Załącznik 2

Dr n. chem. Aneta Pogorzelska

AUTOREFERAT

Omówienie cyklu publikacji pt.

NOWE POCHODNE BENZENOSULFONAMIDOWE ZAWIERAJĄCE UGRUPOWANIA POLIAZOTOWE – SYNTEZA I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA

Katedra i Zakład Chemii Organicznej
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Gdański Uniwersytet Medyczny

Gdańsk 2018

Spis treści

1. IMIĘ I NAZWISKO 3

2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE 3

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH 3

4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA wynikającego z 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) 3

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego 3

4.2 Cykl prac zgłoszonych do postępowania habilitacyjnego 3

4.3 Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania 5

4.3.1. Wprowadzenie i cel badań 5

4.3.2. Omówienie wyników 14

4.3.2.1. Benzenosulfonamidy jako inhibitory ludzkiej anhydrazy węglanowej. 14

4.3.2.2. Benzenosulfonamidy wykazujące aktywność cytotoksyczną względem komórek nowotworowych 18

4.3.2.2.1. Synteza związków 18

Synteza pochodnych N-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu 18

Synteza pochodnych N'-(benzenosulfonylo)-1-(5-fenylo-1H-pirazol-1-ylo)amidyny 21

4.3.2.2.2. Aktywność cytotoksyczna 22

4.3.2.2.3. Badania QSAR 30

4.3.2.2.4. Stabilność metaboliczna 36

4.3 Podsumowanie 40

4.4 Piśmiennictwo 46

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH 49

5.1 Wykaz pozostałych publikacji 52

5.2 Liczbowe zestawienie dorobku 54

5.3 Nagrody i wyróżnienia 55

5.4 Komunikaty zjazdowe 56

5.5 Udział w projektach naukowych 56

5.6 Działalność związana z pracą naukowo-dydaktyczną oraz organizatorską 57

5.7 Recenzje prac naukowych 58

5.8 Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych ..... **Błąd! Nie zdefiniowano zakładki.**

5.9 Współpraca naukowa z krajowymi i zagranicznymi ośrodkami naukowymi ... **Błąd! Nie zdefiniowano zakładki.**

1. IMIĘ I NAZWISKO

Aneta Pogorzelska

2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE

- Dyplom oraz tytuł zawodowy magistra chemii, specjalność chemia biologiczna, uzyskany na Wydziale Chemicznym Uniwersytetu Gdańskiego – Gdańsk, 2005 rok.
- Dyplom oraz stopień doktora nauk chemicznych uzyskany na Wydziale Chemicznym Uniwersytetu Gdańskiego na podstawie rozprawy doktorskiej pt.: „Badanie zależności między strukturą a aktywnością związków antybakteryjnych zaprojektowanych w oparciu o sekwencję *N*-terminalnego fragmentu wiążącego ludzkiej cystatyny C." Gdańsk, 2010 rok.
- Dyplom ukończenia studiów podyplomowych w projekcie „Menedżer Projektu Badawczo-Rozwojowego - studia podyplomowe dla pracowników naukowych" finansowanego przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, Wyższa Szkoła Bankowa, Gdańsk, 2014 rok.

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

- **od 2014** Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Chemii Organicznej, adiunkt.
- **2011-2014** Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Chemii Organicznej, asystent.

4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA wynikającego z 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)

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

„NOWE POCHODNE BENZENOSULFONAMIDOWE ZAWIERAJĄCE UGRUPOWANIA POLIAZOTOWE – SYNTEZA I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA"

Zgłoszone do postępowania habilitacyjnego osiągnięcie naukowe stanowi cykl powiązanych tematycznie 5 prac oryginalnych ***(P1−P5)*** *o łącznym współczynniku oddziaływania IF = 16, 298 i łącznej punktacji MNiSW = 170.*

4.2 Cykl prac zgłoszonych do postępowania habilitacyjnego

P1. J. Sławiński, **A. Pogorzelska**, B. Żołnowska, K. Brożewicz, D. Vullo, C.T. Supuran; „Carbonic anhydrase inhibitors: synthesis of a novel series of 5-substituted

2,4-dichlorobenzenesulfonamides and their inhibition of human cytosolic isozymes I and II and the transmembrane tumor-associated isozymes IX and XII." *Eur. J. Med. Chem.* (2014) 82: 47-55.

IF: 3,447; MNiSW: 40

P2. **A. Pogorzelska***, J. Sławiński, K. Brożewicz, Sz. Ulenberg, T. Bączek; „Novel 3-amino-6-chloro-7-(azol-2 or 5-yl)-1,1-dioxo-1,4,2-benzodithiazine derivatives with anticancer activity: synthesis and QSAR study." *Molecules* (2015) 20: 21960-21970.

**Autor korespondencyjny.*

IF: 2,465; MNiSW: 30

P3. **A. Pogorzelska**, J. Sławiński, B. Żołnowska, K. Szafrański, A. Kawiak, J. Chojnacki, Sz. Ulenberg, J. Zielińska, T. Bączek; „Novel 2-(2-alkylthiobenzenesulfonyl)-3-(phenylprop-2-ynylideneamino)guanidine derivatives as potent anticancer agents: synthesis, molecular structure, QSAR studies and metabolic stability." *Eur. J. Med. Chem.* (2017) 138: 357-370.

IF: 4,816; MNiSW: 40

P4. **A. Pogorzelska***, J. Sławiński, A. Kawiak, B. Żołnowska, J. Chojnacki, G. Stasiłojć, Sz. Ulenberg, K. Szafrański, T. Bączek; 2018; „Synthesis, molecular structure, and metabolic stability of new series of *N'*-(2-alkylthio-4-chloro-5-methylbenzenesulfonyl)-1-(5-phenyl-1-*H*-pyrazol-1-yl)amidine as potential anti-cancer agents." *Eur. J. Med. Chem.* (2018) 155: 670-680.

**Autor korespondencyjny.*

IF: 4,816; MNiSW: 40

P5. **A. Pogorzelska***, B. Żołnowska, J. Sławiński, A. Kawiak, K. Szafrański, M. Belka, T. Bączek – „Synthesis of 2-alkylthio-*N*-(quinazolin-2-yl)benzenesulfonamide derivatives – anticancer activity, QSAR studies and metabolic stability." *Monatsh. Chem. Chem. Mon.* (2018) 149: 1885-1898.

**Autor korespondencyjny.*

IF: 1,285; MNiSW: 20

Opis indywidualnego wkładu habilitanta w powstanie każdej z publikacji znajduje się w Załączniku 3 (Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych). Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego

z nich w powstanie poszczególnych prac znajdują się w Załączniku 6 (Oświadczenia współautorów).

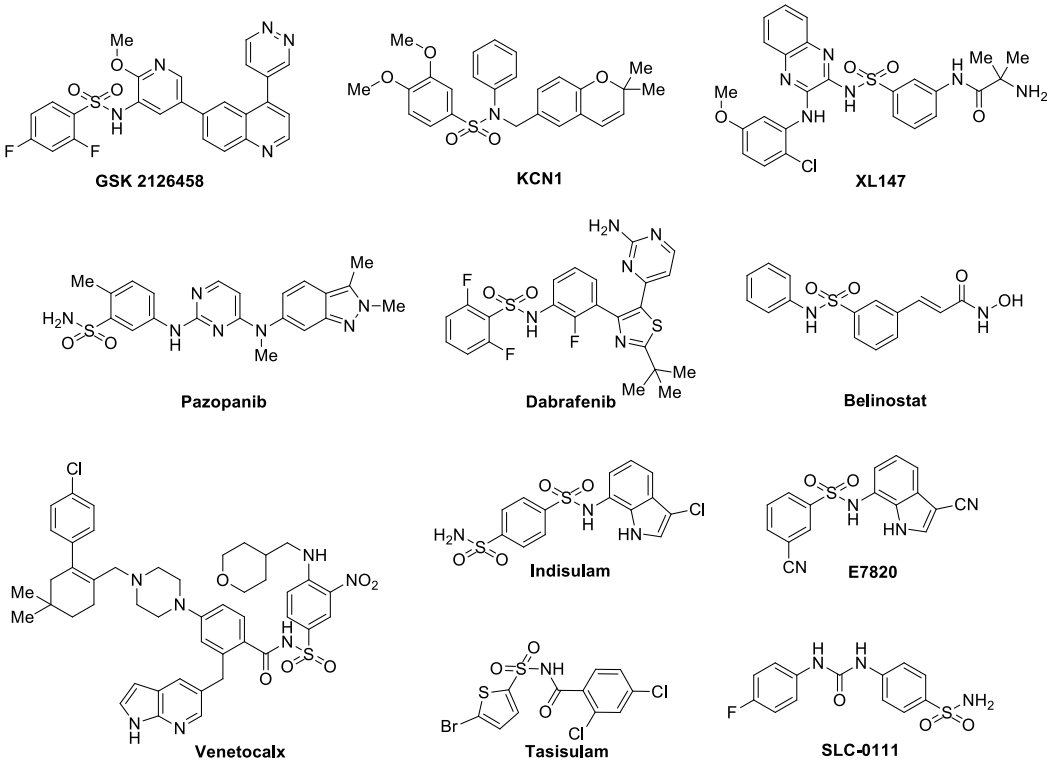
4.3 Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

4.3.1. Wprowadzenie i cel badań

Nowotwory stały się jednym z największych wyzwań współczesnej medycyny. Obecnie liczba przypadków choroby nowotworowej szacowana jest na ok. 14 mln, ale Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) ostrzega, że w ciągu najbliższych dwóch dekad liczba ta wzrośnie o ok. 70% [1]. Drastycznie rosnąca zachorowalność na nowotwory, związana zarówno z czynnikami genetycznymi jak i środowiskowymi, coraz częściej dotyczy ludzi młodych, będąc tym samym jedną z najczęstszych przyczyn zgonów wśród osób, które nie przekroczyły 65 roku życia. Taki stan rzeczy wynika głównie z niewłaściwej diagnostyki oraz z braku skutecznych terapii. Klasyczna chemioterapia, stanowiąca jedną z głównych metod leczenia raka, opiera się bowiem na stosowaniu leków, które poza pożądanym działaniem terapeutycznym powodują występowanie licznych i zagrażających życiu efektów ubocznych. Co więcej, problematyka leczenia nowotworów jest coraz częściej związana z całkowitym brakiem efektywnych metod powodujących zahamowanie rozwoju choroby, co jest wynikiem nabywania przez komórki nowotworowe oporności na obecnie wykorzystywane chemoterapeutyki. W związku z powyższym, poszukiwanie nowych związków o aktywności przeciwnowotworowej, które charakteryzowałyby się mniejszą toksycznością i unikatowym mechanizmem działania znajduje pełne uzasadnienie.

Istotne znaczenie w kontekście nowych cytostatyków o zróżnicowanym mechanizmie działania zyskały pochodne arylosulfonamidu (Rys.1). Różny stopień zaawansowania badań klinicznych związków tj. indisulam[2], tasisulam[3], E7820[4], GSK 2126458[5], SLC-0111[6], KCN1[7] lub XL147 [8] daje nadzieję na znalezienie skutecznych chemoterapeutyków. Co więcej, pochodne z ugrupowaniem benzenosulfonamidowym typu Ar-SO_2-N(R)R^1 odnaleźć można wśród nowych leków zatwierdzonych w leczeniu niektórych typów nowotworów (Rys. 1). Pazopanib, małocząsteczkowy inhibitor kinaz tyrozynowych, został zatwierdzony w leczeniu zaawansowanego raka nerki [9] oraz mięsaków tkanek miękkich u pacjentów po wcześniej przebytej chemioterapii[10]. W leczeniu zaawansowanej białaczki u pacjentów z mutacją BRAF V600E lub V600K stosowany jest dabrafenib, lek, którego mechanizm działania polega na hamowaniu aktywności białek B-raf (BRAF)[11]. Innym lekiem w leczeniu przewlekłej białaczki szpikowej jest venetoclax, który jest pierwszym zatwierdzonym terapeutykiem działającym na

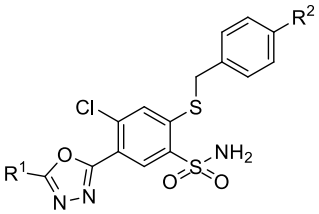
białko BCL-2. Jest on stosowany u pacjentów, u których komórki nowotworowe nie posiadają części chromosomu 17 (delecja 17p) oraz którzy przeszli już terapię co najmniej jednym lekiem. Z kolei belinostat, lek hamujący aktywność deacetylazy histonowej, w 2014 otrzymał zgodę FDA na zastosowanie w leczeniu nawracających i opornych chłoniaków obwodowych limfocytów T[12].



Rysunek 1. *Struktury wybranych związków o działaniu przeciwnowotworowym, zawierających w strukturze ugrupowanie benzenosulfonamidowe*

Obecny stan wiedzy w zakresie badania cytotoksyczności związków zawierających fragment benzenosulfonamidowy modyfikowany przez wprowadzenie poliazotowych fragmentów farmakoforowych pozwala zatem założyć, że mogą one wykazywać istotny potencjał antyproliferacyjny względem ludzkich komórek nowotworowych. Hipoteza ta znajduje również potwierdzenie w badaniach prowadzonych przez zespół naukowy pod kierownictwem prof. dr hab. Jarosława Sławińskiego, w wyniku których uzyskano szereg pochodnych hamujących wzrost różnych nowotworowych linii komórkowych, które pod kątem struktury można sklasyfikować na poniższe grupy:

I. *Pierwszorzędowe pochodne benzenosulfonamidu*[13,14]:

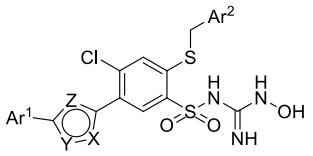


R^1 = H, R^2 = H
R^1 = H, R^2 = Cl
selektywne hamowanie wzrostu linii CCRF-CEM[13]

R^1 = styryl, R^2 = H
hamowanie wzrostu 3 linii: HeLa, HCT-116, MCF-7 w zakresie IC_{50}: 11-29 mM[14]

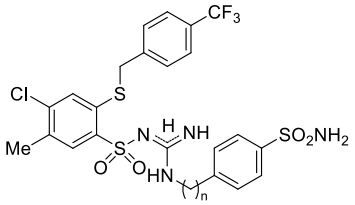
R^1 = 4-Bn-piperydyn-1-yl, R^2 = H
R^1 = 4-Bn-piperazyn-1-yl, R^2 = H
R^1 = [4-(4-ClC_6H_4)piperazyn-1-ylo]metyl, R^2 = H
R^1 = [4-(4-FC_6H_4)piperazyn-1-ylo]metyl, R^2 = H
R^1 = [4-(2,5-diClC_6H_3)piperazyn-1-ylo]metyl, R^2 = H
R^1 = (4-Ph-1*H*-1,2,3-triazol-1-ylo)metyl, R^2 = H
selektywne hamowanie wzrostu linii HeLa; IC_{50}: 7-17 mM[14]

II. Benzenosulfonyloamidyny oraz benzenosulfonyloguanidyny[15,16,17,18]:



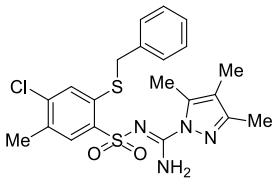
Ar^1 = Ph, 4-Cl-C_6H_4
X:Y:Z = N:N:O, N:N:S, O:N:N, S:CH:N
Ar^2 = Ph, 1,3-benzodioksol-5-yl, 3,4,5-triOMe-C_6H_2

Szerokie spektrum aktywności względem ok. 60 linii komórkowych należących do 9 różnych typów nowotworów ludzkich w zakresie GI_{50}: 0,24–75,40 μM[15]

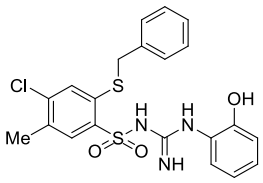


n = 0 lub 1

Hamowanie wzrostu komórek 32-35 ludzkich linii komórkowych w zakresie GI_{50}: 2,1−5,0 μM[16]

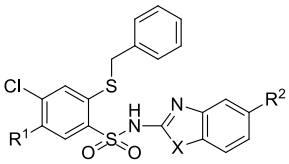


Hamowanie wzrostu komórek 20 linii komórkowych należących do 8 typów różnych nowotworów ludzkich w zakresie GI_{50}: 2,30−9,47 μM[17]



Hamowanie wzrostu komórek 58 linii komórkowych należących do 9 typów różnych nowotworów ludzkich w zakresie GI_{50}: 3,3–33,1 μM[18]

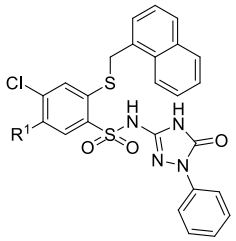
III. Drugorzędowe benzenosulfonamidy modyfikowane przez heterocykliczne pierścienie zawierające atomy azotu[18,19,20]:



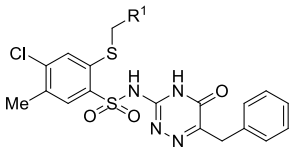
R^1 = Me, PhNHCO, 4-F-C_6H_4-NHCO, CN
X = O, S
R^2 = H, Cl

Hamowanie wzrostu komórek 52-58 linii komórkowych należących do 9 typów różnych nowotworów ludzkich w zakresie GI_{50}: 0,1 – 75,8 μM[18]

Związek zawierający podstawniki R^1 = 4-F-C_6H_4-NHCO, X = O, R^2 = H wykazał znaczącą selektywność względem linii niedrobnokomórkowego raka płuc (NCI-H522) i białaczki (SK-Mel-2) – GI_{50} = 0,1 μM; TGI: 0,5−0,6 μM[18]



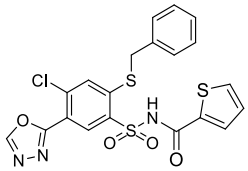
Hamowanie wzrostu komórek 13 linii komórkowych należących do 8 typów różnych nowotworów ludzkich w zakresie GI_{50}: 1,9–3,0 μM[19]



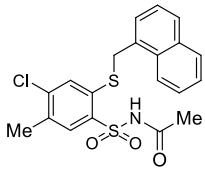
R^1 = 4-OMe-C_6H_4, 6-chlorobenzo[d][1,3]dioksol-5-yl

Selektywne hamowanie wzrostu komórek HeLa (IC_{50} = 19 μM). Związki nie wykazywały toksyczności w komórkach zdrowych (HaCaT) oraz indukowały apoptozę w komórkach HeLa[20]

IV. N-Acylobenzenosulfonamidy[13,21]:

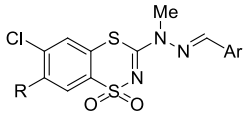


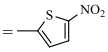
Hamowanie wzrostu komórek 50 linii komórkowych należących do 9 typów różnych nowotworów ludzkich w zakresie GI_{50}: 2,02–7,82 μM[13]



Hamowanie wzrostu komórek MCF-7, HeLa i HCT-116 (procent hamowania przy stężeniu 100 μM odpowiednio 56%, 93% i 85%)[21]

V. 6-Chloro-1,1-diokso-1,4,2-benzoditiazyny[22]:



R = Me
Ar = 
Hamowanie wzrostu MCF-7 i HCT-116 (IC_{50} = 15 μM i 16 μM, odpowiednio)

R = C(O)OMe
Ar = 2,5-diOH-C_6H_3
Selektywne hamowanie wzrostu HeLa (IC_{50} = 10 μM)

Istotną cechą potencjalnych środków przeciwnowotworowych jest selektywny mechanizm działania, który pozwala wpływać na metabolizm, wzrost i śmierć komórek nowotworowych, oszczędzając jednocześnie komórki zdrowe. Jedną ze strategii pozwalających na wyselekcjonowanie potencjalnie bezpiecznych chemoterapeutyków jest poszukiwanie inhibitorów izoform hCA IX i hCA XII anhydrazy węglanowej (hCA)[23,24], enzymów ulokowanych transbłonowo o znikomej ekspresji w komórkach zdrowych i znacznej nadekspresji w komórkach nowotworowych. Fizjologiczną rolą anhydrazy węglanowej jest utrzymanie właściwego pH w komórkach i ich otoczeniu. W komórkach nowotworowych natomiast, nadekspresja i zwiększona aktywność specyficznych izoform hCA IX i hCA XII jest

kluczowa dla ich adaptacji do warunków efektu Warburga (glikolizy tlenowej) i ograniczonej podaży tlenu. Należy w tym miejscu zaznaczyć, że w przeciwieństwie do komórek prawidłowych, komórki nowotworowe preferują oddychanie beztlenowe, wykorzystując proces glikolizy tlenowej jako podstawowe źródło energii. Tym samym, rola izoform hCA IX i hCA XII w komórkach nowotworowych jest niezwykle istotna, zwłaszcza w procesach związanych z ich przetrwaniem oraz regulacją proliferacji, migracji, wzrostu, adhezji i pH[23,25,26,27].

Dotychczas, w zależności od mechanizmu inhibicji, wyróżnić można pięć różnych grup inhibitorów anhydrazy węglanowej[28]:

I. *Inhibitory wiążące kofaktor* – atom cynku znajdujący się w kieszeni utworzonej przez część białkową enzymu. Jest to najpowszechniej występujący mechanizm działania charakterystyczny dla pierwszorzędowych sulfonamidów, które w tej grupie inhibitorów stanowią najliczniejszą i najlepiej scharakteryzowaną klasę związków. Szereg z nich stosowanych jest obecnie w praktyce klinicznej w leczeniu różnego rodzaju schorzeń. Do inhibitorów wiążących atom cynku zaliczany jest także SLC-0111, który obecnie znajduje się w fazie I i II badań klinicznych jako związek przeciwnowotworowy[6,29].

II. *Inhibitory kotwiczące do koordynującej atom cynku cząsteczki wody*. Do tej klasy zaliczane są m.in. fenole, poliaminy, zhydrolizowane sulfokumaryny czy 2-tioksokumaryny[30,31,32,33].

III. *Inhibitory zamykające wejście do centrum aktywnego enzymu*. Mechanizm ten wykazują kumaryny i jest on podobny do mechanizmu charakterystycznego dla aktywatorów anhydrazy węglanowej[34,35,36].

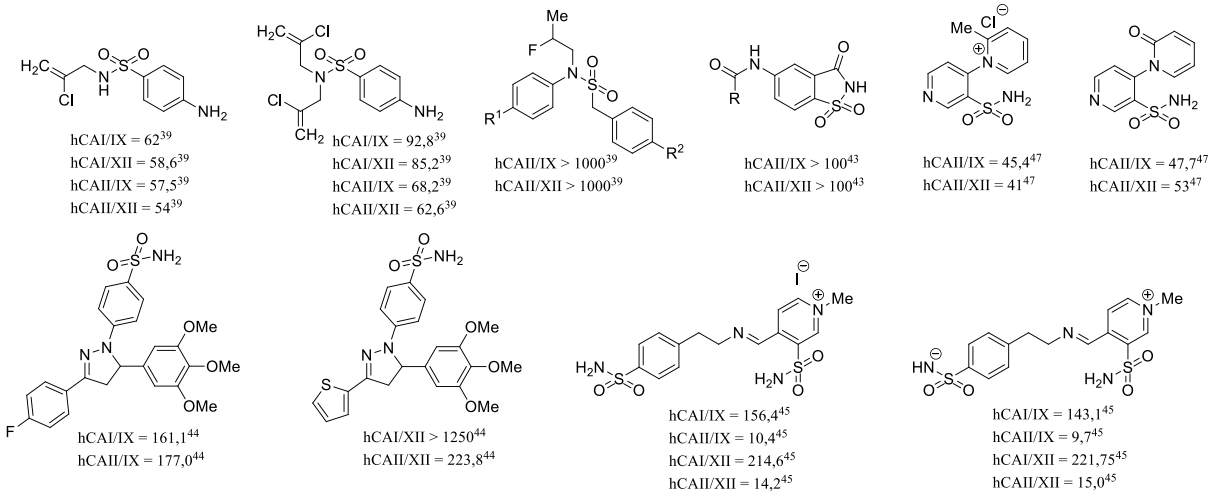
IV. *Inhibitory wiążące się poza centrum aktywnym enzymu*. Dotychczas do tej klasy enzymów zakwalifikowano tylko jedną grupę związków – pochodne aromatycznych kwasów karboksylowych wiążące się w kieszeni sąsiadującej z miejscem aktywnym[37].

V. *Inhibitory o niescharakteryzowanym dotąd mechanizmie działania*. W tej klasie inhibitorów znajdują się m.in. drugo- i trzeciorzędowe sulfonamidy[38,39,40], inhibitory kinazy tyrozynowej[41] i fulereny[42].

Należy w tym miejscu zaznaczyć, że potencjalne wykorzystanie inhibitorów anhydrazy węglanowej w lecznictwie nie odnosi się jedynie do terapii przeciwnowotworowej. Środki takie jak acetazolamid, etoksyzolamid czy metazolamid od lat wykorzystywane są jako leki

diuretyczne, a ich mechanizm związany jest właśnie z hamowaniem aktywności anhydrazy węglanowej.

