiej. Patent na innowacyjny biznes”, Fundacja Rozwoju Regionów ProRegio, Poznań	maj 2009
Warsztaty „Zarządzanie własnością intelektualną – wybrane elementy regulaminu wynalazczości”, Centrum Transferu Technologii Medycznych, Park Technologiczny, Kraków	grudzień 2009
Szkolenie „Po wiedzę dookoła świata – czyli międzynarodowa wymiana pracowników”, Poznański Park Naukowo-Technologiczny, Regionalny Punkt Kontaktowy Programów Ramowych UE, Poznań	luty 2010
Seminarium „Metody ochrony własności intelektualnej”, INVESTIN, Poznań	maj 2010
Warsztaty „Własność intelektualna dla przedsiębiorczości akademickiej. 2. Patent na innowacyjny biznes”, Fundacja Rozwoju Regionów ProRegio, Poznań	maj 2010
„Warsztaty naukowo – praktyczne z zakresu prowadzenia, zarządzania i komercjalizacji badań naukowych” – Górnośląska Wyższa Szkoła Handlowa im. Wojciecha Korfańtego, Katowice	październik 2010 – czerwiec 2011

5.6. Nagrody i wyróżnienia

1.01.2011–31.12.2011 r.: stypendium doktorskie JM Rektora UMP. **Załącznik 4-55**

2011, 2012 r. – dwukrotne stypendium w ramach projektu „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Podziałania 8.2.2 „Regionalne Strategie Innowacji” (Wielkopolski Urząd Pracy, WUP), Działania 8.2, Priorytetu VIII, Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki.

Załączniki 4-56a i 4-56b

2008, 2014 r. – dwukrotna nagroda „Amicus Studiosus” („Amicus Studentium”) przyznawana przez Radę Uczelnianą Samorządu Studenckiego UMP dla najlepszych nauczycieli akademickich w Uczelni. **Załączniki 4-57a i 4-57b**

2012 r. – indywidualna nagroda dydaktyczna JM Rektora UMP za osiągnięcia organizacyjne na rzecz Wydziału Farmaceutycznego. **Załącznik 4-58**

2014 r. – indywidualna nagroda JM Rektora UMP za osiągnięcia organizacyjne na rzecz Wydziału Farmaceutycznego. **Załącznik 4-59**

2014 r. – zespołowa nagroda naukowa JM Rektora UMP za cykl publikacji dotyczący syntezy i właściwości spektralnych i biologicznych układów heterocyklicznych. **Załącznik 4-60**

2016 r. – indywidualna nagroda JM Rektora UMP za osiągnięcia organizacyjne na rzecz Wydziału Farmaceutycznego. **Załącznik 4-61**

5.7. Dokonane recenzje prac dyplomowych i publikacji

Recenzje wydziałowych prac magisterskich **Załącznik 4-62**

2014 r.: „*Synteza i ocena antymitotycznych właściwości oksazolowych pochodnych kombretastatyny A-4*” – recenzent pracy magisterskiej.

2014 r.: „*Synteza i charakterystyka fizyko-chemiczna nowych porfirynoidów posiadających zdolność do chelatowania jonów palladu*” – recenzent pracy magisterskiej.

2015 r.: „*Synteza i charakterystyka fizyko-chemiczna symetrycznej porfirazyny magnezowej z peryferyjnym ugrupowaniem metylo(4-bromobenzylo)aminowym wraz z oceną reaktywności w reakcjach sprzęgania*” – recenzent pracy magisterskiej.

2015 r.: „*Projektowanie pochodnych chalkonów*” – recenzent pracy magisterskiej.

2016 r.: „*Optymalizacja syntezy porfirynoidów posiadających ugrupowanie morfolinoetylowe oraz ich soli czwartorzędowych*” – recenzent pracy magisterskiej.

2016 r.: „*Synteza tiopochodnych chalkonów jako potencjalnych czynników mitotycznych*” – recenzent pracy magisterskiej.

2016 r.: „*Synteza 4- i 5-chloropochodnych nitroimidazolu jako związków o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym*” – recenzent pracy magisterskiej.

2016 r.: „*Synteza i charakterystyka siarkowych porfirazyn posiadających ugrupowanie tioetylmorfolinowe*” – recenzent pracy magisterskiej.

2016 r.: „*Projektowanie inhibitorów cytochromów P450 z rodziny I*” – recenzent pracy magisterskiej.

2017 r.: „*Modele QSAR dla pochodnych trans-stilbenu jako inhibitorów izoform 1A1 i 1B1 cytochromu P450*” – recenzent pracy magisterskiej.

2017 r.: „*Synteza pochodnych kombretastatyny A-4*” – recenzent pracy magisterskiej.

2017 r.: „*Synteza, charakterystyka nowych magnezowych porfirazyn, posiadających ugrupowanie 3,4-dibromo-2,5-dimetylopirolilowe, potencjalny substrat do reakcji sprzęgania krzyżowego*” – ocena pracy w ramach 53. Wydziałowego Konkursu Prac Magisterskich.

Załącznik 4-63

2018 r.: „*Otrzymywanie koniugatów pochodnych maleonitrylu z azulenem jako substratów do syntezy fotouczulaczy*” – recenzent pracy magisterskiej.

2018 r.: „*Synteza i charakterystyka koniugatów kwasu kynureinowego z wybranymi aminokwasami*” – ocena pracy w ramach 54. Wydziałowego Konkursu Prac Magisterskich.

Załącznik 4-64

Recenzje publikacji

Dotychczas dokonałem recenzji publikacji przesłanych do niżej wymienionych czasopism (**Załącznik 4-65**):

Journal of Chemical Education (5x): 5-letni IF = 1,570

Molecules (7x): 5-letni IF = 3,268

Spectrochimica Acta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy (8x): 5-letni IF = 2,571

Structural Chemistry (1x): 5-letni IF = 1,526

Journal of Molecular Modeling (2x): 5-letni IF = 1,539.

Recenzje projektów Narodowego Centrum Badań i Rozwoju

Jako ekspert NCBR dotychczas dokonałem recenzji 6 projektów badawczych złożonych przez małe i średnie przedsiębiorstwa w ramach tzw. „szybkiej ścieżki”

finansowanej ze środków Programu Operacyjnego PO IR UE (dane okryte klauzulą poufności).

Poznań, dnia ^{25.02.}..... 2019 r.

dr Jacek Kujawski

Kujawski Jacek