Największym problemem w poszukiwaniu nowych leków przeciwnowotworowych o mechanizmie działania związanym z hamowaniem aktywności anhydrazy węglanowej jest selektywna inhibicja specyficznych izoform hCA IX i hCA XII[28]. Liczne badania wskazują, iż silnymi inhibitorami anhydrazy węglanowej, charakteryzującymi się jednocześnie większym powinowactwem do izoform hCA IX i hCA XII, są pochodne sulfonamidów pierwszorzędowych modyfikowane przez wprowadzenie heterocyklicznych pierścieni zawierających atom azotu lub sulfonamidy drugo- i trzeciorzędowe (Rys.2)[39-41,43,44,45,46,47]. Co więcej, wiele z tych związków wykazuje aktywność cytotoksyczną wobec komórek nowotworowych. Jednym z nich jest wspomniany wcześniej SLC-0111, dla którego badania kliniczne I fazy w leczeniu zaawansowanych guzów litych wykazujących nadekspresję hCA IX / hCA XII zakończyły się sukcesem w 2016 roku[6]. Obecnie związek ten skierowany został do badań klinicznych fazy II.



Rysunek 2. *Wybrane inhibitory anhydrazy węglanowej, charakteryzujące się selektywnością wobec izoform hCA IX i/lub hCA XII*

W projektowaniu nowych związków wykazujących aktywność biologiczną wykorzystywanych jest szereg strategii. Jedną z nich jest modyfikacja cząsteczek o określonej aktywności poprzez wprowadzenie fragmentów uznanych za istotne w modulowaniu właściwości biologicznych. W przypadku aktywności przeciwnowotworowej do takich struktur zaliczane są m.in. fragment hydrazonu, grupa aryloetynylowa czy też pierścienie heterocykliczne zawierające atomy azotu.

Związki z ugrupowaniem hydrazonu wykazują szereg kierunków aktywności biologicznej. Znajdujemy wśród nich m.in. pochodne o działaniu przeciwmalarycznym, przeciwdrobnoustrojowym, przeciwwirusowym, przeciwpasożytniczym oraz przeciwnowotworowym[48]. Doniesienia literaturowe wskazują, że działanie przeciwnowotworowe pochodnych zawierających w strukturze fragment hydrazonu może odbywać się na drodze różnych mechanizmów działania, wśród których wyróżnić można wytworzenie rodników i zmiana potencjału błony mitochondrialnej[49], aktywację prokaspazy-3[50,51] lub hamowanie ekspresji białka NF-κB[52]. Niejednokrotnie aktywność przeciwnowotworowa hydrazonów wiązana jest z ich właściwościami chelatującymi jony metali grup przejściowych tj. miedź, cynk czy żelazo[50,53,54].

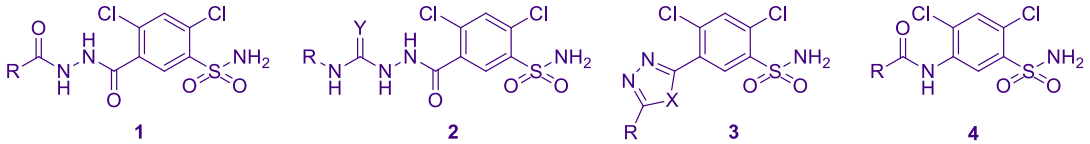
Wiązanie potrójne jest powszechnie występującym elementem strukturalnym w związkach przeciwnowotworowych pochodzenia naturalnego[55]. Ze względu na geometrię wynikającą z hybrydyzacji *sp* atomu węgla, pełni ono istotną funkcję w oddziaływaniach cząsteczki z receptorem. W przypadku związków syntetycznych wiązanie potrójne często występuje jako fragment aryloetynylowy R−C≡C−Ar, identyfikowany jako niezbędny do wystąpienia aktywności cytotoksycznej[56,57,58]. Wśród celi molekularnych określonych dla pochodnych zawierających omawiany szkielet R−C≡C−Ar wyróżnić można m.in. kinazy PI3K, PDK1 i mTOR hamowane przez 3-etynylo-1*H*-indazole[56] czy też polimerazę poli(ADP-rybozy) PARP-1, której aktywność zostaje zahamowana w wyniku oddziaływania z chinolino-8-karboksyamidami[57]. Interesujący mechanizm działania zidentyfikowano dla 3-diaryloetynochinazolinonów, które hamują tankyrazę-1 (PARP-5), co prowadzi do uszkodzenia DNA. Związki te zwiększają wiązanie białka TRF1 do telomerów i powodują ich skrócenie oraz indukują aktywność białek p53, p21, p16, TRF1 i POT1, odgrywających istotną rolę w procesie starzenia się komórki[58]. W literaturze postuluje się, że aktywność biologiczna związków zawierających ugrupowanie R−C≡C−Ar wynika z tego, iż stanowi ono sztywny, sprzężony układ π-elektronowy umożliwiający przyjęcie przez cząsteczkę konformacji niezbędnej do wiązania się z określoną kieszenią celu molekularnego w komórce[59].

Układy heterocykliczne zawierające atomy azotu stanowią najliczniej występujące fragmenty strukturalne małocząsteczkowych leków[60]. Taki stan rzeczy można przypisać biologicznym właściwościom naturalnie występujących heterocykli, które pełnią znaczącą rolę w reakcjach metabolicznych komórki. W przypadku leków przeciwnowotworowych, wbudowanie fragmentów cyklicznych ma na celu zaburzenie równowagi biologicznej poprzez naśladowanie naturalnych ligandów i/lub substratów. Co więcej, pierścienie heterocykliczne mogą wpływać na wzrost aktywności lub selektywności związku, a także na jego parametry

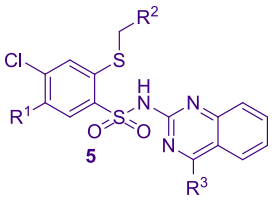
farmakokinetyczne i farmakodynamiczne wskutek zmiany lipofilowości, polarności lub rozpuszczalności w wodzie[61,62].

Celem badań stanowiących podstawę niniejszej habilitacji było opracowanie metod syntezy i izolacji związków benzenosulfonamidowych modyfikowanych przez wprowadzenie fragmentów poliazotowych o istotnym znaczeniu terapeutycznym oraz określenie profilu ich aktywności biologicznej. Wśród związków opisanych w Autoreferacie wyróżnić można następujące typy struktur:

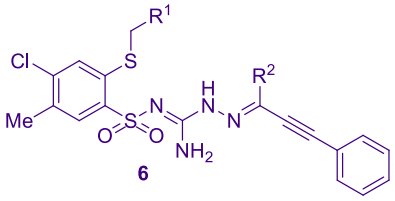
I. Pierwszorzędowe 2,4-dichlorobenzenosulfonamidy zawierające w pozycji 5 ugrupowania poliazotowe (związki serii **1-4**; praca **P1**).



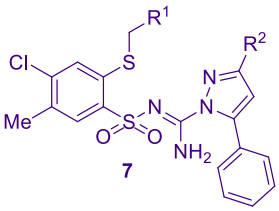
II. Benzenosulfonamidy zawierające ugrupowanie *N*-chinazolinowe (związki serii **5**; praca **P5**).



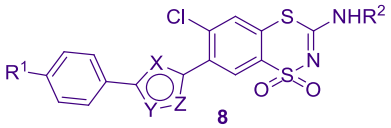
III. Benzenosulfonyloguanidyny zawierające sprzężony układ π-elektronowy typu R−C≡C−Ph (związki serii **6**; praca **P3**).



IV. Benzenosulfonyloamidyny zawierające pierścień 1*H*-pirazolu (związki serii **7**; praca **P4**).



V. 6-Chloro-1,1-diokso-1,4,2-benzoditiazyny modyfikowane w pozycjach 3 i 7 ugrupowaniami poliazotowymi (związki serii **8**; praca **P2**).



Projektowanie struktur oparto o strategię wykorzystującą łączenie kilku ważnych biologicznie fragmentów w jednym związku, zawierającym jako element bazowy szkielet benzenosulfonamidowy. W serii 2,4-dichlorobenzenosulfonamidów (seria związków **1-4**; grupa ***I***) modyfikacje strukturalne objęły wprowadzenie fragmentu hydrazynokarbonylowego lub semi/tiosemikarbazydowej, pierścieni triazolu, oksadiazolu oraz tiadiazolu czy też układów zawierających pierścienie morfoliny, piperazyny i indolu, struktur zdefiniowanych jako ważne fragmenty farmakoforowe wielu leków małocząsteczkowych. Ze względu na obecność pierwszorzędowej grupy sulfonamidowej związki te skierowano do badań oceniających ich zdolność hamowania aktywności ludzkiej anhydrazy węglanowej (hCA).

Badania aktywności biologicznej związków sklasyfikowanych jako grupy ***II-V*** dotyczyły wpływu związków na wzrost linii komórkowych należących do różnego typu nowotworów ludzkich. Oceny aktywności cytotoksycznej związków serii **8** (grupa ***V)*** dokonano wcześniej w ramach badań prowadzonych w zespole naukowym kierowanym przez prof. dr hab. Jarosława Sławińskiego. Oryginalne pochodne o strukturze opartej o szkielet benzenosulfonamidowy, zaprojektowane jako potencjalne chemoterapeutyki, obejmują związki serii **5-7** (grupy ***II-IV***). W projektowaniu struktur 2-alkilotio-*N*-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidów **5** (grupa ***II***) uwzględniono farmakoforowe właściwości fragmentu chinazolinowego, obecnego w wielu nowych lekach przeciwnowotworowych o zróżnicowanym mechanizmie działania. Wśród nich wymienić można lapatinib, erlotinib, gefitinib i afatinib hamujące receptory EGFR[63,64,65], cedirinib – antyangiogeniczny inhibitor VEGFR [66] czy barasertib – inhibitor kinaz aurora [67] . W serii pochodnych 2-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)-3-(fenyloprop-2-ynylidenoamino)guanidyny **6** (grupa ***III***) wprowadzono ugrupowanie hydrazonowe zmodyfikowane na atomie azotu przez sztywny szkielet fenyloetynylowy. Z kolei struktury *N'*-(2-alkilotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo)-1-(5-fenylo-1*H*-pirazol-1-ylo)amidyny **7** (grupa ***IV***) zaprojektowano w oparciu o wysoką aktywność cytostatyczną analogicznych pochodnych opracowanych w ramach badań Katedry i Zakładu Chemii Organicznej GUMed, [17].

W celu określenia potencjału terapeutycznego, wybrane pochodne skierowano do oceny ich stabilności metabolicznej *in vitro*. Parametr ten, związany zarówno z biodostępnością jak i ryzykiem wystąpienia działań ubocznych, wyznaczono dla związków grup ***II-IV*** na modelu uwzględniającym reakcje I fazy metabolizmu z wykorzystaniem ludzkich liposomów

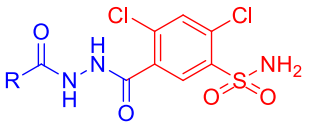
wątrobowych i kofaktora NADPH. Podjęto również próbę wyznaczenia ilościowej zależności struktura-aktywność (QSAR) w oparciu o uzyskane wyniki badań aktywności cytotoksycznej pochodnych grup ***II-III*** i ***V***. W wyniku szeregu obliczeń komputerowych określono, które deskryptory molekularne odpowiadają za efekt cytotoksyczny. Na tej podstawie wyznaczono modele QSAR, charakteryzujące się wysoką mocą predykcyjną i pozwalające przewidzieć właściwości cytotoksyczne związków.

4.3.2. Omówienie wyników

4.3.2.1. Benzenosulfonamidy jako inhibitory ludzkiej anhydrazy węglanowej.

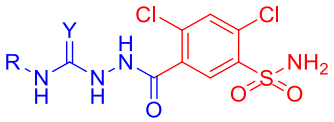
Bazując na danych literaturowych wskazujących, że najliczniejszą grupę inhibitorów ludzkiej anhydrazy węglanowej stanowią pierwszorzędowe arylosulfonamidy, zaprojektowano serię pochodnych 2,4-dichlorobenzenosulfonamidu jako związków hamujących aktywność hCA. Wyniki tych badań opublikowano w pracy **P1**. Struktury zsyntetyzowanych związków modyfikowano w pozycji 5 pierścienia, uzyskując następujące szeregi pochodnych:

- 2,4-dichloro-5-(2-R-hydrazynokarbonylo)benzenosulfonamidy **1a-d**



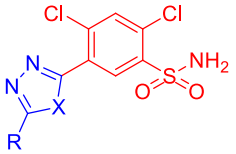
R = Ph, 4-Cl-C_6H_4,4-Me-C_6H_4, 2-furyl

- *N*-(2,4-dichloro-5-sulfamoilobenzoilo)-*N''*-R-semi-/tiosemikarbazydy **2a-c**



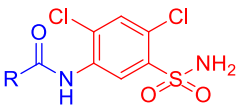
R = Ph, 4-Cl-C_6H_4; Y = S
R= 4-Me-C_6H_4-SO_2; Y = O

- 2,4-dichloro-5-(5-R-1,3,4-oksa-/tiadiazol- lub triazol-2-ylo)benzenosulfonamidy **3a-j**



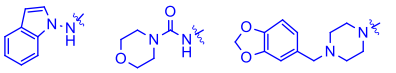
R = Ph, 4-Cl-C_6H_4; X = NH
R= H, Me, Ph-NH, 4-Cl-C_6H_4-NH, Ph, 4-Cl-C_6H_4, 4-Me-C_6H_4; X = O
R = Ph; X = S

- 2,4-dichloro-5-[(karbamoilo)amino]benzenosulfonamidy **4a-i**



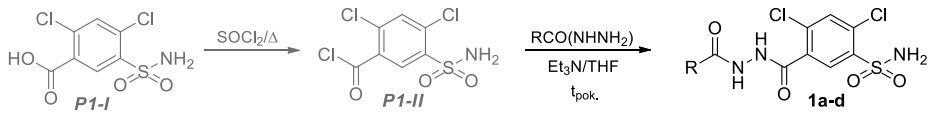
R =

Ph-NH, 4-Cl-C_6H_4-NH,4-(NH_2SO_2)-C_6H_4-NH, Ph-CH_2-NH, Ph-CH_2-O-NH-, Ph-CO-NH-NH,



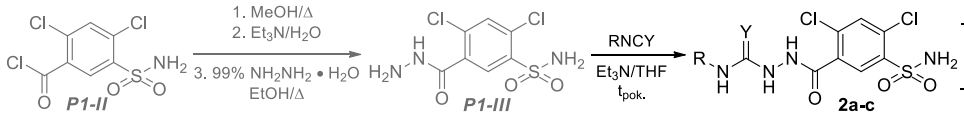
Powyższe związki uzyskano metodami opracowanymi w zespole Katedry i Zakładu Chemii Organicznej GUMed, w kilkuetapowych procesach, począwszy od reakcji kwasu 2,4-dichloro-5-sulfamoilobenzoesowego (***P1-I***) z chlorkiem tionylu. Uzyskany związek ***P1-II***

poddano dalej reakcji z odpowiednimi hydrazydami prowadzącej do produktów końcowych – pochodnych 2,4-dichloro-5-(2-R-hydrazynokarbonylo])benzenosulfonamidu **1a-d**.



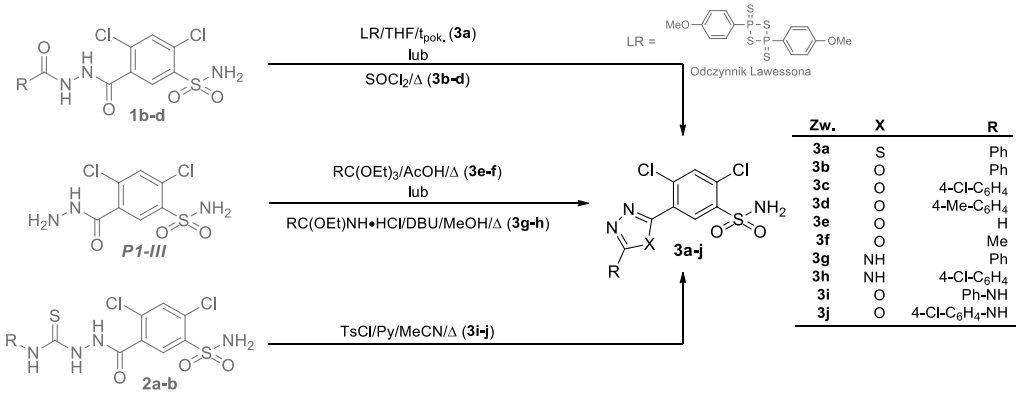
Zw.	R
1a	2-furyl
1b	Ph
1c	4-Cl-C_6H_4
1d	4-Me-C_6H_4

Przekształcenie chlorku (***P1-II***) w 2,4-dichloro-5-sulfamoilobenzhydrazyd (***P1-III***) i dalsza reakcja z izotio- lub izocyjanianami pozwoliła z kolei na uzyskanie zaplanowanych pochodnych *N*-(2,4-dichloro-5-sulfamoilobenzoilo)-*N''*-R-semi-/tiosemikarbazydu **2a-c**.



Zw.	R	Y
2a	Ph	S
2b	4-Cl-C_6H_4	S
2c	4-Me-C_6H_4-SO_2	O

W zależności od struktury, związki **3a-j** otrzymano w wyniku przekształceń związków **1b-d**, ***P1-III*** oraz **2a-b** zaprezentowanych na poniższym schemacie:



Zw.	X	R
3a	S	Ph
3b	O	Ph
3c	O	4-Cl-C_6H_4
3d	O	4-Me-C_6H_4
3e	O	H
3f	O	Me
3g	NH	Ph
3h	NH	4-Cl-C_6H_4
3i	O	Ph-NH
3j	O	4-Cl-C_6H_4-NH

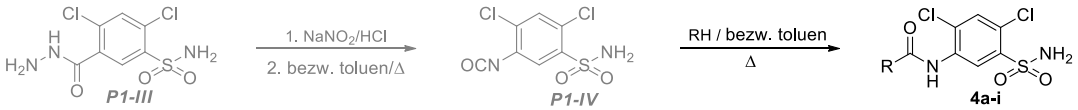
Związek **3a** zawierający pierścień 1,3,4-tiadiazolu uzyskano w wyniku tionowania ugrupowania diacylohydrazynowego pochodnej **1b**. W pierwszym etapie reakcji, pod wpływem odczynnika Lawessona (*ang. Lawesson's reagent*, LR), dochodzi do utworzenia nietrwałego produktu pośredniego – mono- bądź ditiokarbonylohydrazyny. W zależności od budowy produktu pośredniego, ostateczna cyklizacja do pożądanego związku **3a** następuje w wyniku dalszego odwodnienia lub odsiarkowodorowania. Związki **3b-d** zmodyfikowane przez wprowadzenie pierścienia 5-arylo-1,3,4-oksadiazolu uzyskano, z kolei, po odwodnieniu pochodnych **1b-d**, zachodzącego pod wpływem ogrzewania z chlorkiem tionylu.

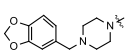
Pochodne benzenosulfonamidu **3e-h** otrzymano stosując jako substrat 2,4-dichloro-5-sulfamoilobenzhydrazyd (***P1-III***). Związki **3e-f** uzyskano wykorzystując metodę opracowaną wcześniej w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej[13]. Z kolei cyklizacja

hydrazydu (***P1-III***) do pochodnej triazolu modyfikującego struktury **3g-h** następowała w wyniku przeprowadzenia reakcji z odpowiednim benzimidanem etylu w obecności DBU (1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en).

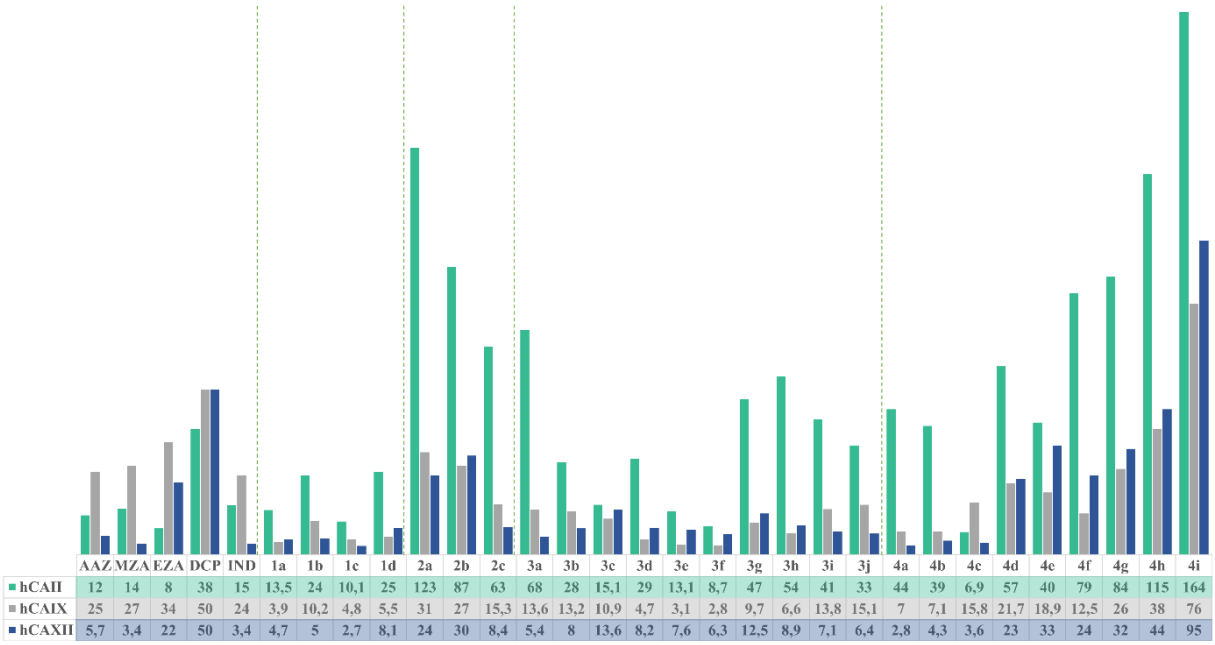
Związki **3i-j**, zróżnicowane w pozycji 5 układami 5-amino-1,3,4-oksadiazolu, zsyntetyzowano z wykorzystaniem desulfuryzacji tiosemikarbazydów **2a-b**, zachodzącej pod wpływem chlorku 4-toluenosulfonylu (zw. chlorek tosylu, TsCl) w środowisku pirydyny (Py).

Ostatni typ struktur **4a-i** zaprojektowanych jako inhibitory hCA, będące pochodnymi mocznika, uzyskano wychodząc z 2,4-dichloro-5-sulfamoilobenzhydrazydu (***P1-III***). Początkowo reakcja hydrazydu (***P1-III***) z kwasem azotowym(III) prowadzi do odpowiedniego azydku, który dalej, w wyniku przegrupowania Curtiusa, przekształca się w izocyjanian (***P1-IV***). Ostateczne produkty **4a-i** są wynikiem reakcji izocyjanianu (***P1-IV***) z pierwszo- bądź drugorzędowymi aminami.



Zw.:	4a	4b	4c	4d	4e	4f	4g	4h	4i
R =	Ph-NH	4-Cl-C_6H_4-NH	(4-H_2NSO_2)-C_6H_4-NH	Ph-CH_2-NH	Ph-CH_2-O-NH	Ph-CO-NH-NH			

Dwadzieścia sześć nowych pochodnych skierowano do badań aktywności inhibicyjnej wobec izoform ludzkiej anhydrazy węglanowej hCA I, hCA II, hCA IX oraz hCA XII, w ramach współpracy naukowej z zespołem badawczym kierowanym przez prof. Claudiu T. Supurana. Jako związki referencyjne wykorzystano stosowane klinicznie inhibitory hCA acetazolamid (AAZ), metazolamid (MZA), etoksyzolamid (EZA), dichlorofenamid (DCP) oraz indisulam (IND). Podobnie jak AAZ, MZA czy DCP testowane związki nie wykazały zdolności hamowania aktywności hCA I (Rys. 3).



	AAZ	MZA	EZA	DCP	IND	1a	1b	1c	1d	2a	2b	2c	3a	3b	3c	3d	3e	3f	3g	3h	3i	3j	4a	4b	4c	4d	4e	4f	4g	4h	4i
hCAII	12	14	8	38	15	13,5	24	10,1	25	123	87	63	68	28	15,1	29	13,1	8,7	47	54	41	33	44	39	6,9	57	40	79	84	115	164
hCAIX	25	27	34	50	24	3,9	10,2	4,8	5,5	31	27	15,3	13,6	13,2	10,9	4,7	3,1	2,8	9,7	6,6	13,8	15,1	7	7,1	15,8	21,7	18,9	12,5	26	38	76
hCAXII	5,7	3,4	22	50	3,4	4,7	5	2,7	8,1	24	30	8,4	5,4	8	13,6	8,2	7,6	6,3	12,5	8,9	7,1	6,4	2,8	4,3	3,6	23	33	24	32	44	95

Rysunek 3. *Wartości K_I w serii pochodnych* ***1a-d***, ***2a-c***, ***3a-j*** *oraz* ***4a-i*** *względem hCA II, hCA IX oraz hCA XII.*

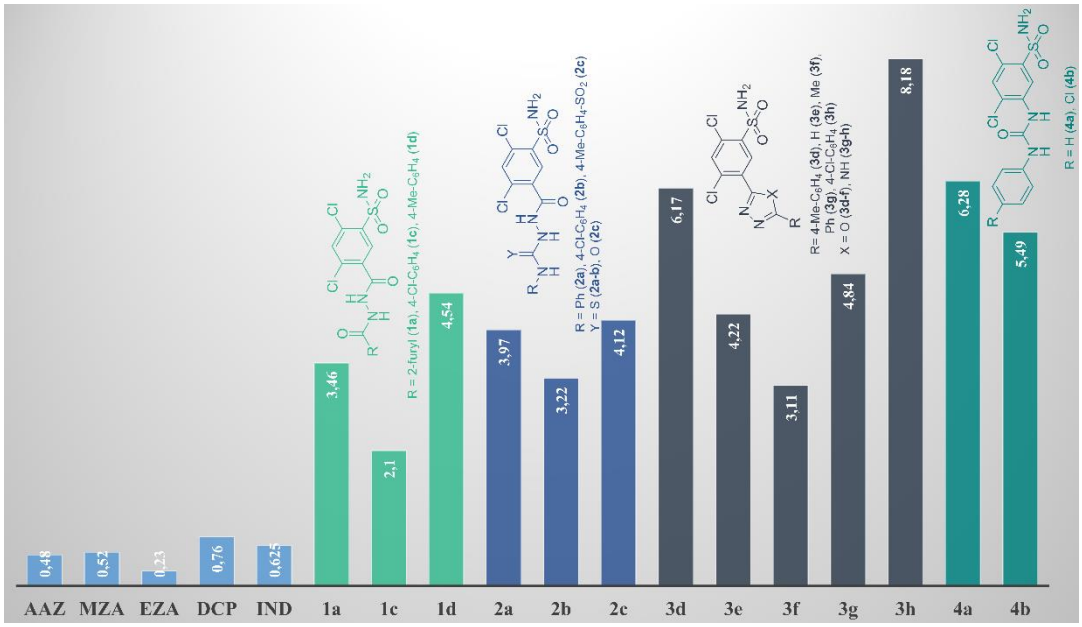
Szczególnie interesujące wyniki uzyskano natomiast w testach oceniających zdolność hamowania aktywności izoform hCA IX oraz hCA XII, powiązanych z procesem nowotworowym. Należy w tym miejscu zaznaczyć, że z punktu widzenia terapii ważniejsze od samej wartości stałej inhibicji jest selektywne hamowanie aktywności izoform hCA IX i/lub hCA XII (Rys. 4-5). Selektywność tą wyraża się jako stosunek wartości K_I dla hCA II do K_I dla hCA IX i/lub hCA XII.

Stosunkowo słabą zdolność hamowania aktywności izoform IX i XII, w porównaniu do pozostałych serii, wykazały związki **2a-c** (Rys. 3). Na uwagę zasługuje jednak fakt, iż wartości stałej inhibicji dla izoform hCA IX oraz hCA XII były porównywalne z uzyskanymi dla leków odniesienia, zaś obliczony wskaźnik selektywności hCA II / hCA IX był znacząco lepszy dla związków **2a-c** (Rys. 4-5).

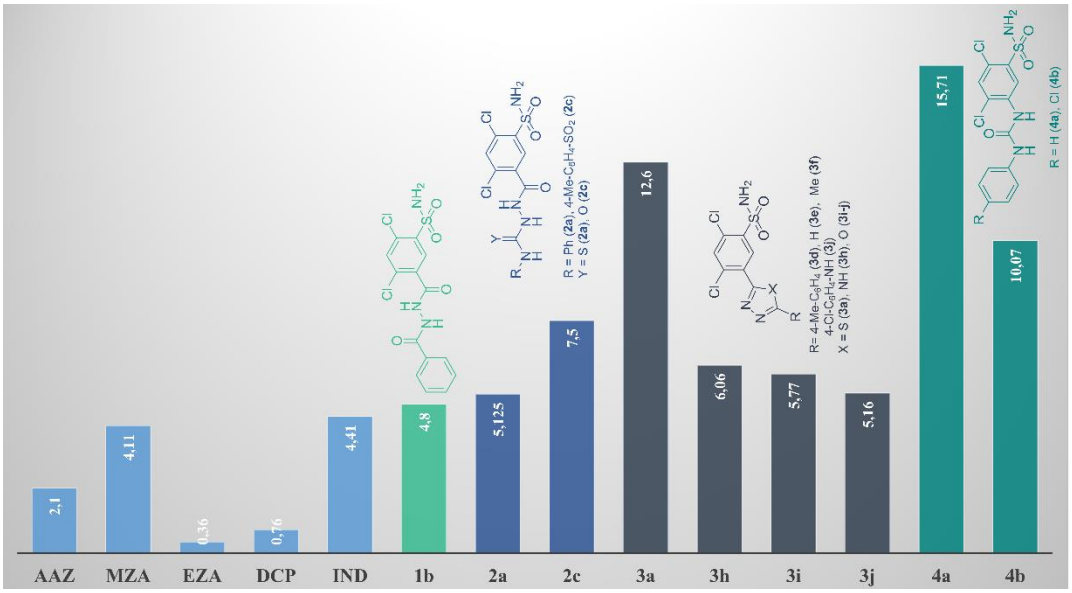
Pochodne wszystkich serii **1-4** (z wyjątkiem zw. **4i**) odznaczały się wysoką aktywnością względem hCA IX (Rys. 3), przy czym związki **2a-b** oraz **4g-h** wykazały aktywność zbliżoną do leków referencyjnych. Wartości K_I pozostałych benzenosulfonamidów były znacząco niższe od leków referencyjnych i mieściły się w zakresie 2,8 – 18,9 nM (K_I dla lek. ref. 24 – 50 nM). Związki **1a**, **1c-d**, **3d-h** oraz **4a-b** charakteryzowały się wartościami stałej inhibicji $K_I < 10$ nM. Co więcej, związki należące do wspomnianych serii odznaczały się wyższą selektywnością hCA II / hCA IX (1,38 – 8,18) w porównaniu z lekami referencyjnymi (0,23 – 0,76; Rys. 4-5).

Istotne hamowanie aktywności izoformy hCA XII stwierdzono dla pochodnych serii **1** i **3** (Rys.3). Związki te wykazały wartości K_I zbliżone do uzyskanych dla leków referencyjnych

(K_I w zakresie 2,7 – 8,1 nM dla **1a-d** oraz 5,4 – 13,6 nM dla ***3a-j*** w porównaniu z K_{IAAZ} = 5,7 nM, K_{IMZA} = 3,4 nM, K_{IEZA} = 22 nM, K_{IDCP} = 50 nM i K_{IIND} = 3,4 nM). W przypadku serii **4** zawierającej ugrupowanie mocznikowe tylko związki **4a-c** odznaczały się wysoką inhibicją hCA XII (K_I = 2,8 nM, 4,3 nM oraz 3,6 nM, odpowiednio dla **4a**, **4b** i **4c**). Należy jednak podkreślić, że w porównaniu z najbardziej aktywnymi wobec hCA XII inhibitorami referencyjnymi, tj. AAZ, MZA i IND, dziewięć z opisanych w **P1** benzenosulfonamidów, należących do wszystkich serii **1-4**, charakteryzowało się wyższą selektywnością względem hCA XII niż hCA II (Rys. 4-5).



Rysunek 4. *Indeks selektywności względem hCA IX wybranych związków serii **1-4**.*



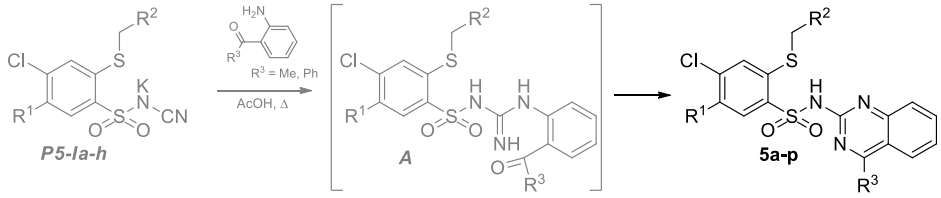
Rysunek 5. *Indeks selektywności względem hCA XII wybranych związków serii **1-4**.*

4.3.2.2. Benzenosulfonamidy wykazujące aktywność cytotoksyczną względem komórek nowotworowych

4.3.2.2.1. Synteza związków

Synteza pochodnych N-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu

W kolejnym etapie badań skoncentrowano się na syntezie związków o spodziewanej aktywności przeciwnowotworowej. Projektując struktury serii pochodnych 2-alkilotio-*N*-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu **5a-p** uwzględniono farmakoforowe ugrupowanie chinazoliny. Docelowe związki **5a-p** zsyntetyzowano wykorzystując reakcje soli monopotasowych ***P5-Ia-h*** z 2-aminoacetofenonem lub 2-aminobenzofenonem. Reakcja przebiegała jednoetapowo z wytworzeniem produktu addycji grupy aminowej do wiązania C≡N ***A***, który dalej ulegał samorzutnej cyklizacji do produktów końcowych **5a-p**, z wydajnością 30 – 61 %. Niewątpliwą zaletą opracowanej metody jest zarówno szybki przebieg reakcji (3,5 – 5 h) jak również stosunkowo łatwy proces izolacji, obejmujący ekstrakcję wrzącym etanolem bądź krystalizację osadu wytrąconego z mieszaniny reakcyjnej.



Zw.	R^1	R^2	R^3
5a	Me	Ph	Me
5b	Me	Ph	Ph
5c	Me	6-Cl-benzo[*d*][1,3]dioksol-5-yl	Me
5d	Me	6-Cl-benzo[*d*][1,3]dioksol-5-yl	Ph
5e	Me	$CONH_2$	Me
5f	Me	$CONH_2$	Ph
5g	Me	COOEt	Me
5h	Me	COOEt	Ph

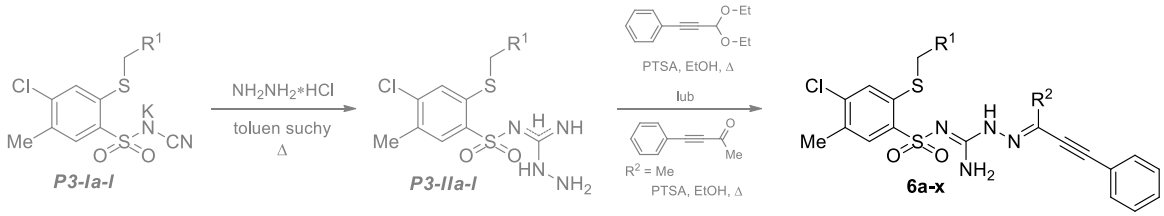
Zw.	R^1	R^2	R^3
5i	PhNHCO	Ph	Me
5j	PhNHCO	Ph	Ph
5k	4-Cl-C_6H_4NHCO	$CONH_2$	Me
5l	4-Cl-C_6H_4NHCO	$CONH_2$	Ph
5m	4-Cl-C_6H_4NHCO	Ph	Me
5n	4-Cl-C_6H_4NHCO	Ph	Ph
5o	4-Me-C_6H_4NHCO	Ph	Me
5p	4-Me-C_6H_4NHCO	Ph	Ph

Zsyntetyzowane związki **5a-p** scharakteryzowano za pomocą spektrometrii HRMS, spektroskopii IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR oraz analizy elementarnej, które to metody potwierdziły struktury zaprojektowanych pochodnych 2-alkilotio-*N*-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu **5a-p**. W widmach ^{1}H NMR wszystkich związków zidentyfikowano dwa charakterystyczne sygnały pochodzące od protonów grup sulfonamidowej oraz metylotiolowej. Ostry singlet zintegrowany na dwa protony odpowiadający protonom grupy S-C$\underline{H_2}$-R^2 pojawia się przy wartościach przesunięcia chemicznego 3,66 – 4,39 ppm. Z kolei poszerzone singlety przyporządkowane protonom grupy sulfonamidowej Ar-SO_2-N$\underline{H}$-Ar związków **5a-p** widoczne są w zakresie 12,50 – 13,75 ppm. Wśród charakterystycznych sygnałów zidentyfikować można także protony grupy metylowej związków **5a-h**, widoczne jako singlet o integracji 3 w zakresie

2,20 – 2,41 ppm, oraz protony przyłączone do atomu azotu grupy karbamoilowej w związkach **5i-p**, pojawiające się jako singlet zintegrowany na jeden proton w zakresie 10,48 – 10,77 ppm.

Synteza pochodnych 2-(benzenosulfonylo)-3-(fenyloprop-2-ynylidenoamino)guanidyny

Pochodne 2-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)-3-(fenyloprop-2-ynylidenoamino)guanidyny **6a-x** zawierają w strukturze ważne farmakofory, tj. ugrupowanie hydrazonu oraz fragment etynyloarylowy. Projektując syntezę związków **6a-x** wykorzystano reaktywność 1-amino-2-(2-alkilotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo)guanidyn ***P3-IIa-l*** ze związkami karbonylowymi lub ich pochodnymi. Niezbędne substraty ***P3-IIa-l*** uzyskano w wyniku reakcji soli monopotasowych ***P3-Ia-l*** z chlorowodorkiem hydrazyny. Dalsze reakcje związków ***P3-IIa-l*** z pochodnymi karbonylowymi prowadziły do pożądanych produktów końcowych **6a-x** zróżnicowanych podstawnikami R^2. Podstawienie atomem wodoru uzyskano w reakcji guanidyn ***P3-IIa-l*** z (3,3-dietoksyprop-1-yn-1-ylo)benzenem, z kolei wprowadzenie grupy metylowej umożliwiła reakcja z 4-fenylobut-3-yn-2-onem.



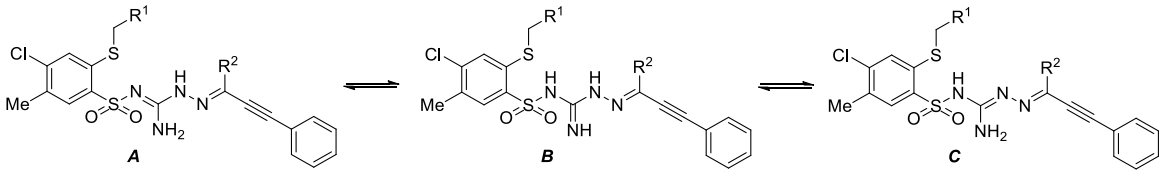
Zw.	R^1	R^2
6a	Ph	H
6b	Ph	Me
6c	2-Me-C_6H_4	H
6d	2-Me-C_6H_4	Me
6e	3-Me-C_6H_4	H
6f	3-Me-C_6H_4	Me
6g	4-Me-C_6H_4	H
6h	4-Me-C_6H_4	Me

Zw.	R^1	R^2
6i	2-CF_3-C_6H_4	H
6j	2-CF_3-C_6H_4	Me
6k	3-CF_3-C_6H_4	H
6l	3-CF_3-C_6H_4	Me
6m	4-CF_3-C_6H_4	H
6n	4-CF_3-C_6H_4	Me
6o	2-Cl-C_6H_4	H
6p	2-Cl-C_6H_4	Me

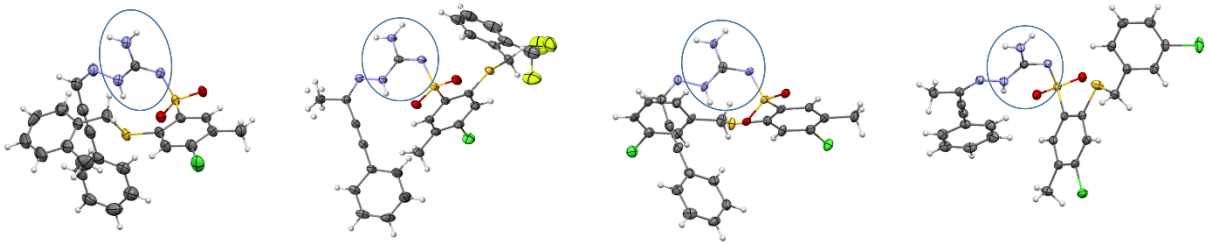
Zw.	R^1	R^2
6q	3-Cl-C_6H_4	H
6r	3-Cl-C_6H_4	Me
6s	4-Cl-C_6H_4	H
6t	4-Cl-C_6H_4	Me
6u	1-naftyl	H
6v	1-naftyl	Me
6w	6-Cl-benzo[*d*][1,3]dioksol-5-yl	H
6x	6-Cl-benzo[*d*][1,3]dioksol-5-yl	Me

Przeprowadzone reakcje zachodziły z wysokimi wydajnościami, w większości przypadków przekraczającymi 70%. Produkty **6a-x** izolowano wprost z mieszaniny reakcyjnej a następnie oczyszczono metodą krystalizacji. Strukturę związków ustalono z wykorzystaniem metod spektroskopowych IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, spektrometrii HRMS, analizy elementarnej oraz analizy rentgenokrystalograficznej.

Ugrupowanie guanidynowe związków **6a-x** może występować w formie kilku możliwych tautomerów (**P3**). W widmach ^{1}H NMR wszystkich zsyntetyzowanych pochodnych **6a-x** obserwowano 3 wyodrębnione singlety, każdy o integracji 1 protonu, co sugerowało, iż rzeczywistą strukturę reprezentuje odmiana ***B***.

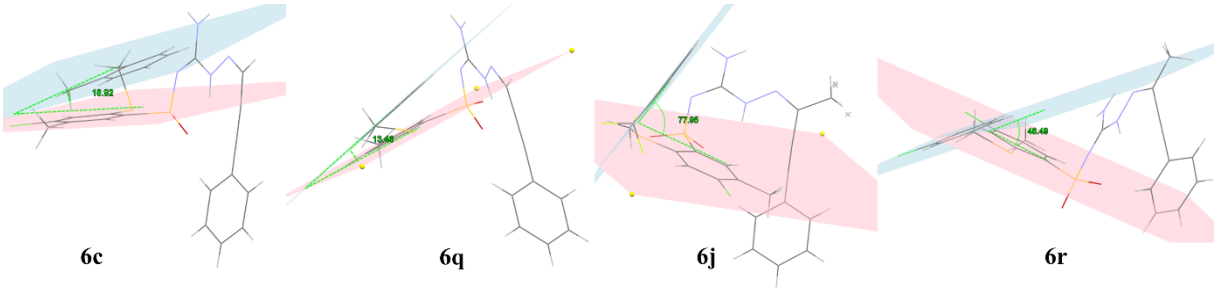


Biorąc jednak pod uwagę, że widma wykonane zostały w roztworze (DMSO-d_6), w którym równowaga tautomeryczna może być odmienna niż w stanie stałym, dokonano analizy rentgenokrystalograficznej wybranych związków **6c**, **6j**, **6q** i **6r** i stwierdzono, że badane związki występują w formie tautomeru ***A***.



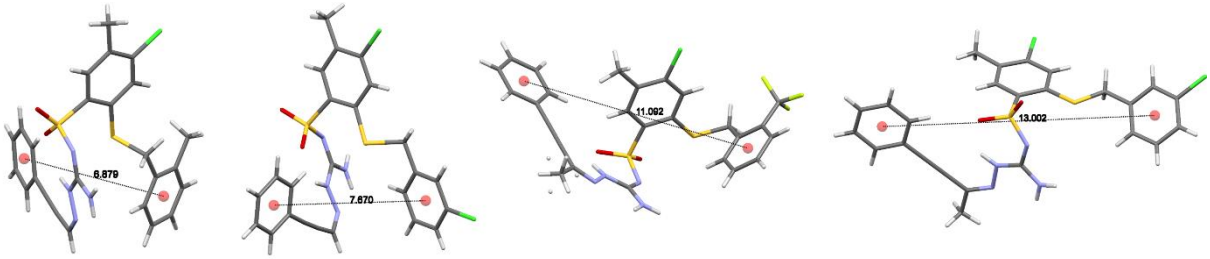
6c **6j** **6q** **6r**

Uzyskane wyniki badań rentgenokrystalograficznych pozwoliły również stwierdzić istotne różnice w konformacji związków zróżnicowanych podstawnikami w pozycji R^2. Związki **6c** i **6q**, zawierające ugrupowanie metylowe (R^2 = Me), charakteryzują się znacznie większym kątem dwuściennym wyznaczonym przez płaszczyzny pierścieni szkieletu benzenosulfonamidowego i pierścienia znajdującego się w pozycji R^1.



6c **6q** **6j** **6r**

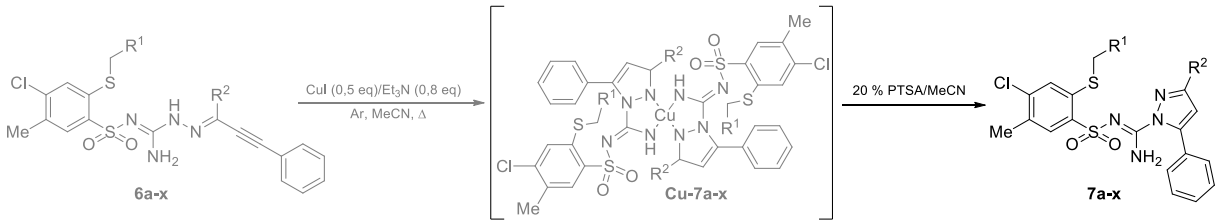
Ponadto, pochodne amidyny **6c** i **6q** (R^2 = Me) wykazują znacznie mniejszą odległość między pierścieniem znajdującym się w pozycji 2 szkieletu benzenosulfonamidowego oraz pierścieniem reszty fenyloetynylowej.



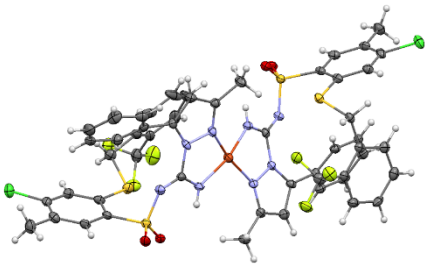
6c **6q** **6j** **6r**

Synteza pochodnych N'-(benzenosulfonylo)-1-(5-fenylo-1H-pirazol-1-ylo)amidyny

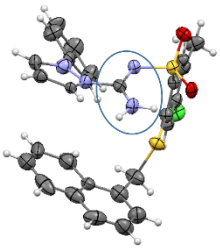
Syntezę pochodnych *N'*-(2-alkilotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo)-1-(5-fenylo-1*H*-pirazol-1-ylo)amidyny **7a-x** zaplanowano wykorzystując podatność *α,β*-alkynylohydrazonów na reakcje elektrofilowej cyklizacji katalizowanej jonami miedzi(I)[68]. Zaplanowane kierunki modyfikacji szkieletu benzenosulfonamidowego, uwzględniające wprowadzenie pierścienia pirazolu, oparto na uzyskanych wcześniej w naszym zespole wynikach aktywności cytotoksycznej podobnych związków[17].



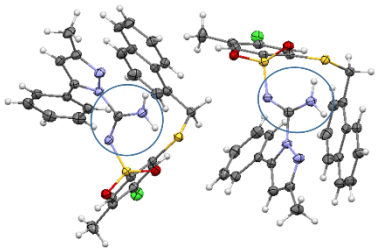
Opisana w literaturze[68] cyklizacja *α,β*-alkynylohydrazonów jest procesem jednoetapowym, prowadzącym bezpośrednio do pierścienia pirazolu. Obserwowany przebieg reakcji zachodzących dla 2-(benzenosulfonylo)-3-(fenyloprop-2-ynylidenoamino)guanidyn **6a-x** był jednak nieco odmienny i skutkował, w pierwszym etapie, wytworzeniem trwałego związku kompleksowego **Cu-7a-x**, który dalej ulegał rozpadowi w warunkach kwasowych z wytworzeniem docelowych produktów **7a-x**. Strukturę kompleksu ustalono na podstawie analizy rentgenostrukturalnej kryształu pochodzącego od produktu przejściowego tworzącego związek **7j**. Analogicznie jak dla serii **6a-x**, analiza rentgenokrystalograficzna pozwoliła także na określenie rzeczywistej formy tautomerycznej pochodnych **7a-x** (**P4**), na podstawie reprezentatywnych struktur **7u-v**.



Kompleks Cu-7j



7u



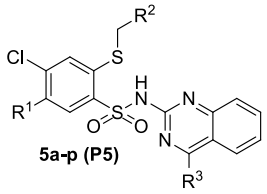
7v

4.3.2.2.2. Aktywność cytotoksyczna

Zsyntetyzowane związki serii **5-7** skierowano do oceny aktywności cytotoksycznej wobec panelu 60 linii komórkowych nowotworów ludzkich (prace **P2** oraz **P5**), w ramach współpracy z National Cancer Institute (NCI, Bethesda, USA), oraz względem trzech liniach komórkowych raka piersi MCF-7, raka okrężnicy HCT-116 i raka szyjki macicy HeLa

z zastosowaniem testu MTT (prace **P3** − **P5**), we współpracy z dr Anną Kawiak z Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG-GUMed,.

W serii pochodnych 2-alkilotio-*N*-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu **5a-p**, związki **5a-f** i **5i-p** zostały zakwalifikowane do badań NCI w stężeniu 10 μM.



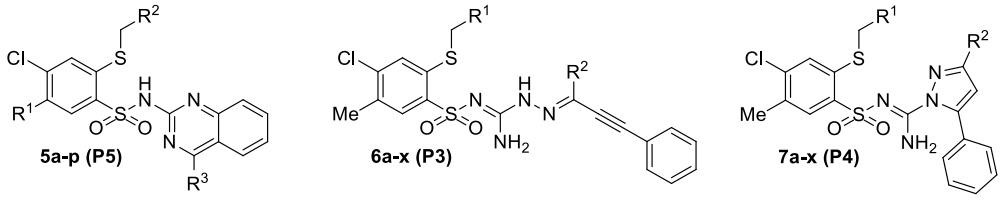
R^1 = Me (**5a-h**), PhNHCO (**5i-j**), 4-Cl-C_6H_4NHCO (**5k-n**), 4-Me-C_6H_4NHCO (**5o-p**)

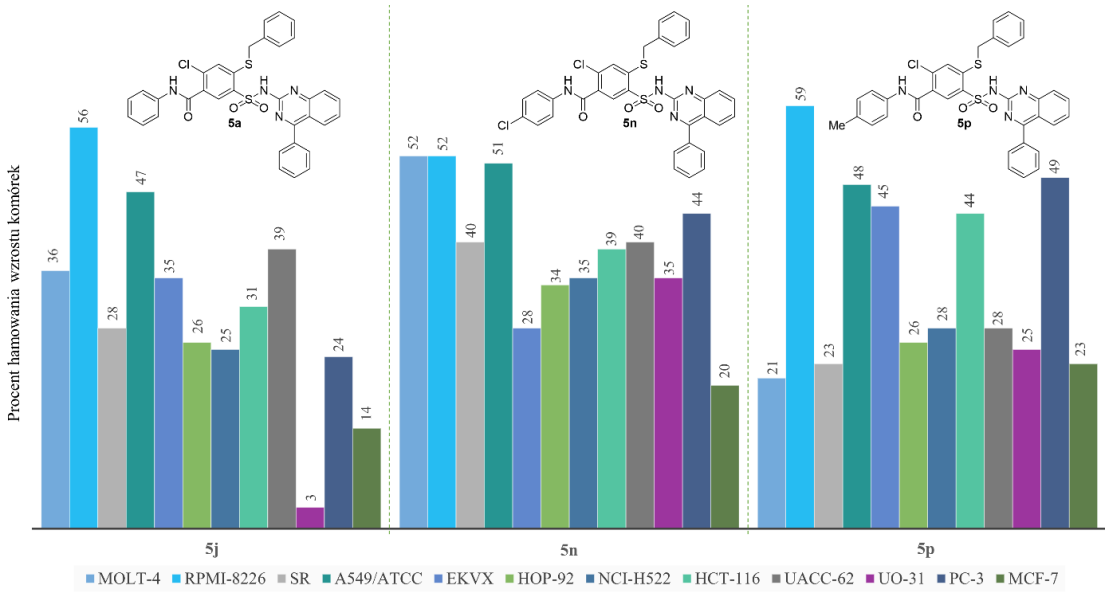
R^2 = Ph (**5a-b**, **5i-j**, **5m-p**), 6-Cl-benzo[*d*][1,3]dioksol-5-yl (**5c-d**), $CONH_2$ (**5e-f**, **5k-l**), COOEt (5g-h)

R^3 = Me (**5a**, **5c**, **5e**, **5g**, **5i**, **5k**, **5m**, **5o**), Ph (**5b**, **5d**, **5f**, **5h**, **5j**, **5l**, **5n**, **5p**),

Najwyższą aktywność stwierdzono dla związków **5j**, **5n** i **5p** (Rys. 6), które hamowały wzrost 12 linii komórkowych należących do siedmiu typów nowotworów ludzkich ze średnią wartością IGP odpowiednio 30,33%, 39,17% i 34,92% (*IGP – procent hamowania wzrostu komórek nowotworowych*). Najwyższą wrażliwość na działanie 2-benzylotio-4-chloro-5-fenylokarbamoilo-*N*-(4-fenylochinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu **5j** wykazały komórki białaczki RPMI-8226 (IGP = 56%) oraz niedrobnokomórkowego raka płuc A549/ATCC (IGP = 47%). Największą skuteczność 2-benzylotio-4-chloro-5-(4-chlorofenylokarbamoilo)-*N*-(4-fenylochinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu **5n** w hamowaniu wzrostu komórek zaobserwowano natomiast względem linii niedrobnokomórkowego raka płuc A549/ATCC (IGP = 51%) oraz dwóch linii białaczki MOLT-4 (IGP = 52%) i RPMI-8226 (IGP = 52%). Z kolei 2-benzylotio-4-chloro-5-(4-metylofenylokarbamoilo)-*N*-(4-fenylochinazolin-2-ylo)benzenosulfonamid **5p** najsilniej hamował wzrost linii komórkowej białaczki RPMI-8226 (IGP = 59%), niedrobnokomórkowego raka płuc A549/ATCC (IGP = 48%) i raka prostaty PC-3 (IGP = 49%). Brak znaczącej aktywności stwierdzono dla pochodnych **5e-f** oraz **5k-l**, co może sugerować, że obecność grupy $CONH_2$ w pozycji R^2 wpływa niekorzystnie na aktywność cytotoksyczną.

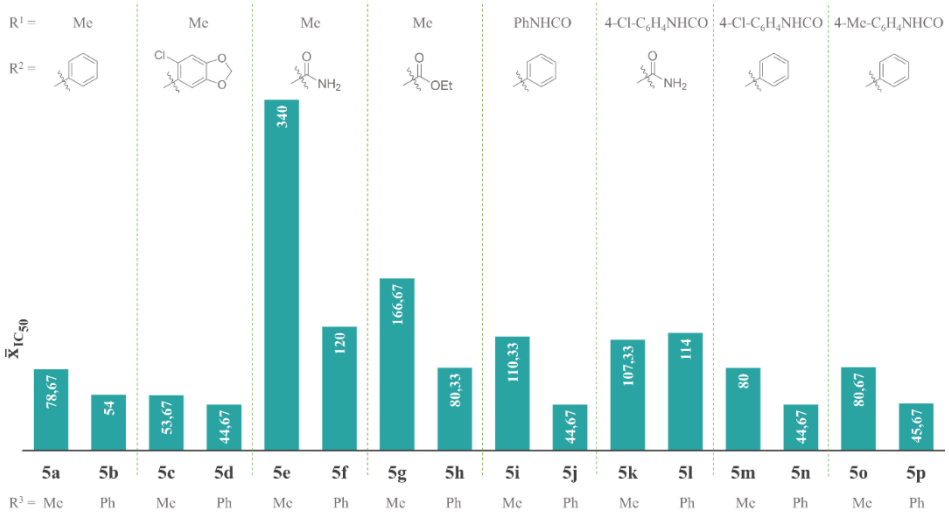
Do oceny aktywności cytotoksycznej w teście MTT, służącej określeniu zdolności hamowania wzrostu komórek linii raka piersi MCF-7, raka okrężnicy HCT-116 oraz raka szyjki macicy HeLa, skierowano trzy serie pochodnych reprezentujące związki **5a-p** oraz **6a-x** oraz **7a-x**.





Rysunek 6. *Aktywność cytotoksyczna (IGP) związków* ***5a***, ***5n*** *i* ***5p*** *względem najbardziej wrażliwych linii komórkowych nowotworów ludzkich oceniona w testach NCI.*

Wyniki badań MTT serii pochodnych 2-alkilotio-*N*-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu **5a-p** wykazały, podobnie jak w przypadku testów wykonanych w NCI (test z wykorzystaniem sulforodaminy B), że związki **5j** ($\bar{x}_{IC_{50}}$ = 44,67 μM), **5n** ($\bar{x}_{IC_{50}}$ = 44,67 μM) oraz **5p** ($\bar{x}_{IC_{50}}$ = 45,67 μM) charakteryzują się najwyższą w tej serii aktywnością względem komórek wszystkich trzech testowanych linii komórkowych (praca **P5**, Rys. 7).



Rysunek 7. *Średnie wartości IC_{50} serii* ***5a-p*** *względem trzech linii komórkowych raka okrężnicy HCT-116, raka szyjki macicy HeLa oraz raka piersi MCF-7 w teście MTT.*

Porównywalne hamowanie wzrostu wykazał także związek **5d** ($\bar{x}_{IC_{50}}$ = 44,67 μM). Warto zauważyć (Rys. 7), że dla 2-benzylotio-4-chloro-5-(4-R-fenylokarbamoilo)-*N*-(4-fenylochinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidów **5j**, **5n** i **5p** zamiana podstawnika w pozycji 4 pierścienia chinazoliny z grupy fenylowej na grupę metylową skutkuje znaczącym spadkiem aktywności cytotoksycznej (analogi **5i**, **5m** oraz **5o**). Stwierdzono ponadto, brak aktywności dla związków **5e-g** i **5k-l**, co wydaje się potwierdzać, iż ugrupowanie karbamoilowe (R^2 = $CONH_2$) niekorzystnie wpływa na efekt cytotoksyczny.

Interesującym wydawało się określenie profilu bezpieczeństwa dla związków serii **5** o najkorzystniejszej aktywności cytotoksycznej, tj. **5d**, **5j**, **5n** i **5p**. W tym celu określono w teście MTT zdolność hamowania wzrostu nienowotworowej unieśmiertelnionej linii komórkowej keratynocytów ludzkich HaCaT oraz wyznaczono *in silico* parametry ADMET. Wyniki wskazują, że testowane związki charakteryzują się wyższą selektywnością względem linii komórkowych HCT-116 i HeLa w porównaniu z linią HaCaT.

Parametry ADMET określono *in silico* za pomocą algorytmu pkCSM (http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction) [69]. Absorpcję przez układ pokarmowy obliczono dla modelu monowarstwy Caco-2, wykorzystywanej jako model *in vitro* w badaniach eksperymentalnych. Uważa się, że związek wykazuje wysoką przepuszczalność gdy parametr Papp > 8×10^{-6} cm/s (logPapp > 0,9). Spośród obliczonych wartości tylko związek **5d** charakteryzował się logPapp = 0,911 sugerującym możliwość wysokiej absorpcji drogą pokarmową, aczkolwiek logPapp wyznaczone dla **5n** i **5p**, odpowiednio 0,555 i 0,563, wskazują na znaczące prawdopodobieństwo częściowego wchłaniania z układu pokarmowego.

Dystrybucję związków w organizmie obliczono z wykorzystaniem dwóch parametrów, objętości dystrybucji (logVDss) oraz przepuszczalności przez barierę krew-mózg (logBB). Przyjmuje się, że objętość dystrybucji jest niska gdy logVDss < - 0,15 i wysoka dla logVDss > 0,45. Obliczenia wskazują, iż logVDss dla omawianych związków jest znacząco niższe od - 0,15 zatem pochodne 2-alkilotio-*N*-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu nie będą wykazywały tendencji do kumulowania w tkankach. Przepuszczalność przez barierę krew-mózg jest całkowita dla cząsteczek o logBB > 0,3. Z kolei substancje posiadające

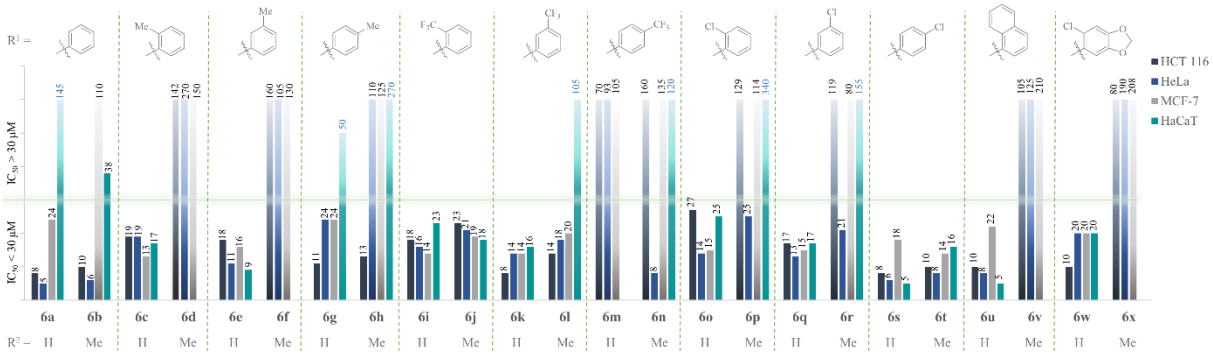
logBB < -1 charakteryzują się niską dystrybucją do mózgu. Zakres wartości logBB dla związków **5d**, **5j**, **5n** i **5p** mieści się w przedziale -1,049 − -0,296 co sugeruje bardzo niskie prawdopodobieństwo lub brak toksycznego uszkodzenia mózgu wywołanego przez omawiane pochodne *N*-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu.

Transport i metabolizm związków wyrażono jako możliwość wpływania na aktywność P-glikoprotein (P-gp) oraz różnych izoform cytochromu P450. Farmakokinetyczne właściwości substancji związane są głównie z regulowaniem transportu zależnego od P-gp. Większość leków, włączając w to chemoterapeutyki przeciwnowotworowe, jest substratami dla transportujących P-gp. Podobne rezultaty uzyskano dla wszystkich omawianych pochodnych. Z drugiej strony obliczenia wskazują, że związki te są także inhibitorami P-gp. Tego typu parametr wydaje się być istotny z punktu widzenia terapii przeciwnowotworowej, gdyż hamowanie aktywności P-gp rozpatrywane jest w kontekście metod leczenia pozwalających uniknąć lekooporności zależnej od transportu P-gp[70]. Należy jednak zaznaczyć, że skuteczne inhibitory P-gp nie powinny hamować aktywności enzymów cytochromu P450, zwłaszcza CYP3A, gdyż równoczesna inhibicja transportu z udziałem P-gp i metabolizmu CYP3A może skutkować wzrostem stężenia leku we krwi i prowadzić do większej toksyczności[71]. Obliczenia sugerują, że tylko związek **5d** może być potencjalnym inhibitorem zarówno P-gp jak i CYP3A4. Pozostałe pochodne *N*-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu **5j**, **5n** i **5p** nie wykazują tendencji do hamowania aktywności CYP3A4. Ponadto, związki **5j**, **5n** i **5p** mogą być rozpatrywane jako substraty P-gp jak i CYP3A, co ze względu na komplementarne funkcje tych białek może skutkować zwiększoną redukcją narażenia na toksyczne działanie tych substancji.

Potencjalną toksyczność pochodnych **5d**, **5j**, **5n** i **5p** określono poprzez wyznaczenie *in silico* maksymalnej dawki tolerowanej oraz inhibicji hERG. Wartość maksymalnej dawki tolerowanej przez organizm dla wszystkich związków jest znacząco wyższa od wyznaczonych wartości IC_{50} jednakże omawiane substancje wykazują pewne tendencje do inhibicji kanałów potasowych hERG. Zjawisko to jest jedną z przyczyn niepowodzeń potencjalnych leków w badaniach klinicznych, gdyż zjawisko to związane jest z wydłużeniem odstępu QT, co może powodować częstoskurcz komorowy a w konsekwencji nagłą śmierć sercową.

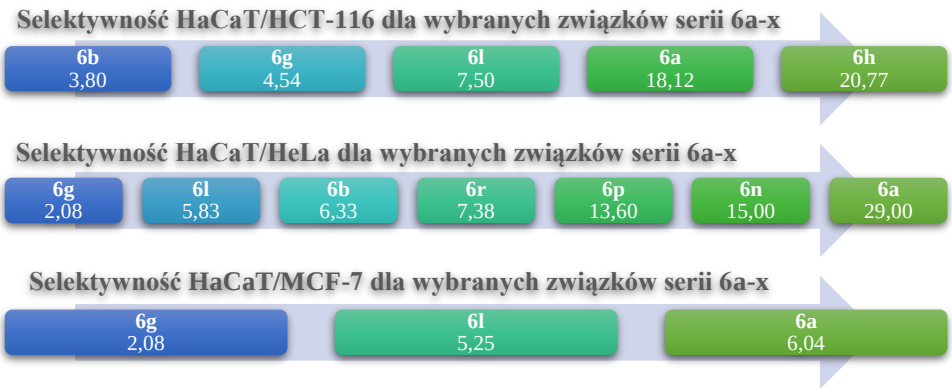
Znacząco wyższą aktywność cytotoksyczną stwierdzono w serii pochodnych 2-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)-3-(fenyloprop-2-ynylidenoamino)guanidyny **6a-x**. Wyniki testów MTT przeprowadzonych dla związków **6a-x** wykazały wysoką wrażliwość linii raka okrężnicy HCT-116 oraz szyjki macicy HeLa. Nieco mniejszą aktywność związków **6a-x** odnotowano względem komórek raka piersi MCF-7 (Rys. 8, praca **P3**). Ogólna zależność wynikająca

z analizy rezultatów testów MTT wskazuje na wyższą aktywność związków zawierających w pozycji R^2 atom wodoru (Rys. 8). Grupa metylowa (R^2 = Me), z kolei, odpowiada za większą selektywność związków względem komórek HeLa i/lub HCT-116. Wyjątkiem są związki **6i-l** oraz **6s-t**, które wykazywały zbliżoną aktywność w stosunku do trzech badanych linii, bez względu na to czy podstawnikiem R^2 była grupa metylowa czy atom wodoru. Odmienna tendencja charakteryzowała również związki **6m-n**, wśród których tylko **6n** z R^2 = Me wykazał zauważalne hamowanie wzrostu komórek HeLa na poziomie IC_{50} = 8 μM.



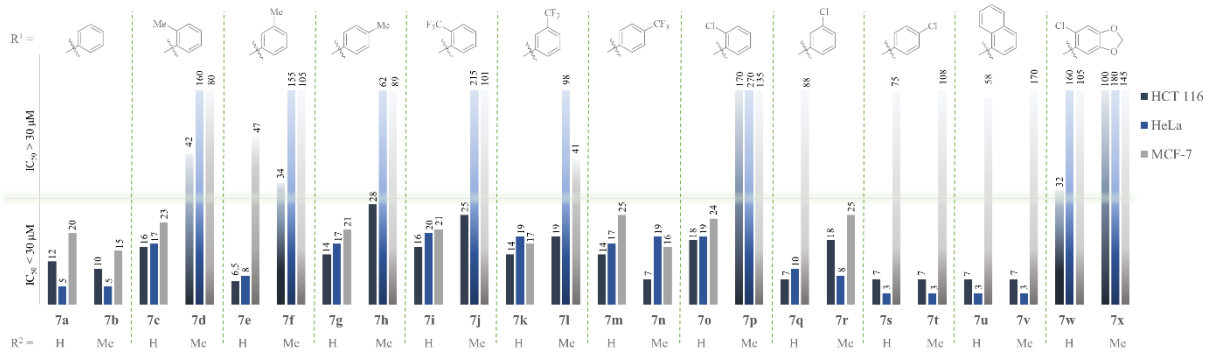
Rysunek 8. *Wyniki testów MTT dla związków* ***6a-x****. Wartości IC_{50} nie uwzględniają odchylenia standardowego.*

Związki serii **6a-x** charakteryzujące się istotną aktywnością cytotoksyczną względem komórek nowotworowych przebadano pod kątem oceny ich toksyczności względem komórek zdrowych, wykorzystując niekancerogenną, unieśmiertelnioną linię keratynocytów ludzkich HaCaT. Osiem związków wykazało istotną selektywność hamowania wzrostu linii nowotworowych, przy czym większość z nich posiadała podstawnik metylowy w pozycji R^2. W grupie pochodnych zawierających R^2 = H jedynie związki **6a** i **6g** były selektywne względem komórek nowotworowych.



Reakcja cyklizacji aminoguanidyn **6a-x** do pochodnych *N'*-(2-alkilotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo)-1-(5-fenylo-1*H*-pirazol-1-ylo)amidyny **7a-x** zaowocowała

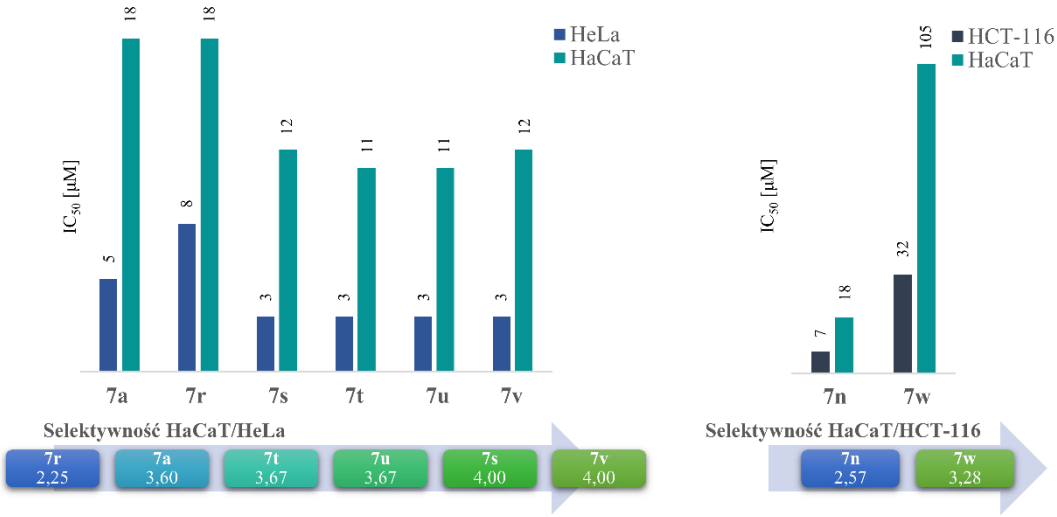
uzyskaniem kolejnej serii aktywnych związków (praca **P4**), zwłaszcza względem linii HeLa oraz HCT-116 (Rys. 9).



Rysunek 9. *Wyniki testów MTT dla związków* ***7a-x****. Wartości IC_{50} nie uwzględniają odchylenia standardowego.*

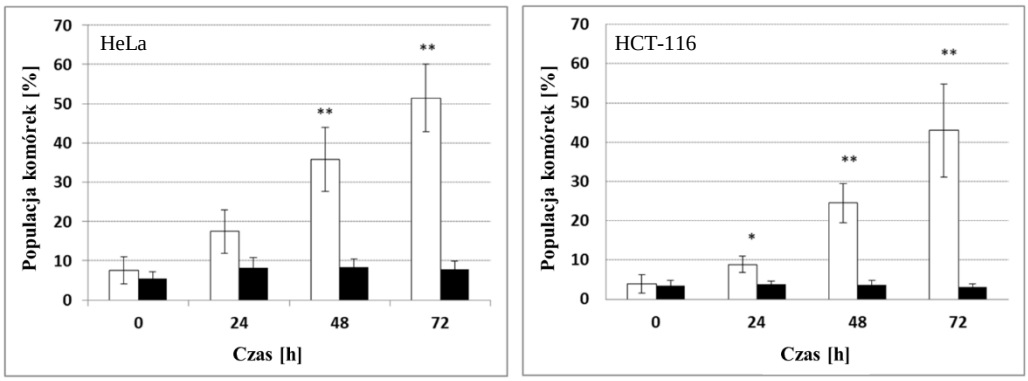
Dla ośmiu związków **7e**, **7n**, **7q** oraz **7s-v** wartości IC_{50} względem HCT-116 wynosiły ok. 7 μM, zaś dla dziesięciu kolejnych (**7a-c**, **7g**, **7i**, **7k-m**, **7o** i **7r**) IC_{50} mieściło się w zakresie 10 – 19 μM. Szczególnie selektywne hamowanie wzrostu komórek HCT-116 odnotowano dla *N'*-benzenosulfonyloamidyn z ugrupowaniem metylowym bądź trifluorometylowym w pierścieniu benzenowym podstawnika R^1 i grupą metylową w pozycji R^2 (**7d**, **7f**, **7h**, **7j**, **7l** i **7n**). W odniesieniu do linii HeLa, cztery związki **7s-v** (IC_{50} = 3 μM) wykazały aktywność zbliżoną do leku referencyjnego – cisplatyny (IC_{50} = 2,2 μM). Co więcej, wartości IC_{50} tych związków były ok. dwukrotnie niższe od otrzymanych dla linii HCT-116 i znacząco niższe w porównaniu z linią MCF-7. Wysoką skuteczność względem komórek HeLa wykazały także amidyny **7a-b** (IC_{50} = 5 μM), **7e** i **7r** (IC_{50} = 8 μM) oraz **7q** (IC_{50} = 10 μM).

Związki serii **7a-x** o najwyższej aktywności przebadano pod kątem cytotoksyczności względem komórek HaCaT. Wyniki pokazują niższą selektywność w porównaniu ze związkami **6a-x**, aczkolwiek niektóre amidyny charakteryzują się znacząco wyższą aktywnością względem komórek nowotworowych (Rys. 10).

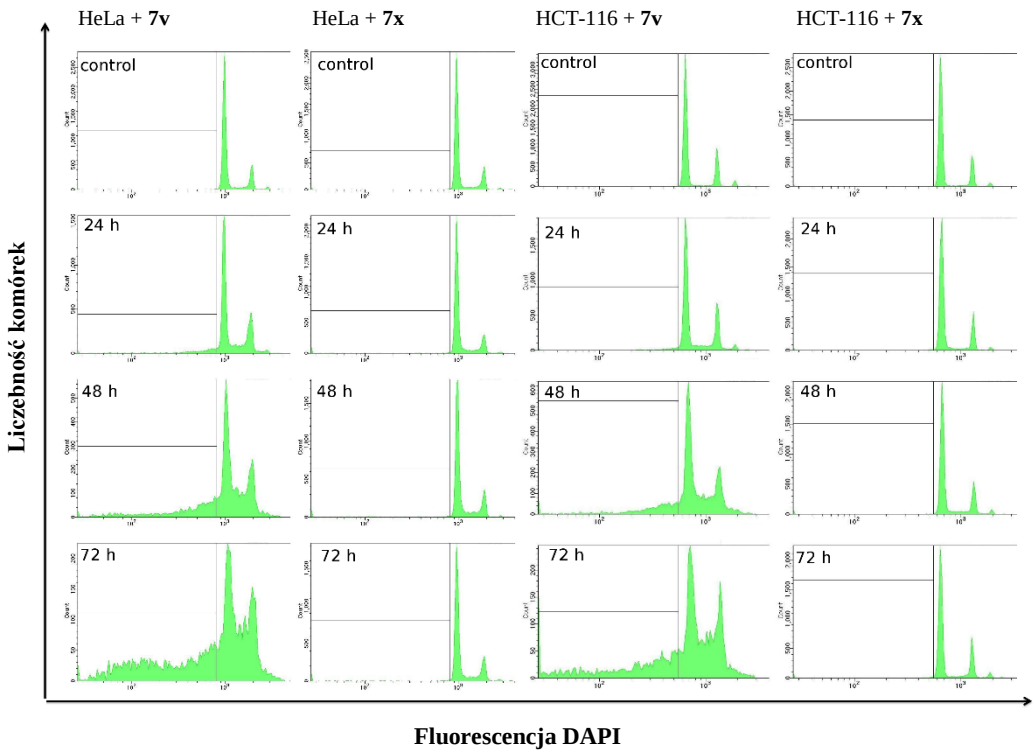


Rysunek 10. *Porównanie aktywności wybranych związków serii* ***7a-x*** *względem komórek nowotworowych HeLa/HCT-116 oraz niekancerogennych komórek HaCaT.*

Pogłębione badania biologiczne wytypowanej *N'*-[4-chloro-5-metylo-2-(naftalen-1-ylometylotio)benzenesulfonylo]-1-(3-metylo-5-fenylo-1*H*-pirazol-1-ylo)amidyny **7v**, wykonane we współpracy z dr Grzegorzem Stasiłojć z Zakładu Biologii Komórki GUMed, wykazały jej wpływ na cykl komórkowy komórek HCT-116 oraz HeLa. Kontrolę negatywną eksperymentu stanowiło wykonanie doświadczeń w tych samych warunkach dla nieaktywnego związku **7x**. Rezultaty wskazują zależny od czasu znaczący wzrost liczby komórek obu linii w fazie sub-G1 po potraktowaniu związkiem cytotoksycznym **7v** (Rys. 11), przy czym dla nieaktywnej amidyny **7x** nie odnotowano istotnego wpływu na cykl komórkowy (Rys. 12).



Rysunek 11. *Liczebność komórek w fazie sub-G1 po inkubacji ze związkiem* ***7v*** *(słupki białe) i* ***7x*** *(słupki czarne) przez 24 h, 48 h i 72 h.*



Rysunek 12. *Wpływ związków* ***7v*** *i* ***7x*** *na cykl komórkowy komórek HeLa i HCT-116.*

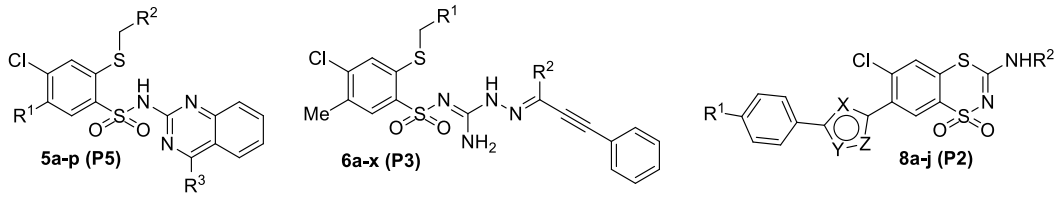
4.3.2.2.3. Badania QSAR

QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*) to badanie ilościowej zależności między strukturą chemiczną związku a jego właściwościami biologicznymi. Metoda ta pozwala określić wpływ poszczególnych parametrów fizykochemicznych cząsteczki na jej aktywność. W celu wyprowadzenia równania QSAR parametry te należy sprowadzić do postaci liczbowej i wyznaczyć tzw. deskryptory molekularne, wśród których można wyróżnić:

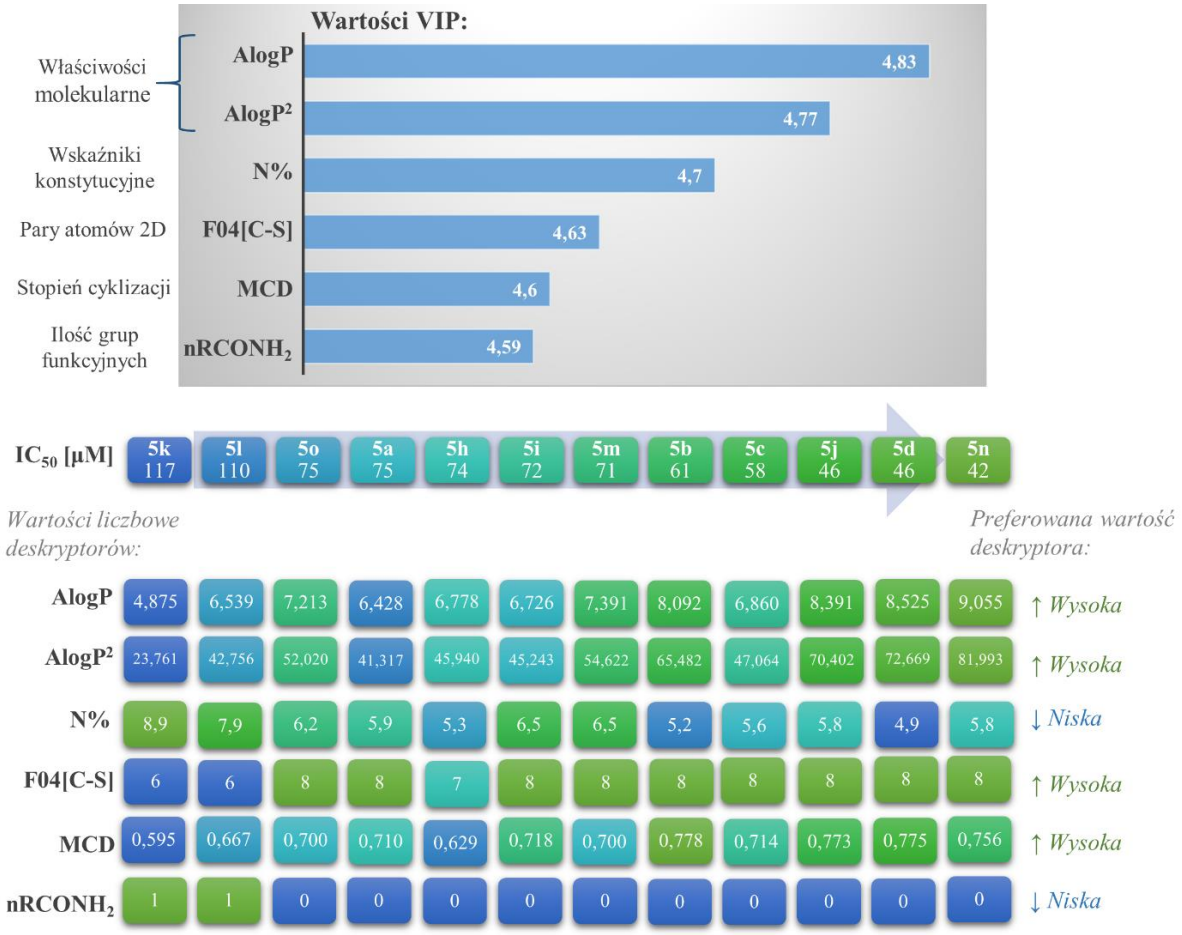
- Kwantowo-chemiczne (np. moment dipolowy, polaryzowalność, energia HOMO i LUMO, ładunek całkowity, stała Hammeta, efekt rezonansowy i indukcyjny)
- Fizykochemiczne (np. logP, refrakcja molowa)
- Strukturalne (np. pole powierzchni, objętość, liczba wiązań rotujących, parametry Tafta, hydrofobowość podstawnika, wiązania wodorowe)
- Topologiczne (właściwości i połączenia atomów)
- Konstytucyjne (ilość różnych rodzajów atomów)
- Inne.

Analiza QSAR nie zawsze pozwala na uzyskanie równania o dobrych parametrach predykcyjnych. Dla związków benzenosulfonamidowych, stanowiących przedmiot niniejszej

habilitacji, w ramach współpracy z prof. dr hab. Tomaszem Bączkiem z Katedry i Zakładu Chemii Farmaceutycznej GUMed, istotne statystycznie modele predykcyjne QSAR określono dla serii związków **5a-p**, **6a-x** oraz **8a-j**.



W celu określenia parametrów odpowiedzialnych za aktywność cytotoksyczną 2-alkilotio-*N*-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidów **5a-p**, związki poddano analizie w programie SIMCA z wykorzystaniem wielowymiarowej techniki PLS (ang. *partial least squares*) i OPLS (ang. *orthogonal partial least squares*)[72]. Niewątpliwą zaletą metodologii OPLS jest możliwość określenia relatywnego wpływu zmiennych na model, określany jako wartości VIP (ang. *Variable Influence on Projection*). Istotny statystycznie model OPLS w serii **5a-p** uzyskano dla linii raka szyjki macicy HeLa. Model ten opisuje 99% aktywności i pozwala prognozować ponad 87% zmienności wartości IC_{50}, ze średnim błędem przewidywania uzyskanym w walidacji krzyżowej równym 8,14 μM. Spośród ponad 5200 deskryptorów obliczonych w programie Dragon 7.0 do ostatecznego modelu wykorzystano tylko bloki deskryptorów prostych do praktycznego zinterpretowania, tj. właściwości molekularne cząsteczki, jej wskaźniki konstytucyjne, pary atomów 2D, stopień cyklizacji i ilość grup funkcyjnych. Wartości VIP zaprezentowane na Rys. 13 wskazują, że wysoka lipofilowość substancji, wyrażona jako AlogP i $AlogP^2$ obliczone z wykorzystaniem algorytmu Ghose-Crippen, ma największy wpływ na aktywność względem komórek HeLa. Istotne znaczenie ma również procentowa zawartość atomów azotu w związku, przy czym jest ona odwrotnie proporcjonalna do wartości logP. Bardziej szczegółowa analiza wskazuje, iż parametr N% jest szczególnie istotny przy wprowadzeniu grupy amidowej jako podstawnika R^2, co skutkuje nie tylko zanikiem aktywności cytotoksycznej, ale również niekorzystną wartością kolejnego deskryptora VIP, F04[C-S], który określa częstotliwość występowania wiązania C-S w odległości topologicznej równej 4. Ostatnim parametrem VIP w wyznaczonym modelu OPLS jest stopień cyklizacji cząsteczki (MCD) określony jako stosunek liczby atomów tworzących układy pierścieniowe do liczby wszystkich atomów w cząsteczce.



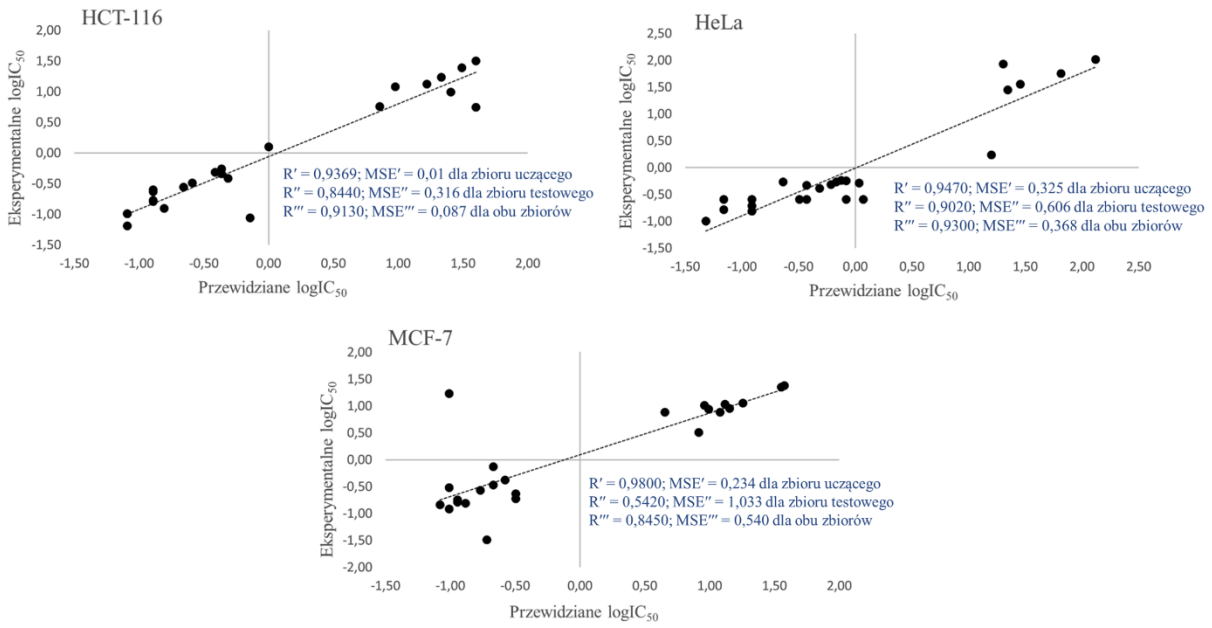
Rysunek 13. *Deskryptory i wartości VIP w wyznaczonym modelu OPLS dla serii 2-alkilotio-N-(chinazolin-2-ylo)benzenosufonamidów 5**a-p**.*

Metodologia OPLS okazała się nieskuteczna w obliczeniu modeli dla pochodnych 2-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)-3-fenyloprop-2-ynylidenoamino)guanidyny **6a-x**. W tej serii związków wykorzystano metodę maszyny wektorów nośnych SVM (ang. *Support Vector Machine*)[73,74]. Podstawą techniki SVM jest mapowanie badanych danych do przestrzeni wielowymiarowych za pomocą funkcji jądrowych (ang. *kernel function*). Deskryptory wykorzystane w procesie obliczenia modeli wybrane zostały z wykorzystaniem funkcji wyboru zmiennych programu STATISTICA, przy czym wyboru dokonano oddzielnie dla każdej linii komórkowej (Tabela 1). Wykorzystane deskryptory nie dostarczają jednakże praktycznej interpretacji dającej się przełożyć na prostą zależność między strukturą a aktywnością związków **6a-x**. Z drugiej strony parametry te są wystarczające do wyprowadzenia istotnych statystycznie modeli QSAR o wysokiej mocy predykcyjnej.

Tabela 1. Deskryptory wykorzystane w modelach SVM serii związków **6a-x**.

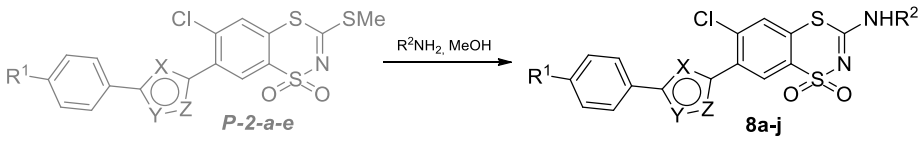
Linia komórkowa	Deskryptory
HCT-116	**RDF-125m** – ang. *radial distribution function – 125/weighted by mass* **VE1_Dt** –ang. *coefficient sum of the last eigenvectore from detour matrix* **JGI3** – ang. *mean topological chargé index of order 3* **Mor13u** – ang. *3D MoRSE signal 13/unweighted* **E1e** – ang. *1st component accessibility directional WHIM index / weighted by Sanderson electronegativity*
HeLa	**ATSC1i** – ang. *centred Broto-Moreau autocorrelation of lag 1 weighted by ionization potential* **ATSC2p** – ang. *centred Broto-Moreau autocorrelation of lag 2 weighted by polarizability* **Mor01i** – ang. *3D MoRSE signal 13/weighted by ionization potential* **SpMin8_Bh(s)** – ang. *smallest eigenvalue n. 8 of Burden matrix weighted by I-state*
MCF-7	**R4s** – ang. *R autocorrelation of lag 4 / weighted by I-state* **Eig05_AEA(ri)** – ang. *eigenvalue n. 5 from augmented edge adjacency mat. weighted by resonance integral* **R5m+** – ang. *R maximal autocorrelation of lag 5 / weighted by mass* **SM03_EA(dm)** – ang. *spectral moment of order 3 from edge adjacency mat. weighted by dipole moment* **SM11_EA(dm)** – ang. *spectral moment of order 11 from edge adjacency mat. weighted by dipole moment*

W celu wyznaczenia modeli, seria związków **6a-x** została losowo podzielona na zbiór uczący, zawierający 18 związków, i zbiór testowy, złożony z 6 związków. W kolejnym etapie wykonano 100 różnych optymalizacji na zbiorze uczącym, z wykorzystaniem różnych wartości parametrów i typów funkcji jądrowych. Zestaw parametrów i funkcji skutkujący najniższym błędem średniokwadratowym, zaimportowano do programu STATISTICA w celu analizy regresji. W serii **6a-x** znaczące modele wyznaczone zostały względem linii HCT-116 oraz HeLa, z kolei model QSAR dla linii MCF-7 charakteryzował się niższą korelacją a tym samym słabszą mocą predykcji. Korelację pomiędzy wartościami eksperymentalnymi i przewidzianymi na podstawie modeli SVM przedstawiono na Rys. 14.



Rysunek 14. *Korelacja aktywności cytotoksycznej związków* ***6a-x*** *oznaczonej eksperymentalnie i przewidzianej na podstawie modeli SVM.*

Biologiczna aktywność związków zawierających szkielet 1,1-diokso-1,4,2-benzoditiazyny jest szeroko udokumentowana w literaturze naukowej. Wśród pochodnych bazujących na strukturze tego fragmentu wyróżnia się substancje diuretyczne[75,76,77,78], cholagogiczne[77, 79], radioochronne[78], przeciwarytmiczne[77,78,79], hipotensyjne[77-79] oraz przeciwnowotworowe[22,80,81,82]. Różnorodna aktywność biologiczna uzasadnia zatem wybór układu benzoditiazyny jako elementu bazowego w strukturze związków **8a-j**.



Zw.	X:Y:Z	R^1	R^2
8a	O:N:N	H	1*H*-indazol-5-ylo
8b	O:N:N	Cl	1*H*-indazol-5-ylo
8c	O:N:N	H	1*H*-indazol-6-ylo
8d	O:N:N	H	1*H*-indazol-7-ylo
8e	O:N:N	H	(indol-3-ylo)etylo

Zw.	X:Y:Z	R^1	R^2
8f	S:N:N	H	1*H*-indazol-5-ylo
8g	S:N:N	H	(indol-3-ylo)etylo
8h	N:N:O	H	1*H*-indazol-5-ylo
8i	N:N:O	H	(indol-3-ylo)etylo
8j	N:CH:S	H	(indol-3-ylo)etylo

Tabela 2. Obliczone modele QSAR wraz z wartościami deskryptorów molekularnych. RDF055p – radialna funkcja dystrybucji – 055 ważona przez polaryzowalność; Mor32m – 3D-MoRSE sygnał 32 ważony przez masę; Mor16e – 3D-MoRSE sygnał 156 ważony przez elektroujemność Sandersona; RDF145m – radialna funkcja dystrybucji – 145 ważona przez masę.

Zw.	MOLT-4				UO-31			
	IGP = 0,815(RDF055p) – 0,55(Mor32m) – 41,34 R = 0,967; R_{cv} = 0,927; s = 2,34; RMSECV = 0,859				IGP = 0,770(Mor16e) – 0,497(RDF145m) + 67,048 R = 0,943; R_{ec} = 0,861; s = 11,44; RMSECV = 1,371126			
	RDF055p	**Mor32m**	**IGP eksperymentalne**	**IGP przewidziane**	**Mor16e**	**RDF145m**	**IGP eksperymentalne**	**IGP przewidziane**
8a	5,903	-0,701	16,23	13,82	1,632	3,349	4,78	14,44
8b	6,251	-0,775	17,07	19,33	1,243	5,546	36,34	43,11
8c	4,882	-0,627	4,05	6,96	1,529	3,010	16,35	15,78
8d	5,670	-0,616	12,96	10,15	1,744	5,816	23,53	11,71
8e	6,278	-0,202	3,64	2,13	1,765	3,392	8,75	7,11
8f	6,038	-0,486	10,64	9,13	1,252	3,104	34,00	25,97
8g	8,458	-0,549	23,59	28,91	1,260	3,370	29,54	28,72
8h	5,958	-0,448	9,06	7,55	1,662	1,985	6,57	5,05
8i	5,521	-0,400	0,44	4,77	1,289	3,139	24,73	27,15
8j	7,891	-0,551	24,25	21,63	1,565	1,986	9,74	9,61

R – stała korelacji; R_{cv} – stała korelacji po walidacji krzyżowej LOO; s – standardowy błąd oszacowania; RMSCEV – pierwiastek błędu średniokwadratowego dla walidacji krzyżowej

Na podstawie uzyskanych wcześniej w naszym zespole wyników aktywności biologicznej w grupie 3-amino-6-chloro-1,1-diokso-1,4,2-benzoditiazyn **8a-j** ustalono, że cytotoksyczność tych związków zależy zarówno od rodzaju podstawnika w pozycji 3 jak i 7 szkieletu benzoditiazynowego. W celu dogłębnego zanalizowania zależności struktura-aktywność wyprowadzono równania QSAR dla dwóch linii komórkowych, białaczki MOLT-4 i raka nerki UO-31, dla których procent zahamowania wzrostu (IGP) mieścił się w zakresie 0% < IGP < 100% dla wszystkich związków **8a-j** (praca **P2**). W badaniach wykorzystano metodę regresji wielorakiej. W obu modelach zastosowano deskryptory z dwóch bloków (Tabela 2), wywodzące się z radialnej funkcji dystrybucji (ang. *RDF, Radial Distribution Function*) oraz reprezentujące strukturę trójwymiarową na podstawie dyfrakcji elektronowej (ang. *3D-MoRSE*). Równania wyznaczono za pomocą oprogramowania STATISTICA metodą regresji wielorakiej z algorytmem krokowym. Weryfikacji mocy predykcyjnej modeli dokonano z wykorzystaniem walidacji krzyżowej typu *Leave-one-out* (*LOO-CV*). Obliczone modele QSAR wykazują dobrą korelację wykorzystanych deskryptorów z aktywnością cytotoksyczną związków względem linii MOLT-4 i UO-31 i charakteryzują się znaczącą zdolnością predykcyjną (Tabela 2). Praktyczna interpretacja deskryptorów w wyznaczonych równaniach QSAR jest jednakże trudna, co sugeruje skomplikowaną naturę oddziaływań cząsteczek z receptorami w komórkach nowotworowych.

4.3.2.2.4. Stabilność metaboliczna

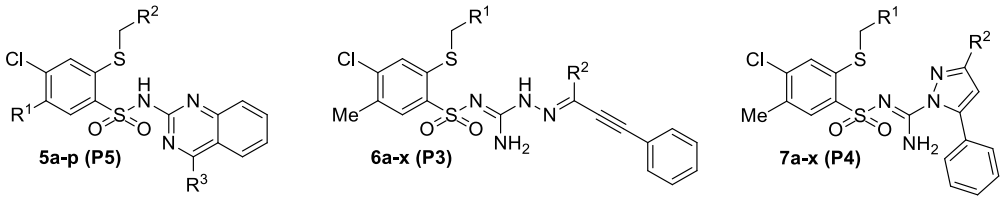
Stabilność metaboliczna odgrywa istotną rolę w biodostępności i właściwościach farmakokinetycznych potencjalnych środków leczniczych. Niska stabilność skutkuje szybszym wydalaniem substancji z organizmu, co w konsekwencji powoduje zmniejszenie jej biodostępności. Metody służące badaniu biotransformacji leków można zasadniczo podzielić na dwie kategorie:

- Metody klasyczne *in vivo* z wykorzystaniem modelu zwierzęcego
- Metody alternatywne *in silico* i *in vitro*, zgodne z zasadą 3R (ang. *replacement, reduction, refinement*) autorstwa Russela i Burcha[83].

Wysoki koszt testów *in vivo*, ich czasochłonność, a także obarczone dużym błędem odwzorowanie wyników uzyskanych na modelu zwierzęcym w późniejszych badaniach z udziałem ludzi sprawia, że coraz częściej proces biotransformacji związku przeprowadza się w eksperymentach *in vitro*, zwłaszcza na wczesnym etapie badań biologicznych substancji. Obecnie do eksperymentalnego oznaczenia stabilności metabolicznej potencjalnego leku

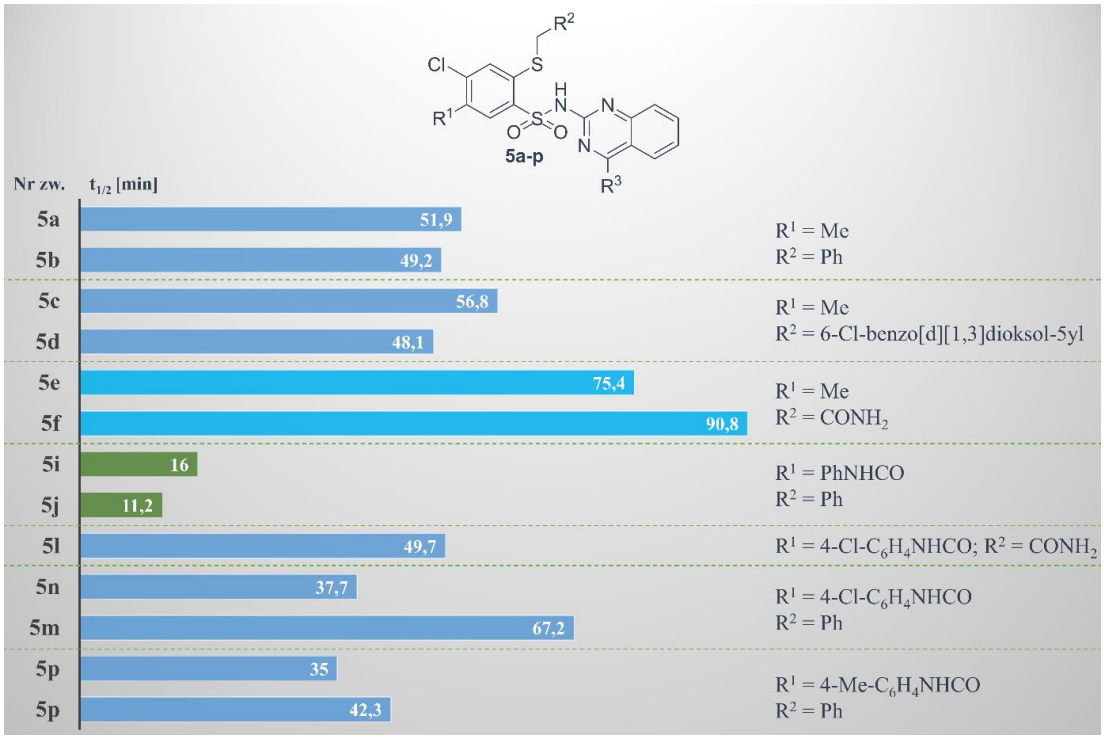
wykorzystywane są m.in. subkomórkowe frakcje wątrobowe, które stanowią jeden z najpowszechniej stosowanych modeli *in vitro*.

W ramach współpracy z zespołem naukowym prof. dr hab. Tomasza Bączka z Katedry i Zakładu Chemii Farmaceutycznej GUMed, związki serii **5a-p**, **6a-x** oraz **7a-x** skierowano do oceny stabilności metabolicznej.



Badania przeprowadzono z wykorzystaniem komercyjnie dostępnych ludzkich mikrosomów wątrobowych, zawierających enzymy metabolizujące ksenobiotyki tj. enzymy z rodziny cytochromu P-450 (CYP), monoksygenazy flawinowe (FMO) oraz glukuronylotransferazy (UGT), biorące udział w reakcjach I-fazy metabolizmu. Aktywność enzymów względem badanej substancji oznaczono w obecności NADPH, który jest kofaktorem odpowiednim dla CYP i FMO. W celu wykluczenia rozpadu substancji wynikającej z niestabilności chemicznej a nie z zachodzącej reakcji enzymatycznej, próbę kontrolną wykonano nie uwzględniając dodatku kofaktora. Stabilność metaboliczną związków określono przez wyznaczenie biologicznego czasu półtrwania ($t_{1/2}$) za pomocą analizy LC-MS.

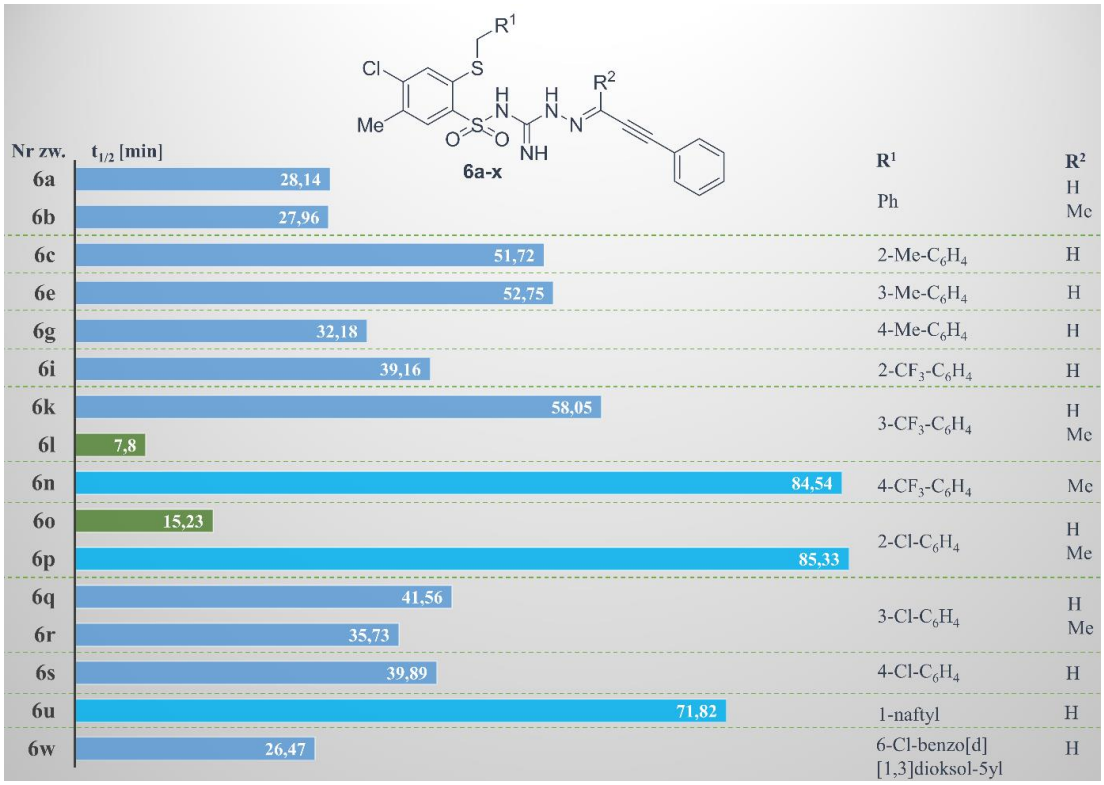
Seria pochodnych 2-alkilotio-*N*-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu **5a-p** charakteryzuje się zróżnicowanym czasem półtrwania, zależnym głównie od podstawników R^1 oraz R^2 (praca **P5**). W większości przypadków związki wykazywały bardzo dobrą stabilność metaboliczną z $t_{1/2} > 30$ min (Rys. 15). Najwyższą stabilność wykazały 2-karbamoilometylotio-4-chloro-5-metylo-*N*-(4-R^3-chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidy **5e** i **5f** zawierające I-rzędową grupę amidową jako podstawnik R^2 i charakteryzujące się odpowiednio $t_{1/2}$ = 75,4 min oraz 90,8 min. Taka wartość biologicznego czasu półtrwania związków **5e-f** jest związana głównie z odpornością ugrupowania amidowego na utlenianie zależne od enzymów CYP[84]. Z kolei II-rzędowa grupa amidowa, w wyniku enzymatycznej hydrolizy, ulega metabolizmowi łatwiej[84], co może tłumaczyć wyjątkowo niską stabilność obserwowaną w tej klasie związków dla pochodnych **5i-j**, zawierających w pozycji R^1 grupę fenylokarbamoilową ($t_{1/2}$ = 16,0 min i 11,2 min, odpowiednio). Należy jednak zauważyć, że wprowadzenie w pierścieniu benzenowym podstawnika R^1, atomu chloru bądź grupy metylowej, zwiększa w sposób istotny stabilność metaboliczną (wyniki uzyskane dla związków **5l-p**, $t_{1/2}$ w zakresie 35 – 67,2 min).



Rysunek 15. *Stabilność metaboliczna ($t_{1/2}$) wybranych 2-alkilotio-N-(chinazolin-2-ylo)-benzenosulfonamidów* ***5a-p*** *(na rysunku nie uwzględniono odchylenia standardowego).*

Dobrą stabilność metaboliczną wykazały także aktywne cytotoksycznie 2-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)-3-(fenyloprop-2-ynylidenoamino)guanidyny **6a-x**, jednakże uzyskane wyniki nie dostarczają jednoznacznej konkluzji odnośnie zależności struktura-stabilność (Rys. 16, praca **P3**). Zdecydowana większość związków charakteryzuje się biologicznym czasem półtrwania przekraczającym 30 minut, przy czym trzy **6n**, **6m** i **6p** wykazują znaczną odporność na reakcje biotransformacji I fazy ($t_{1/2}$ = 84,54 min, 85,33 min oraz 71,82 min, odpowiednio). Tylko dwa z badanych związków, **6l** i **6o**, uzyskały niską wartość $t_{1/2}$, równą odpowiednio 7,8 min i 15,23 min. Niższą odporność na reakcje biotransformacji wykazały związki **6a-b** oraz **6w**, które charakteryzowały się nieznacznie słabszą stabilnością w warunkach *in vitro* w porównaniu z pozostałymi pochodnymi. Wyznaczony biologiczny czas półtrwania tych guanidyn mieścił się w zakresie 26,47 – 28,14 min. Warto zauważyć, że wprowadzenie pojedynczych grup bądź atomów w pierścieniu benzenowym podstawnika R^1 istotnie podnosi stabilność związków. Podobne wyniki odnotowano także w serii **5a-p** dla pozycji 5 szkieletu benzenosulfonamidowego. Wprowadzenie atomu chloru bądź grupy metylowej w pierścieniu benzenowym podstawnika fenylokarbamoilowego znacznie zwiększało odporność na reakcje I fazy metabolizmu

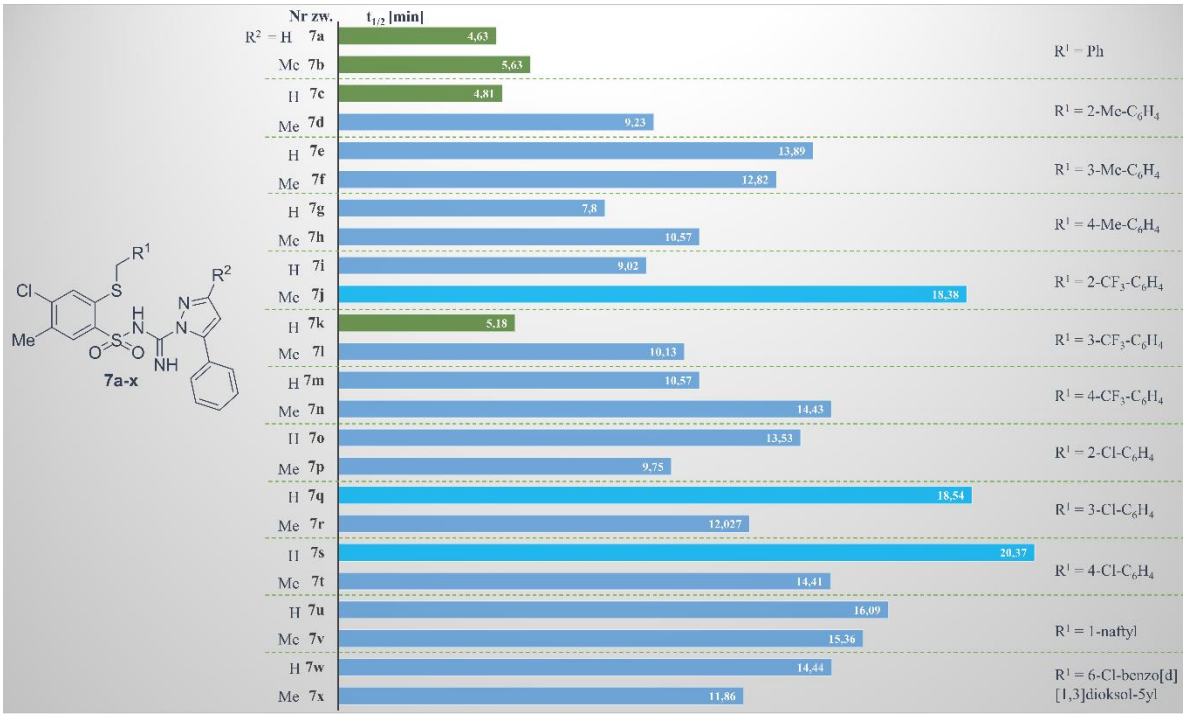
(Rys. 15, porównanie stabilności zw. **5i-j** R^1 = PhNHCO oraz **5l-p** R^1 = 4-Cl- lub 4-Me-C_6H_4NHCO). Analiza danych literaturowych wskazuje, że zjawisko to może być częściowo zależne od dezaktywacji pierścienia benzenu przez atom chloru bądź grupę trifluorometylową[84]. Z drugiej strony, jak widać na przykładzie nisko-stabilnych pochodnych **6l** i **6o**, parametr ten bez wątpienia nie jest decydujący i jego wpływ może być stosunkowo niewielki w badanej serii 2-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)-3-(fenyloprop-2-ynylidenoamino)guanidyn.



Rysunek 16. *Stabilność metaboliczna ($t_{1/2}$) wybranych 2-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)-3-(fenyloprop-2-ynylidenoamino)guanidyn* ***6a-x*** *(na rysunku nie uwzględniono odchylenia standardowego).*

Spośród badanych serii najniższa stabilność metaboliczna cechowała pochodne *N′*-(2-alkilotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo)-1-(5-fenylo-1*H*-pirazol-1-ylo)amidyny **7a-x** (Rys. 17, praca **P4**). Wartość okresu półtrwania w tej grupie związków mieściła się w zakresie 4,63─20,37 min. Zależność między strukturą a stabilnością amidyn **7a-x** modulowana jest przede wszystkim rodzajem podstawnika R^1. W przypadku związków modyfikowanych przez grupę fenylową (**7a-b**), metylofenylową (**7c-h**) czy też trifluorometylofenylową (**7i-n**) większą stabilność wykazują pochodne amidyny, w których podstawnikiem R^2 jest grupa metylową. Pozornie, wyjątkiem wydają się być związki **7e-f** (R^1 = 3-MeC_6H_4), jednakże uwzględniając

odchylenie standardowe związki te również wpisują się w powyższą zależność. Odwrotną zależność wykazują z kolei *N'*-benzenosulfonylo-1-pirazol-1-yloamidyny **7o-x**, zmodyfikowane przez wprowadzenie jako R^1 grup chlorofenylowej (**7o-t**), 1-naftylowej (**7u-v**) bądź 6-chlorobenzo[*d*][1,3]dioksolowej (**7w-x**), dla których stabilność metaboliczna maleje po podstawieniu grupą metylową w pozycji 3 pierścienia pirazolu (R^2).

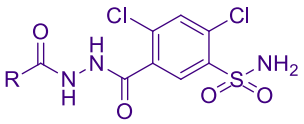


Rysunek 17. *Stabilność metaboliczna ($t_{1/2}$) wybranych N'-(2-alkilotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo)-1-(5-fenylo-1H-pirazol-1-ylo)amidyny* ***7a-x*** *(na rysunku nie uwzględniono odchylenia standardowego).*

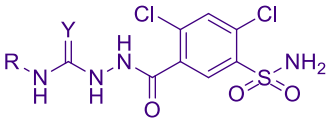
4.3 Podsumowanie

Przedstawiony cykl publikacji podsumowuje fragment mojej pracy naukowej w zespole naukowym kierowanym przez prof. dr hab. Jarosława Sławińskiego. W ramach niniejszego osiągnięcia naukowego opracowano metody syntezy i izolacji ponad stu nowych pochodnych, należących do ośmiu typów struktur zawierających fragment benzenosulfonamidowy. Wszystkie otrzymane związki zostały w pełni scharakteryzowane metodami spektroskopowymi, IR, ^{1}H i ^{13}C NMR, spektrometrią mas HRMS, analizą elementarną oraz, w uzasadnionych przypadkach, badaniami rentgenostrukturalnymi.

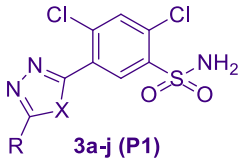
Benzenosulfonamidy serii 1-4 hamujace aktywność izoform hCA I, hCA II, hCA IX i hCA XII:



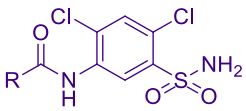
1a-d (P1)



2a-c (P1)



3a-j (P1)

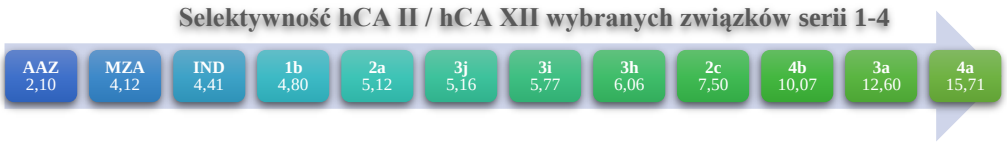


4a-i (P1)

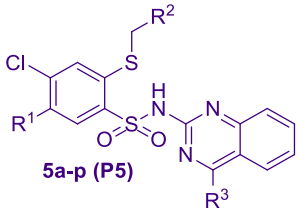
W serii pochodnych benzenosulfonamidowych **1a-d**, **2a-c**, **3a-j** oraz **4a-i**, zawierających w strukturze I-rzędową grupę sulfonamidową stwierdzono porównywalne bądź nieco słabsze hamowanie aktywności hCA I oraz hCA II w zestawieniu z klinicznie stosowanymi inhibitorami anhydrazy węglanowej. Znacznie bardziej interesująca okazała się aktywność inhibicyjna związków **1-4** względem związanych z procesem nowotworowym izoform transbłonowych IX i XII, która pozwoliła na sformułowanie następujących wniosków:

- Wartości K_I względem hCA IX większości testowanych związków były znacząco niższe od leków referencyjnych.

- Aktywność badanych benzenosulfonamidów **1-4** względem hCA XII była porównywalna z klinicznie stosowanymi lekami odniesienia, przy czym 2,4-dichloro-5-[2-(4-chlorobenzoilo)hydrazynokarbonylo]benzenosulfonamid **1c** (K_I = 2,7 nM) oraz 2,4-dichloro-5-(3-fenyloureido)benzenosulfonamid **4a** (K_I = 2,8 nM) uzyskały K_I niższe od najlepszych inhibitorów MZA i IND (K_I = 3,4 nM).
- Wśród wszystkich zbadanych benzenosulfonamidów typu **1-4** szereg z nich charakteryzuje istotna selektywność hamowania aktywności hCA IX i/lub hCA XII, wyższa od selektywności obserwowanej dla leków referencyjnych.
-



Aktywność cytotoksyczna 2-alkilotio-N-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidów serii 5:



5a-p (P5)

W serii pochodnych 2-alkilotio-*N*-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu **5a-p** stwierdzono umiarkowany efekt cytotoksyczny, przy czym najwyższą zdolność hamowania wzrostu komórek nowotworowych wykazały pochodne 2-benzylotio-4-chloro-5-(4-R-fenylokarbamoilo)-*N*-(4-fenylochinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidu **5j** (R = H), **5n** (R = Cl) i **5p** (R = Me). Wyniki badań wskazały wysoką wrażliwość linii komórkowej białaczki RPMI-8226 oraz niedrobnokomórkowego raka płuc A549/ATCC. Analiza wyników testów cytotoksyczności umożliwiła sformułowanie następujących zależności między strukturą a aktywnością związków serii **5**:

- Podstawnik aromatyczny w pozycji R^2 zwiększa aktywność cytotoksyczną, podczas gdy wprowadzenie grupy karbamoilowej jako R^2 prowadzi do zaniku tej aktywności.
- Ugrupowanie fenylowe w pozycji 4 pierścienia chinazoliny (R^3) zwiększa zdolność hamowania wzrostu komórek nowotworowych, przy czym efekt ten jest zazwyczaj silniejszy dla podstawników fenylokarbamoilowych w pozycji R^1.

Wykazano, że 2-alkilotio-*N*-(chinazolin-2-ylo)benzenosulfonamidy **5d**, **5j**, **5n** i **5p** wykazują średnio 1,5-krotnie słabsze działanie względem linii HaCaT w porównaniu z komórkami nowotworowymi HCT-116 oraz HeLa. Ponadto, wyznaczone za pomocą algorytmu pkCSM parametry ADMET pokazały, iż związki te wykazują niskie prawdopodobieństwo wystąpienia działań niepożądanych.

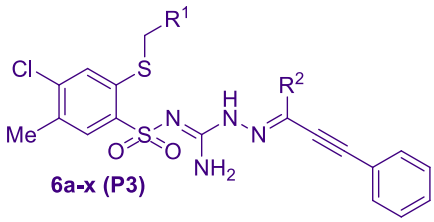
Biorąc pod uwagę aktywność biologiczną związków serii **5**, jak również ich parametry ADMET oraz stabilność metaboliczną *in vitro* ($t_{1/2}$ w zakresie 35 – 38 min), największy potencjał wykazały związki **5n** i **5p**, które mogą stanowić struktury wiodące w projektowaniu nowych *N*-chinazolinobenzenosulfonamidów.

*Modelowanie QSAR związków serii **5**:*

Badania QSAR związków serii **5** z wykorzystaniem wielowymiarowej techniki PLS i OPLS pozwoliły wyznaczyć istotny statystycznie model predykcyjny dla linii HeLa. Określone w modelu wartości VIP wskazały wysoką lipofilowość jako parametr o największym wpływie na aktywność biologiczną. Pozostałe deskryptory wpływające na efekt cytotoksyczny

to kolejno niska zawartość atomów azotu w związku, wysoka częstotliwość występowania wiązania C-S w odległości topologicznej 4, duża ilość pierścieni i mała ilość grup amidowych.

Aktywność cytotoksyczna 2-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)-3-(fenyloprop-2-ynylidenoamino)guanidyn serii 6:



6a-x (P3)

Znaczącą aktywność cytotoksyczną odnotowano w grupie pochodnych 2-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)-3-(fenyloprop-2-ynylidenoamino)guanidyny **6a-x**. Szczególnie wysokie hamowanie wzrostu stwierdzono względem komórek HCT-116 oraz HeLa.

Analiza wyników pozwoliła stwierdzić, że hamowanie wzrostu komórek nowotworowych w istotny sposób zależy od charakteru podstawnika R^2. Wprowadzenie atomu wodoru skutkuje wysoką cytotoksycznością związku, z kolei podstawienie grupą metylową prowadzi do zdecydowanie większej selektywności. Najwyższą aktywność cytotoksyczną względem komórek nowotworowych wykazały związki **6a** (R^1 = Ph, R^2 = H, $\bar{x}_{IC_{50}}$ = 12,3 μM), **6s** (R^1 = 4-ClC_6H_4, R^2 = H, $\bar{x}_{IC_{50}}$ = 10,7 μM), **6t** (R^1 = 4-ClC_6H_4, R^2 = Me, $\bar{x}_{IC_{50}}$ = 10,7 μM) i **6u** (R^1 = 1-naftyl, R^2 = H, $\bar{x}_{IC_{50}}$ = 13,3 μM).

W badaniach *in vitro* względem nienowotworowej linii komórkowej keratynocytów ludzkich HaCaT wykazano, że niektóre związki serii **6a-x** selektywnie hamują wzrost komórek nowotworowych:

- Najwyższa selektywność względem wszystkich linii komórkowych cechowała związki **6a** (R^1 = Ph, R^2 = H), **6g** (R^1 = 4-MeC_6H_4, R^2 = H) i **6l** (R^1 = 3-$CF_3C_6H_4$, R^2 = Me) – wskaźniki selektywności względem HeLa 29,00; 2,08; 5,83; względem HCT-116 18,12; 4,54; 7,50; względem MCF-7 6,04; 2,08; 5,25 odpowiednio dla **6a**, **6g** i **6l**.
- Ponadto, względem komórek HeLa także związki **6b** (R^1 = Ph, R^2 = Me), **6n** (R^1 = 4-$CF_3C_6H_4$, R^2 = Me), **6p** (R^1 = 2-ClC_6H_4, R^2 = Me) i **6r** (R^1 = 3-ClC_6H_4, R^2 = Me) wykazały aktywność znacząco wyższą w porównaniu z linią HaCaT (wskaźnik selektywności 6,33; 15,00; 13,60 i 7,38 odpowiednio dla **6b**, **6n**, **6p** i **6r**).

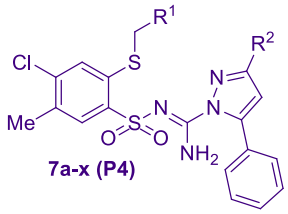
- Selektywną aktywność względem komórek HCT-116 zaobserwowano ponadto dla związków **6b** i **6h** (wskaźnik selektywności 3,80 i 20,77 odpowiednio dla **6b** i **6h**).

*Modelowanie QSAR związków serii **6**:*

W ilościowej analizie zależności struktura-aktywność (QSAR) serii **6a-x** zaimplementowano metodę maszyny wektorów nośnych SVM. Wykonane obliczenia pozwoliły uzyskać istotne statystycznie modele, o dobrej predykcji, dla linii HCT-116 i HeLa, przy czym praktyczna interpretacja wykorzystanych w nich deskryptorów jest trudna i uniemożliwia wyodrębnienie prostej konkluzji dotyczącej zależności SAR.

Biologiczny czas półtrwania ($t_{1/2}$) większości guanidyn serii **6** mieści się w zakresie optymalnym (26,47 – 58,05 min) z punktu widzenia potencjału terapeutycznego. Uwzględniając parametry obejmujące selektywną aktywność cytotoksyczną względem komórek nowotworowych i biologiczny czas półtrwania ($t_{1/2}$ = 28,14 min), wskazujący na dobrą biodostępność i jednocześnie niskie prawdopodobieństwo zbyt długiej eskpozycji organizmu na toksyczne działanie związku, 2-(2-benzylotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo)-3-(fenyloprop-2-ynylidenoamino)guanidyna **6a** może być rozpatrywana jako związek wiodący do dalszych badań.

Aktywność cytotoksyczna N′-(2-alkilotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo)-1-(5-fenylo-1H-pirazol-1-ylo)amidyn serii 7:



Wysoka aktywność cytotoksyczna cechuje także pochodne *N′*-(2-alkilotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo)-1-(5-fenylo-1*H*-pirazol-1-ylo)amidyny **7a-x**.

Najwyższą aktywność cytotoksyczną względem trzech testowanych linii komórkowych wykazały związki **7a** (R^1 = Ph, R^2 = H, $\bar{x}_{IC_{50}}$ = 12,3 μM) oraz **7b** (R^1 = Ph, R^2 = Me, $\bar{x}_{IC_{50}}$ = 6,7 μM). Szczególnie wysoką wrażliwość wykazały linie HCT-116 oraz HeLa. Wśród związków charakteryzujących się najwyższą aktywnością względem komórek HeLa i HCT-116 wymienić należy **7e** (R^1 = 3-MeC_6H_4, R^2 = H, IC_{50HeLa} = 8 μM, $IC_{50HCT\text{-}116}$ = 6,5 μM) oraz **7s-v** (R^1 = 4-Cl-C_6H_4 lub 1-naftyl, R^2 = H lub Me, IC_{50HeLa} = 3 μM, $IC_{50HCT\text{-}116}$ = 7 μM). Analiza wyników badań w teście MTT pozwoliła na sformułowanie następujących zależności struktura-aktywność:

- Podstawienie pierścienia benzenowego w pozycji R^1 (**7a-b**) skutkuje wysoką aktywnością cytotoksyczną bez względu na rodzaj podstawnika R^2.
- Wprowadzenie w pozycji R^1 grupy metylofenylowej (7**c-h**) zauważalnie zmniejsza aktywność związków zawierających podstawnik R^2 = Me.
- Podobne zależności obserwowane są w grupie związków zawierających R^1 = 2-$CF_3C_6H_4$ (**7i-j**), 3-$CF_3C_6H_4$ (**7k-l**) lub 2-ClC_6H_4 (**7o-p**), jednakże zależność ta nie występuje dla R^1 = 4-$CF_3C_6H_4$ (**7m-n**) oraz 3-ClC_6H_4 (**7q-r**) lub 4-ClC_6H_4 (**7s-t**).
- Związki zawierające R^2 = Me oraz w pozycji R^1 grupę metylofenylową bądź trifluorometylofenylową wykazują wysoką selektywność względem komórek HCT-116 (aktywność 2,2 – 8,6-krotnie wyższa w porównaniu z wartościami otrzymanymi dla HeLa i MCF-7).

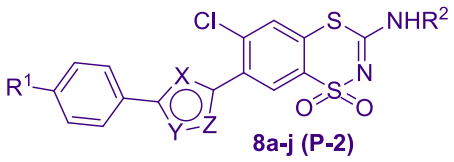
Niektóre związki **7a-x** charakteryzują się znacząco mniejszym wpływem na wzrost keratynocytów ludzkich HaCaT. Wysoką selektywność względem komórek HeLa zaobserwowano dla amidyn **7a** oraz **7r-v**. W odniesieniu do komórek HCT-116 selektywne hamowanie wzrostu odnotowano dla związków **7n** i **7w**.

Wpływ związków serii 7 na cykl komórkowy komórek HCT-116 oraz HeLa:

Badania biochemiczne z wykorzystaniem cytometrii przepływowej wykazały wpływ związku **7v** na cykl komórkowy komórek HeLa i HCT-116, skutkujący znaczącym wzrostem liczby komórek w fazie subG1. Takiego wpływu nie stwierdzono dla nieaktywnego analogu **7x**.

Rozpatrując aktywność biologiczną oraz stabilność metaboliczną serii **7a-x**, *N′*-(benzenosulfonylo)-1-(5-fenylo-1*H*-pirazol-1-ylo)amidyny **7s-v** oraz **7n** i **7w** mogą stanowić obiecujące struktury wiodące w badaniach ukierunkowanych na poszukiwanie związków aktywnych odpowiednio wobec raka szyjki macicy lub raka okrężnicy.

Badania QSAR 3-amino-6-chloro-1,1-diokso-1,4,2-benzoditiazyn serii 8:



W serii benzoditiazyn typu **8** wykazano wrażliwość komórek białaczki MOLT-4 oraz raka nerki UO-31 wobec wszystkich związków **8a-j**. Na tej podstawie wyprowadzono modele QSAR, określające ilościową zależność struktura-aktywność. Stwierdzono, że najwyższy wpływ na aktywność związku posiadają deskryptory wywodzące się z radialnej funkcji

dystrybucji (RDF) oraz reprezentujące strukturę trójwymiarową na podstawie dyfrakcji elektronowej (3DMoRSE). Wyznaczone równania są istotne statystycznie i posiadają wysoką zdolność predykcyjną wskazując na dobrą korelację deskryptorów z aktywnością biologiczną.

4.4 Piśmiennictwo

[1] World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, *World Cancer Report 2014*, http://publications.iarc.fr/Non-Series-Publications/World-Cancer-Reports/World-Cancer-Report-2014

[2] K. Fukuoka, J. Ususa, Y. Iwamoto, H. Fukumoto, T. Nakamura, T. Yoneda, N. Narita, N. Saijo, K. Nishio, *Invest. New Drugs* 2001, 19, 219−227.

[3] J.M. Kirkwood, R. Gonzales, D. Reintgen, P.R. Clingan, R.R. McWilliams, D.P. de Alwis, A. Zimmermann, M.P. Brown, R.L. Ilaria Jr, M.J. Millwarsd, *Cancer* 2011, 117, 4732−4739.

[4] Y. Funahashi, N.H. Sugi, T. Semba, Y. Yamamoto, S. Hamaoka, N. Tsukahar-Tamai, Y. Ozawa, A. Tsuruoka, K. Nara, K. Takahashi, T. Okabe, J. Kamata, T. Owa, N. Ueda, T. Haneda, M. Yonaga, K. Yoshimatsu, T. Wakabayashi, *Cancer Res.* 2002, 62, 6116−6123.

[5] S.D. Knight, N.D. Adams, J.L. Burgess, A.M. Chaudhari, M.G. Darcy, C.A. Donatelli, J.I. Luengo, K.A. Newlander, C.A. Parrish, L.H. Ridgers, M.A. Sarpong, S.J. Schmidt, G.S. Van Aller, J.D. Carson, M.A. Diamond, P.A. Elkins, C.M. Gardiner, E. Garver, S.A. Gilbert, R.R. Gontarek, J.R. Jackson, K.L. Kershner, L. Luo, K. Raha, C.S. Sherk, C.M. Sung, D. Sutton, P.J. Tummino, R.J. Wegrzyn, K.R. Auger, D. Dhanak, *ACS Med. Chem. Lett.* 2010, 1, 39−43.

[6] https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02215850

[7] W. Wang, L. Ao, E.R. Rayburn, H. Xu, X. Zhang, X. Zhang, S. Ashok Nag, X. Wu, M.H. Wang, H. Wang, E.G. Van Meir, R. Zhang, *PLOS ONE* 2012, 7, e44883.

[8] P. Foster, K. Yamaguchi, P.P. Hsu et al., *Mol. Cancer Ther.* 2015, 14, 931-940.

[9] A.M. Pick, K.K. Nystrom, *Clin. Ther.* 2012, 34, 511−520.

[10] D.T. Nguyen, S. Shayahi, *J. Adv. Pract. Oncol.* 2013, 4, 53−57.

[11] T. Medina, M.N. Amaria, A. Jimeno, *Drugs Today* 2013, 49, 377−385.

[12] H.Z. Lee, V.E. Kwitkowski, P.L. Del Valle, M.S. Ricci, H. Saber, B.A. Habtemariam, J. Bullock, E. Bloomquist, Y.L. Shen, X.H. Chen, J. Brown, N. Mehrotra, S. Dorff, R. Charlab, R.C. Kane, E. Kaminskas, R. Justice, A.T. Farrell, R. Pazdur, *Clin Cancer Res.* 2015, 21, 2666−2670.

[13] K. Brożewicz, J. Sławiński, *Monatsh. Chem.* 2012, 143, 975−984.

[14] J. Sławiński, K. Szafrański, A. Pogorzelska, B. Żołnowska, A. Kawiak, K. Macur, M. Belka, T. Bączek, *Eur. J. Med. Chem.* 2017, 132, 236−248.

[15] K. Brożewicz, J. Sławiński, *Eur. J. Med. Chem.* 2012, 55, 384−394.

[16] B. Żołnowska, J. Sławiński, A. Pogorzelska, J. Chojnacki, D. Vullo, C.T. Supuran, *Eur. J. Med. Chem.* 2014, 71, 135−147.

[17] J. Sławiński, K. Brożewicz, A. Fruziński, M.L. Główka, *Heterocycles* 2011, 83, 1093−1109.

[18] J. Sławiński, Z. Brzozowski, *Eur. J. Med. Chem.* 2006, 41, 1180−1189.

[19] J. Sławiński, B. Żołnowska, C. Orlewska, J. Chojnacki, *Monatsh. Chem.* 2012, 143, 1705−1718.

[20] B. Żołnowska, J. Sławiński, A. Pogorzelska, K. Szafrański, A. Kawiak, G. Stasiłojć, M. Belka, J. Zielińska, T. Bączek, Chem. Biol. Drug Des. 2017, 90, 380−396.

[21] B. Żołnowska, J. Sławiński, M. Belka, T. Bączek, A. Kawiak, J. Chojnacki, A. Pogorzelska, K. Szafrański, *Molecules* 2015, 20, 19101−19129.

[22] J. Sławiński, B. Żołnowska, Z. Brzozowski, A. Kawiak, M. Belka, T. Bączek, *Molecules* 2015, 20, 5754−5770.

[23] B.P. Mahon, M.A. Pinard, R. McKenna, *Molecules* 2015, 20, 2323−2348.

[24] J. Kopecka, I. Campia, A. Jacobs, A.P. Frei, D. Ghigo, B. Wollscheid, C. Riganti, *Oncotarget* 2015, 6, 6776−6793.

[25] A. Waheed, W.S. Sly, *Gene* 2017, 623, 33−40.

[26] S. Pastorekova, M. Zatovicova, J. Pastorek, *Curr. Pharm. Des.* 2008, 14, 685−698.

[27] M.Y. Mboge, B. P. Mahon, R. McKenna, S.C. Frost, *Metabolites* 2018, 8, art. 19.

[28] C.T. Supuran, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 2016*, 31, 345−360.

[29] Y. Lou, P.C. McDonald, A. Oloumi, S. Chia, C. Ostlund, A. Ahmadi, A. Kyle, U. auf dem Keller, S. Leung, D. Huntsman, B. Clarke, B.W. Sutherland, D. Waterhouse, M. Bally, C. Roskelley, C.M. Overall, A. Minchinton, F. Pacchiano, F. Carta, A. Scozzafava, N. Touisni, J.Y. Winum, C.T. Supuran, S. Dedhar, *Cancer Res.* 2011, 71, 3364–3376.

[30] A. Innocenti A, D. Vullo, A. Scozzafava, C.T. Supuran, *Bioorg. Med. Chem.* 2008, 16, 7424−7428.

[31] F. Carta, C. Temperini, A. Innocenti, A. Scozzafava, K. Kaila, C.T. Supuran, *J. Med. Chem.* 2010, 53, 5511−5522.
[32] M. Ferraroni, F. Carta, A. Scozzafava, C.T. Supuran,. *J. Med. Chem.* 2016, 59, 462−473.
[33] K. Tars, D. Vullo, A. Kazaks, J. Leitans, A. Lends, A. Grandane, R. Zalubovskis, A. Scozzafava, C.T. Supuran, *J. Med. Chem.* 2013, 56, 293−300.
[34] A. Maresca, C. Temperini, H. Vu, N.B. Pham, S.A. Poulsen, A. Scozzafava, R.J. Quinn, C.T. Supuran, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131, 3057−3062.
[35] N. Touisni, A. Maresca, P.C. McDonald, Y. Lou, A. Scozzafava, S. Dedhar, J.Y. Winum, C.T. Supuran, *J. Med. Chem.* 2011, 54, 8271−8277.
[36] F. Carta, A. Maresca, A. Scozzafava, C.T. Supuran, Bioorg. *Med. Chem. Lett.* 2012, 22, 267−270.
[37] K. D'Ambrosio, S. Carradori, S.M. Monti, M. Buonanno, D. Secci, D. Vullo, C.T. Supuran, G. De Simone, C*hem. Commun.* 2015, 51, 302−305.
[38] G. Compain, A. Martin-Mingot, A. Maresca, S. Thibaudeau, C.T. Supuran, *Bioorg. Med. Chem.* 2013, 21, 1555−1563.
[39] B. Métayer, A. Mingot, D. Vullo, C.T. Supuran, S. Thibaudeau, *Chem. Commun.* 2013, 49, 6015−6017.
[40] M. D'Ascenzio, S. Carradori, C. De Monte, D. Secci, M. Ceruso, C.T. Supuran, *Bioorg. Med. Chem.* 2014, 22, 1821−1831.
[41] S. Parkkila, A. Innocenti, H. Kallio, M. Hilvo, A. Scozzafava, C.T. Supuran, B*ioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 19, 4102−4106.
[42] A. Innocenti, S. Durdagi, N. Doostdar, T.A. Strom, A.R. Barron, C.T. Supuran, *Bioorg. Med. Chem.* 2010, 28, 2822−2828.
[43] V. Coviello, B. Marchi, S. Sartini, L. Quattrini, A.M. Marini, F. Simorini, S. Taliani, S. Salerno, P. Orlandi, A. Fioravanti, T. Di Desidero‡, D. Vullo, F. Da Settimo, C.T. Supuran, G. Bocci, C. La Motta, *J. Med. Chem.* 2016, 59, 6547−6552.
[44] H.I. Gul, C. Yamali, H. Sakagami, A. Angeli, J. Leitans, A. Kazaks, K. Tars, D. Ozmen Ozgun, C.T. Supuran, *Bioorg. Chem.* 2018, 77, 411−419.
[45] J. Sławiński, Z. Brzozowski, B. Żołnowska, K. Szafrański, A. Pogorzelska, D. Vullo, C.T. Supuran *Eur. J. Med. Chem.* 2014, 84, 59−67.
[46] B. Żołnowska, J. Sławiński, K. Szafrański, A. Angeli, C.T. Supuran, A. Kawiak, M. Wieczór, J. Zielińska, T. Bączek, S. Bartoszewska, *Eur J. Med. Chem.* 2018, 143, 1931−1941.
[47] Z. Brzozowski, J. Sławiński, M. Gdaniec, A. Innocenti, C.T. Supuran, *Eur. J. Med. Chem.* 2011, 46, 4403−4410.
[48] G. Verma, A. Marella, M. Shaquiquzzaman, M. Akhtar, M.R. Ali, M.M. Alam, *J. Pharm. Bioapllied Sci.* 2014, 6, 69−80.
[49] J. Hofmann, J. Easmon, G. Puerstinger, G. Heinisch, M. Jenny, A.A. Shtil, M. Hermann, D.F. Condorelli, S. Sciré, G. Musumarra, *Invest. New Drugs* 2009, 27, 189−202.
[50] Q.P. Peterson, D.C. Hsu, D.R. Goode, C.J. Novotny, R.K. Totten, P.J. Hergenrother, *J. Med. Chem.* 2009, 52, 5721−5731.
[51] F. Wang, Y. Liu, L. Wang, J. Yang, Y. Zhao, N. Wang, Q. Cao, P. Gong, C. Wu, *J. Cell. Mol. Med.* 2015, 19, 1916−1928.
[52] P. Dandawate, E. Khan, S. Padhye, H. Gaba, S. Sinha, J. Deshpande, K.V. Swamy, M.Khetmalas, A. Ahmad, F.H.Sarkar, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012, 22, 3104−3108.
[53] V.F.S. Pape, D. Türk, P. Szabó, M.Wiese, E.A. Enyedy, G. Szakács, *J. Inorg. Biochem.* 2015, 144, 18−30.
[54] F. Li, L. Long, J. Xiao, W. Chen, L. Wei, L. Song, Z. Changqi, W.L. Less, *Anticancer drugs* 2017, 28, 1131−1140.
[55] A. Siddiq, V. Dembitsky, *Anticancer Agents Med. Chem.* 2008, 8, 132−170.
[56] E. Barile, S.K. De, C.B. Carlson, V. Chen, C. Knutzen, M. Riel-Mehan, L. Yang, R. Dahl, G. Chiang, M. Pellecchia, *J. Med. Chem.* 2010, 53, 8368−8375.
[57] A.M. Lord, M.F. Mahon, M.D. Lloyd, M.D. Threadgill, *J. Med. Chem.* 2009, 52, 868−877.
[58] A. Kamal, F. Sultana, M.J. Ramaiah, Y. V. V. Srikanth, A. Viswanath, E.V. Bharathi, R. Nayak, S. N. C. V. L. Pushpavalli, C. Srinivas, M. Pal-Bhadra, *Med. Chem. Comm.* 2013, 4, 575−581.
[59] J. Wan, Y. Xia, Y. Liu, M. Wang, P. Rocchi, J. Yao, F. Qu, J. Neyts, J.L. Iovanna, L. Peng, *J. Med. Chem.* 2009, 52, 1144–1155.
[60] E. Vitaku, D.T. Smith, J.T. Njardarson, *J. Med. Chem.* 2014, 57, 10257−10274.
[61] P. Martins, J. Jesus, S. Santos, L.R. Raposo, C. Roma-Rodrigues, P.V. Baptista, A.R. Fernandes, *Molecules* 2015, 20, 16852−16891.
[62] A. Gomtsyan, *Chem. Heterocycl. Compd.* 2012, 48, 7−10.
[63] S. Ravez, O. Castillo-Aguilera, P. Depreux, L. Goossens, *Expert Opin. Ther. Pat.* 2015, 25, 789−804.
[64] Y. Wang, G. Schmid-Bindert, C. Zhou, *Ther. Adv. Med. Oncol.* 2011, 4, 19−29.
[65] G.M. Keating, *Drugs* 2014, 74, 207−221.

[66] J.A. Ledermann, A.C. Embleton, F. Raja, T.J. Perren, G.C. Jayson, G.J.S. Rustin, S.B. Kaye, H. Hirte, E. Eisenhauer, M. Vaughan, M. Friedlander, A. González-Martín, D. Stark, E. Clark, L. Farrelly, A.M. Swart, A. Cook, R.S. Kaplan, M.K.B Parmar, ICON6 collaborators, *Lancet* 2016, 387, 1066−1074.
[67] B.A. Helfrich, J. Kim, D. Gao, D.C. Chan, Z. Zhang, A.C. Tan, P.A. Bunn Jr, *Mol. Cancer Ther.* 2016, 15, 2314−2322.
[68] M. Zora, A. Kivrak, *Eur. J. Med. Chem.* 2011, 76, 9379−9390.
[69] D.E.V. Pires, T.L. Blundell, D.B. Ascher, *J. Med. Chem.* 2015, 58, 4066−4072.
[70] L. Amin, *Drug Target Insights* 2013, 7,27−34.
[71] C. Wandel, R.B. Kim, F.P. Guengerich, A.J. Wood, *Drug Metab. Dispos.* 2000, 28, 895−898.
[72] Z. Wu, D. Li, J. Meng, Introduction to SIMCA-P and its application w Handbook of partial least squares. Springer handbooks of computational statistics. Sringer, Berln 2010.
[73] V. Vapnik, The Nature of Statistical Learning Theory, Springer, 2000.
[74] D. Basak, S. Pal, D.C. Patranbis, *Neural Inf. Process. Rev.* 2007, 11, 203─224.
[75] Z. Brzozowski, J. Sławiński, S. Angielski, M. Szczepańska-Konkiel, *Acta Pol. Pharm.* 1985, 42, 313−318.
[76] Z. Brzozowski, J. Sławiński, F. Gajewski, S. Angielski, A. Hoppe, *Acta Pol.Pharm.* 1985, 42, 413−420.
[77] Z. Brzozowski, J. Sławiński, F. Gajewski, E. Pomarnacka, W. Janiec, T. Piekarska, PL Patent 141834, 1988.
[78] Z. Brzozowski, J. Sławiński, PL Patent 134567, 1986.
[79] Z. Brzozowski, J. Sławiński, W. Janiec, U. Cegieła, L. Sliwiński, I. Sedlak, *Acta Pol. Pharm. Drug Res.* 1992, 49, 75−79.
[80] Z. Brzozowski, F. Sączewski, *J. Med. Chem*. 2002, 45, 430−437.
[81] Z. Brzozowski, F. Sączewski, J. Sławiński, P.J Bednarski, R. Grünert, M. Gdaniec, *Bioorg. Med. Chem.* 2007, 15, 2560−2572.
[82] E. Pomarnacka, A. Kornicka, A. Kuchnio, M. Heinrichs, R. Grünert, M. Gdaniec, P.J. Bednarski, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 2011, 344, 431−441.
[83] W.M.S Russell, R.L. Burch, The principle of humane experimental technique. Universities Federation for Animal Welfare, 1959. Potters Bar, England.
[84] A.E.F. Nassa, A.M. Kamel, C. Clarimont, *Drug Discov. Today* 2004, 9, 1020─1028.

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Pracę naukową rozpoczęłam na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Franciszka Kasprzykowskiego (ówczesnego prof. UG) zajmując się syntezą analogów Cystapep 1 – peptydomimetyku antybakteryjnego o sekwencji opartej strukturalnie na *N*-terminalnym fragmencie wiążącym ludzkiej cystatyny C. W ramach mojego doktoratu uzyskałam 28 nowych pochodnych Cystapep 1, co wpłynęło znacząco na poszerzenie wiedzy w zakresie zależności struktura-aktywność przeciwbakteryjna peptydomimetyku. Wśród zsyntetyzowanych analogów pięć wykazywało aktywność wyższą względem *S. aureus* w porównaniu ze związkiem wiodącym, wskazując, że niewielki wzrost swobody konformacyjnej peptydomimetyku oraz zwiększenie charakteru zasadowego reszty 2 i hydrofobowości w obrębie reszt 3-5 wpływa korzystnie na aktywność antybakteryjną.

W ramach pracy doktorskiej podjęłam także próbę ustalenia potencjalnego mechanizmu działania Cystapep 1. Wiele z peptydomimetyków antybakteryjnych powoduje uszkodzenie błony komórkowej bakterii. W celu sprawdzenia czy aktywność Cystapep 1 związana jest właśnie z dezintegracją błony komórkowej, przeprowadziłam badania technikami kalorymetrycznymi ITC (izotermalna kalorymetria titracyjna) i DSC (różnicowa kalorymetria skaningowa). Model błony biologicznej stanowiły przygotowane przeze mnie liposomy, których skład lipidowy naśladował błony eukariotyczne i prokariotyczne. Przeprowadzone badania wskazywały, iż uszkodzenie błony bakterii prawdopodobnie nie jest jedynym mechanizmem działania analogów Cystapep 1, jednakże nabyte doświadczenie w posługiwaniu się modelami błon i interpretacji wyników analizy ITC wykorzystałam we współpracy nawiązanej z dr Emilią Sikorską co w późniejszym czasie zaowocowało publikacją **A5**.

W trakcie realizacji pracy doktorskiej pozyskałam finansowanie w ramach grantów MNiSW na badawcze projekty promotorskie oraz byłam laureatką stypendium ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w programie „Stypendia dla doktorantów szansą na rozwój gospodarki". Rezultaty mojej pracy doktorskiej prezentowałam na sześciu konferencjach międzynarodowych i trzech polskich. Ponadto, prowadzone przeze mnie badania doceniono w konkursie „Cudze chwalicie swego nie znacie – promocja osiągnięć nauki polskiej" (praca **C1**).

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

W 2011 roku podjęłam pracę w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Wówczas dołączyłam do zespołu naukowego kierowanego przez

prof. dr hab. Jarosława Sławińskiego i rozpoczęłam działalność naukową związaną z syntezą i badaniem właściwości biologicznych związków zawierających ugrupowanie benzenosulfonamidowe. Zmiana tematyki badawczej pozwoliła mi na zdecydowanie szersze spojrzenie na problematykę syntezy organicznej i w znaczącym stopniu przyczyniła się do rozwinięcia mojego warsztatu badawczego. Działalność naukową realizuję przede wszystkim poprzez uczestnictwo w badaniach statutowych Katedry i Zakładu Chemii Organicznej, byłam również kierownikiem dwóch projektów w ramach finansowania badań GUMed dla młodych naukowców (prace **A1-A4**). Ponadto w latach 2013-2018 byłam wykonawcą grantu OPUS 2013/09/B/NZ7/00048 kierowanego przez prof. dr hab. Jarosława Sławińskiego (prace **A6-A-9**).

Moje zainteresowania naukowe skupiają się głównie w obrębie projektowania struktur oraz metod syntezy oryginalnych pochodnych zawierających w strukturze fragment arylosulfonamidowy. W początkowych etapach pracy naukowej dotyczącej tej tematyki uczestniczyłam w badaniach nad przebiegiem reakcji 3-R-2-(4-tiokso-1,4-dihydropirydyn-3-ylosulfonylo)guanidyny z 1,2-diaryloetano-1,2-dionami (R = H lub NH_2). W wyniku przeprowadzonych eksperymentów, ustalono, że 2-(4-tiokso-1,4-dihydropirydyn-3-ylosulfonylo)guanidyna (R = H) nie reaguje ze związkami 1,2-dikarbonylowymi, w odróżnieniu od jej pochodnej 3-amino-2-(4-tiokso-1,4-dihydropirydyn-3-ylosulfonylo)guanidyny. Co więcej, analizy otrzymanych produktów wskazywały na odmienny od zakładanego przebieg reakcji, skutkujący wytworzeniem nowego trójpierścieniowego układu 2,3-diarylo-9,9-diokso-1*H*-9-tia-1,4,4a,7,10-pentaazafenatren-2-olu. Strukturę produktu ustalono na podstawie badań z wykorzystaniem dwuwymiarowych technik NMR COSY, NOESY, ROESY, HSQC i HMBC we współpracy z dr hab. Pawłem Sowińskim i dr Tomaszem Laskowskim z Wydziału Chemii Politechniki Gdańskiej a wyniki przedstawiono w pracy **A1**.

Kontynuując badania nad reakcjami *N*-amino-*N'*-benzenosulfonyloguanidyn z pochodnymi karbonylowymi uczestniczyłam w projektach, których rezultatem były pochodne benzenosulfonamidu zmodyfikowane na sulfonamidowym atomie azotu przez wprowadzenie pierścienia 1-okso-(1*H*)-ftalazyny, 5-arylo-1,2,4-triazyny oraz 5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-triazyny (prace **A2**, **A7** oraz **A9**).

Pochodne 2-alkiltio-4-chloro-5-metylo-*N*-[imino-(1-okso-(1*H*)-ftalazyn-2-ylo)metylo]benzenosulfonamidu uzyskano jako rezultat reakcji odpowiednich *N*-amino-*N'*-(2-alkilotio-4-chloro-5-metylobenzenosulfonylo)guanidyn z kwasem 2-formylobenzoesowym lub acetofenonem (praca **A2**). Uzyskane związki były badane we

współpracy z prof. dr hab. Anną Kędzią z Zakładu Mikrobiologii Jamy Ustnej GUMed pod kątem aktywności hamującej wzrost izolatów klinicznych szczepów grzybów z rodzaju *Candida*, *Geotrichum*, *Rhodotorula* i *Saccharomyces*. Najwyższą wrażliwość wykazały szczepy gatunku *Candida albicans*, wobec których aktywność testowanych pochodnych okazała się być wyższa bądź porównywalna z flukonazolem zastosowanym jako lek referencyjny. Wśród związków o najsilniejszym efekcie hamującym wzrost *C. albicans* wyróżniono trzy pochodne zróżnicowane podstawnikami w pozycji 2 fragmentu benzenosulfonamidowego przez ugrupowania 6-chloropiperonylotio i atom wodoru bądź ugrupowanie metylowe w pozycji 4 pierścienia ftalazyny, oraz ugrupowanie 3-trifluorometylobenzylotio w pozycji 2 fragmentu benzenosulfonamidowego i atom wodoru w układzie ftalazyny. Wysoką aktywność wykazano także dla siedmiu pochodnych wobec *C. tropicalis*, dwóch związków względem *C. guilliermondii* i *C. parapsilosis* oraz sześciu względem *R. mucilaginosa*.

Jednym z głównych nurtów badań wpisujących się w obszar moich zainteresowań naukowych są związki o potencjalnej aktywności cytotoksycznej, zawierające w strukturze szkielet benzenosulfonamidu. W ramach grantu OPUS zatytułowanego „Nowe poliazotowe pochodne 2-merkaptobenzenosulfonamidu o właściwościach przeciwnowotworowych – synteza, ocena aktywności oraz projektowanie wspomagane technikami chemometrycznymi i metodami QSAR", kierowanego przez prof. dr hab. Jarosława Sławińskiego, uczestniczyłam m.in. w badaniach poświęconych reakcjom 1-amino-2-(2-alkilotiobenzenosulfonylo)guanidyn z kwasami 2-oksokarboksylowymi oraz pochodnymi 2,2-dihydroksy-1-fenyloetanonu, które prowadziły odpowiednio do *N*-(5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-triazyn-3-ylo)benzenosulfonamidów oraz *N*-(5-arylo-1,2,4-triazyn-3-ylo)benzenosulfonamidów. Mój udział polegał na syntezie wybranych substratów niezbędnych do uzyskania pochodnych zmodyfikowanych przez fragment 5-arylo-1,2,4-triazynowy. Ponadto współtworzyłam manuskrypt w obszarze dotyczącym interpretacji badań chemicznych w serii benzenosulfonamidów zawierających pierścień 5-okso-4,5-dihydro-1,2,4-triazyny (prace **A7** oraz **A9**).

Jako współwykonawca grantu OPUS brałam również udział w badaniach dotyczących cytotoksycznych właściwości *N*-acylobenzenosulfonamidów. Moim zadaniem była synteza wybranych związków (praca **A6**). Wymiernym efektem badań przeprowadzonych w tej serii pochodnych było wyselekcjonowanie *N*-[4-chloro-5-metylo-2-(naft-1-ylo)fenylosulfonylo]acetamidu jako związku charakteryzującego się wysoką selektywnością względem linii HeLa (IC_{50} = 6 μM).

W ramach badań zespołu Katedry i Zakładu Chemii Organicznej biorę także czynny udział w przygotowywaniu tekstu manuskryptów. W pracy **A-8** dotyczącej pochodnych 2-benzylotio-5-(1,3,4-oksadiazol-2-ylo)benzenosulfonamidów opracowałam przegląd literaturowy uzasadniający istotność podjętego tematu. Ponadto, współtworzyłam dyskusję wyników rozpatrującą aktywność cytotoksyczną finalnych związków.

Obszar mojej działalności naukowej obejmuje również aktywność pochodnych benzenosulfonamidowych jako inhibitorów ludzkiej anhydrazy węglanowej. W ramach badań prowadzonych pod kierunkiem prof. dr hab. Jarosława Sławińskiego mój dorobek naukowy poszerzył się o dwie publikacje dotyczące nowych *N*-podstawionych pochodnych *N′*-(benzenosulfonylo)guanidyny (praca **A4**) oraz *N*-4-podstawionych 4-(2-aminoetylo)benzenesulfonamidów (praca **A3**). Obie serie związków charakteryzują się znaczącą aktywnością i selektywnością wobec uwikłanych w procesy nowotworowe izoform hCA IX oraz hCA XII. Co więcej, *N*-podstawione pochodne *N′*-(benzenosulfonylo)guanidyny wykazały wysokie hamowanie wzrostu komórek nowotworowych należących do szerokiego panelu linii komórkowych nowotworów ludzkich w badaniach NCI.

Poza tematyką związaną z syntezą sulfonamidów o aktywności biologicznej moje zainteresowania obejmują zagadnienia dotyczące nowych celów molekularnych w terapii przeciwnowotworowej, ze szczególnym uwzględnieniem modulowania aktywności enzymów. Na obecnym etapie niniejsza problematyka stała się przedmiotem pracy przeglądowej napisanej we współpracy z dr Beatą Żołnowską i dr hab. Rafałem Bartoszewskim, prof. GUMed, rozpatrującej katepsyny cysteinowe jako cel dla nowych leków przeciwnowotworowych (praca **B1**).

5.1 Wykaz pozostałych publikacji

Prace oryginalne:

A1. J. Sławiński, **A. Pogorzelska**, B. Żołnowska, T. Laskowski, P. Sowiński; „Synthesis and structure determination of 2,3-diaryl-9,9-dioxo-1*H*-9-thia-1,4,4a,7,10-pentaazaphenanthrene-2-ols.” Tetrahedron (2013) 69: 8675-8679 (IF = 2,817, MNiSW = 30).

A2. J. Sławiński, **A. Pogorzelska**, B. Żołnowska, A. Kędzia, M. Ziółkowska-Klinkosz, E. Kwapisz; „Synthesis and anti-yeast evaluation of novel 2-alkylthio-4-chloro-5-methyl-*N*-[imino-(1-oxo-(1*H*)-phthalazin-2-yl)methyl]benzenesulfonamide derivatives.” Molecules (2014) 19: 13704-13723 (IF = 2,416, MNiSW = 30).

A3. J. Sławiński, Z. Brzozowski, B. Żołnowska, K. Szafrański, **A. Pogorzelska**, D. Vullo, C.T. Supuran; „Synthesis of a new series of *N*4-substituted

4-(2-aminoethyl)benzenesulfonamides and their inhibitory effect on human carbonic anhydrase cytosolic isozymes I and II and transmembrane tumor-associated isozymes IX and XII." Eur. J. Med. Chem. (2014) 84: 59-67 (IF = 3,447, MNiSW = 40).

A4. B. Żołnowska, J. Sławiński, **A. Pogorzelska**, J. Chojnacki, D. Vullo, C.T. Supuran; „Carbonic anhydrase inhibitors: synthesis, and molecular structure of novel series *N*-substituted *N'*-(2-arylmethylthio-4-chloro-5-methylbenzenesulfonyl)guanidines and their inhibition of human cytosolic isozymes I and II and the transmembrane tumor-associated isozymes IX and XII." Eur. J. Med. Chem. (2014) 71: 135-147 (IF = 3,447, MNiSW = 40).

A5. E. Sikorska, M. Dawgul, K. Greber, E. Iłowska, **A. Pogorzelska**, W. Kamysz; 2014; „Self-assembly and interactions of short antimicrobial cationic lipopeptides with membrane lipids: ITC, FTIR and molecular dynamics studies." BBA-Biomembranes 1838, s. 2625-2634. Mój wkład w powstanie niniejszej pracy polegał na wytworzeniu liposomów i konsultacji merytorycznej przy opracowywaniu wyników ITC (IF = 3,836, MNiSW = 35).

A6. B. Żołnowska, J. Sławiński, M. Belka, T. Bączek, A. Kawiak, J. Chojnacki, **A. Pogorzelska**, K. Szafrański; „Synthesis, molecular structure, metabolic stability and QSAR studies of a novel series of anticancer *N*-acylbenzenesulfonamides." Molecules (2015) 20: 19101-19129 (IF = 2,465, MNiSW = 30).

A7. B. Żołnowska, J. Sławiński, **A. Pogorzelska**, K. Szafrański, A. Kawiak, G. Stasiłojć, M. Belka, Sz. Ulenberg, T. Bączek, J. Chojnacki; 2016; „Novel 5-substituted 2-(arylmethylthio)-4-chloro-*N*-(5-aryl-1,2,4-triazin-3-yl)benzenesulfonamides: synthesis, molecular structure, anticancer activity, apoptosis-inducing activity and metabolic stability." Molecules (2016) 21: art. 808 s. 1-27 (IF = 2,861, MNiSW = 30).

A8. J. Sławiński, K. Szafrański, **A. Pogorzelska**, B. Żołnowska, A. Kawiak, K. Macur, M. Belka, T. Bączek; „Novel 2-benzylthio-5-(1,3,4-oxadiazol-2-yl)benzenesulfonamides with anticancer activity." Eur. J. Med. Chem. (2017) 132: 236-248 (IF = 4,816, MNiSW = 40).

A9. B. Żołnowska, J. Sławiński, **A. Pogorzelska**, K. Szafrański, A. Kawiak, G. Stasiłojć, M. Belka, J. Zielińska, T. Bączek; „Synthesis, QSAR studies, and metabolic stability of novel 2-alkylthio-4-chloro-*N*-(5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-triazyn-3-yl)benzenesulfonamide derivatives as potential anticancer and apoptosis-inducing agents." Chem. Biol. Drug Des. (2017) 90: 380-396 (IF = 2,328, MNiSW = 25).

Prace przeglądowe:

B1. **A. Pogorzelska***, B. Żołnowska, R. Bartoszewski; 2018; „Cysteine cathepsins as a prospective target for anticancer therapies: current progress and prospects." Biochimie (2018) 151: 85-106 (IF = 3,188, MNiSW = 25).

Monografie, publikacje naukowe w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie Journal Citation Reports:

C1. F. Kasprzykowski, R. Kasprzykowska, S. Rodziewicz-Motowidło, E. Sikorska, A. Leśniewska, **A. Pogorzelska**, M. Smużyńska, R. Rostankowski; Cystapep 1 - nowy antybiotyk w Cudze chwalicie swego nie znacie: promocja osiągnięć nauki polskiej, Lublin: Innovatio Press Wydawnictwo Naukowe Wyższej Szkoły Ekonomii i Innowacji, ISBN: 978-83-62074-07-5, 2010, s. 115-118.

C2. B. Żołnowska, **A. Pogorzelska**, J. Sławiński, Analiza spektroskopowa [W:] Analiza jakościowa związków organicznych z elementami spektroskopii i chromatografii cieczowej : dla studentów Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej / pod red. Jarosława Sławińskiego. Gdańsk : Gdański Uniwersytet Medyczny, 2015, s. 89-137.

C3. B. Żołnowska, **A. Pogorzelska**, Chromatografia [W:] Analiza jakościowa związków organicznych z elementami spektroskopii i chromatografii cieczowej : dla studentów Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej / pod red. Jarosława Sławińskiego. Gdańsk : Gdański Uniwersytet Medyczny, 2015, s. 138-150.

C4. A. Pogorzelska, Informacje wstępne [W:] Analiza jakościowa związków organicznych z elementami spektroskopii i chromatografii cieczowej : dla studentów Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej / pod red. Jarosława Sławińskiego. Gdańsk : Gdański Uniwersytet Medyczny, 2015, s. 8-11.

C5. B. Żołnowska, **A. Pogorzelska**, Reakcje charakterystyczne [W:] Analiza jakościowa związków organicznych z elementami spektroskopii i chromatografii cieczowej : dla studentów Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej / pod red. Jarosława Sławińskiego. Gdańsk : Gdański Uniwersytet Medyczny, 2015, s. 28-75.

C6. A. Pogorzelska, Rozpuszczalność [W:] Analiza jakościowa związków organicznych z elementami spektroskopii i chromatografii cieczowej : dla studentów Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej / pod red. Jarosława Sławińskiego. Gdańsk : Gdański Uniwersytet Medyczny, 2015, s. 20-27.

C7. B. Żołnowska, **A. Pogorzelska**, J. Sławiński, Kompendium z chemii organicznej : dla studentów Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej / pod red. Jarosława Sławińskiego. Gdańsk : Gdański Uniwersytet Medyczny, 2017.

5.2 Liczbowe zestawienie dorobku

Publikacje z bazy JCR: **15 artykułów** (14 prac oryginalnych, 1 praca przeglądowa)

Sumaryczny ***Impact Factor*** wszystkich prac: **48,450**

Suma punktów **MNiSW** wszystkich prac: **495**

Sumaryczny *Impact Factor* prac stanowiących podstawę habilitacji: **16,829**
Suma punktów MNiSW prac stanowiących podstawę habilitacji: **170**

Sumaryczny *Impact Factor* prac z pierwszym autorstwem: **16,570**
Suma punktów MNiSW prac z pierwszym autorstwem: **155**

Całkowita liczba cytowań (wg bazy ISI Web of Science): **125** (21.12.2018)
Całkowita liczba cytowań (wg bazy Scopus): **146** (21.12.2018)

Indeks Hirscha (wg bazy ISI Web of Science): **6** (23.11.2018)
Indeks Hirscha (wg bazy Scopus): **7** (23.11.2018)

5.3 Nagrody i wyróżnienia

1. Nagroda Gdańskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Chemicznego za najlepszą pracę magisterską, 2005.
2. Zespołowa Naukowa Nagroda I stopnia J. M. Rektora GUMed za badania w dziedzinie syntezy, struktury i aktywności przeciwnowotworowej nowych arylo/heteroarylosulfonamidów, 2014.
3. Zespołowa Naukowa Nagroda I stopnia J. M. Rektora GUMed za badania w dziedzinie syntezy 2-podstawionych benzenosulfonamidów selektywnych inhibitorów izoform transbłonowych anhydrazy węglanowej, 2015.
4. Zespołowa Naukowa Nagroda I stopnia J. M. Rektora GUMed za badania nad właściwościami biologicznymi i fizykochemicznymi lipopeptydów przeciwdrobnoustrojowych, 2015.
5. Zespołowa Naukowa Nagroda I stopnia J. M. Rektora GUMed za badania nad syntezą i właściwościami przeciwnowotworowymi nowych pochodnych arylo/heteroarylosulfonamidu, 2017.
6. Zespołowa Naukowa Nagroda II stopnia J. M. Rektora GUMed za badania nad syntezą i właściwościami przeciwnowotworowymi nowych pochodnych 2-merkaptobenzenosulfonamidu, 2018.
7. Zespołowa Nagroda Dydaktyczna II-stopnia J. M. Rektora GUMed za opracowanie skryptu z zakresu analizy jakościowej związków organicznych, 2016.
8. Zespołowa Nagroda Dydaktyczna II-stopnia J. M. Rektora GUMed za opracowanie skryptu Kompendium z chemii organicznej, 2018.

9. Nagroda za najlepszą prezentację ustną wygłoszoną na XXIV Konferencji Naukowej Wydziału Farmaceutycznego z OML Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Gdańsk 2016.

5.4 Komunikaty zjazdowe

- *Łącznie* – 45 komunikatów prezentowanych na konferencjach i sympozjach naukowych krajowych i międzynarodowych w tym 5 prezentacji ustnych.
- *Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora* – 10 komunikatów prezentowanych na konferencjach i sympozjach naukowych krajowych i międzynarodowych w tym 3 prezentacje ustne.
- *Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora* – 35 komunikaty prezentowane na konferencjach i sympozjach naukowych krajowych i międzynarodowych w tym 3 prezentacje ustne.

5.5 Udział w projektach naukowych

W latach 2008-2018 uczestniczyłam łącznie w 8 projektach badawczych:

- Badanie zależności między strukturą a aktywnością związków o potencjalnym działaniu przeciwdrobnoustrojowym o sekwencji zaprojektowanej w oparciu o *N*-terminalny fragment wiążący ludzkiej cystatyny C, 2008, projekt badawczy promotorski nr N204 023535, **wykonawca**.
- Synteza i struktura nowych arylosulfonamidów o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej i/lub przeciwbakteryjnej, 2012-2014, badania statutowe, **wykonawca**.
- Nowe poliazotowe pochodne 2-merkaptobenzenosulfonamidu o właściwościach przeciwnowotworowych - synteza, ocena aktywności oraz projektowanie wspomagane technikami chemometrycznymi i metodami QSAR, 2013-2018, Narodowe Centrum Nauki grant OPUS 2013/09/B/NZ7/00048, **wykonawca**.
- Synteza pochodnych 2-alkilotiobenzenosulfonamidu zawierających ugrupowanie azolowe i ich potencjalna aktywność biologiczna, 2013-2014, badania MN 01-0074/08, **kierownik**.
- Synteza nowych pochodnych benzenosulfonamidu zmodyfikowanych przez wprowadzenie pierścienia tiazolidynonu, 2015, finansowanie KNOW GUMed w ramach obszaru „Wsparcie działalności naukowej w zakresie realizacji nowych projektów badawczych”, **kierownik**.

- Synteza nowych benzenosulfonyloamidyn - związków o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej, 2015-2017, badania MN 01-0214/08/509, **kierownik**.
- Synteza i struktura nowych arylo/heteroarylosulfonamidów o spodziewanej aktywności cytotoksycznej, inhibitorów anhydrazy węglanowej i/lub związków przeciwdrobnoustrojowych, 2015-2017, badania statutowe, **wykonawca**.
- Nowe arylosulfonamidy – synteza i ocena aktywności przeciwnowotworowej i przeciwdrobnoustrojowej w warunkach *in vitro*, 2018, badania statutowe, **wykonawca**.

Ponadto aplikowałam o finansowanie w ramach czterech konkursów SONATA (SONATA 9, 11, 12 i 13) finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki.

5.6 Działalność związana z pracą naukowo-dydaktyczną oraz organizatorską

W latach 2005-2010, w trakcie studiów doktoranckich, prowadziłam zajęcia laboratoryjne z Preparatyki organicznej dla studentów kierunków Chemia oraz Biologia Uniwersytetu Gdańskiego. W ramach przedmiotu Preparatyka i analiza związków naturalnych prowadziłam ćwiczenia laboratoryjne dla studentów kierunku Chemia z analizy zawartości kofeiny z ekstraktach herbacianych z wykorzystaniem techniki RP-HPLC.

W 2011 roku zostałam zatrudniona w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego na etacie naukowo-dydaktycznym i wraz z rozpoczęciem roku akademickiego 2011/2012 prowadzę szereg zróżnicowanych zajęć dla studentów kierunków wykładanych na Wydziale Farmaceutycznym z OML GUMed. W ramach przedmiotu Chemia organiczna prowadzę ćwiczenia laboratoryjne dla studentów II roku kierunków Analityka Medyczna (semestr zimowy) oraz Farmacja (semestr letni). Ponadto prowadzę zajęcia seminaryjne, w zakresie których opracowałam szereg materiałów – pomocy dydaktycznych dla studentów kierunku Farmacja, obejmujących zadania i zagadnienia teoretyczne z chemii organicznej. Od roku akademickiego 2017/2018 prowadzę wykłady oraz zajęcia laboratoryjne dla studentów studiów II stopnia kierunku Przemysł Farmaceutyczny i Kosmetyczny z zakresu analizy jakościowej związków organicznych (zajęcia w bloku chemicznym). Ponadto, w trakcie mojego zatrudnienia w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej sprawowałam opiekę naukową nad przygotowaniem siedmiu prac magisterskich.

Mój dorobek dydaktyczny obejmuje współautorstwo dwóch skryptów akademickich przeznaczonych dla studentów Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej (poz. **C2-C7** pkt. 5.1). Pierwszy (poz. **C2-C6** pkt. 5.1), zatytułowany „Analiza jakościowa związków organicznych z elementami spektroskopii i chromatografii cieczowej”,

porusza zagadnienia dotyczące identyfikacji składu pierwiastkowego oraz grup funkcyjnych z wykorzystaniem klasycznych reakcji jakościowych. Wynik wszystkich opisanych reakcji zilustrowano za pomocą przygotowanych przez autorów fotografii umieszczonych w odpowiednich fragmentach podręcznika. W ramach niniejszego skryptu zawarto także zwięzłe i przystępne opracowanie tematyki odnoszącej się do spektroskopii IR i ^{1}H NMR, spektrometrii mas oraz chromatografii cienkowarstwowej (TLC) i wysokosprawnej chromatografii cieczowej z odwróconym układem faz (RP-HPLC). Drugi z podręczników (poz. **C7** pkt. 5.1), „Kompendium z chemii organicznej", stanowi usystematyzowane podsumowanie zagadnień z chemii organicznej wymaganych w ramach studiów na kierunkach Farmacja oraz Analityka Medyczna.

Od 2016 roku jestem przedstawicielem nauczycieli akademickich nieposiadających stopnia doktora habilitowanego w Radzie Wydziału Farmaceutycznego z OML GUMed. W 2018 roku byłam członkiem komisji konkursowej oceniającej prezentacje posterowe uczestników XXV Naukowej Konferencji Wydziału Farmaceutycznego GUMed (7-8 grudnia 2018, Gdańsk).

W ramach działań popularyzujących naukę biorę corocznie czynny udział w prezentacji profilu badawczego i dydaktycznego Katedry i Zakładu Chemii Organicznej odbywającej się w ramach Dni Otwartych Wydziału Farmaceutycznego. W 2016 roku byłam współorganizatorem warsztatów chemicznych dla dzieci ze Szkoły podstawowej nr 8 w Gdańsku, mających na celu propagowanie działalności naukowej Katedry i Zakładu Chemii Organicznej oraz szerzenie zainteresowania naukami ścisłymi w środowisku uczniów gdańskich szkół podstawowych.

5.7 Recenzje prac naukowych

W latach 2015-2018 wykonałam łącznie 17 recenzji prac naukowych przesłanych do ośmiu redakcji czasopism z listy JCR (sumaryczny IF = 43,842):

- Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters – 3 recenzje (2015-2017; IF = 2,442)
- Molecules – 6 recenzji (2017-2018; IF = 3,098)
- Medicinal Chemistry – 1 recenzja (2016; IF = 2,631)
- Chemistry and Biodiversity – 3 recenzje (2016, 2018; IF = 1,617)
- Letters in Drug Design and Discovery – 1 recenzja (2017; IF = 0,924)
- ChemistrySelect – 1 recenzja (2016; IF = 1,505)

- New Journal of Chemistry – 1 recenzja (2018; IF = 3,201)
- European Journal of Medicinal Chemistry – 1 recenzja (2018; IF = 4,816).

5.8 Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych

Członek Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego.

Członek Polskiego Towarzystwa Chemii Medycznej.

5.9 Współpraca naukowa z krajowymi i zagranicznymi ośrodkami naukowymi

- Współpraca w zakresie oceny cytotoksyczności związków na panelu 60 linii komórkowych nowotworów ludzkich, National Cancer Institute (NCI) Bethesda MD, USA, Dr. Joel Morris.
- Współpraca w zakresie oceny potencjału inhibicyjnego względem różnych izoform anhydrazy węglanowej, The NEUROFARBA Department, Section of Pharmaceutical and Nutriceutical Sciences, The University of Florence, Italy, prof. Claudiu Supuran.
- Współpraca w zakresie oceny cytotoksyczności związków względem linii komórkowych HCT-116, HeLa i MCF-7, Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed, dr Anna Kawiak.
- Współpraca w zakresie określenia wpływu związków na cykl komórkowy i indukcję apoptozy, Zakład Biologii Komórki, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed, dr Grzegorz Stasiłojć.
- Współpraca w zakresie badań QSAR i określenia stabilności metabolicznej związków, Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, prof. dr hab. Tomasz Bączek, dr Mariusz Belka, dr Szymon Ulenberg.
- Współpraca w zakresie badań krystalograficznych Katedra Chemii Nieorganicznej, Politechnika Gdańska, prof. dr hab. Jarosław Chojnacki.
- Współpraca w zakresie badań aktywności przeciwgrzybicznej, Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej, Gdański Uniwersytet Medyczny.
- Współpraca z Międzyuczelnianym Laboratorium NMR, Politechnika Gdańska.
- Współpraca z Laboratorium Spektrometrii Mas, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed.

Aneta Pogorzelska