



UNIwersytet Medyczny
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU



Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej
Katedra i Zakład Chemii Leków

dr n. farm. Piotr Świątek

**Synteza i właściwości biologiczne nowych pochodnych
izotiazolopirydyny i dimetylopirydyny**

Załącznik nr 2

Autoreferat w języku polskim

Wrocław 2019

SPIS TREŚCI

1. Imię i nazwisko.....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.....	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.)	5
A) Tytuł osiągnięcia naukowego.....	5
B) Wykaz publikacji naukowych stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego.....	5
C) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.....	7
D) Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych, dydaktycznych oraz organizacyjnych.....	22
5. Piśmiennictwo.....	33

1. Imię i nazwisko

PIOTR ŚWIĄTEK

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

A) **Dyplom i tytuł zawodowy magistra farmacji**, Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, nr 3379/F, Wrocław 16.06.2000 r.

B) **Uzyskanie prawa wykonywania zawodu farmaceuty** XVII/02/1057/1758/02 (nowy nr PWZF 17020220), Dolnośląska Izba Aptekarska, Wrocław, 2002 r.

C) **Dyplom i stopień doktora nauk farmaceutycznych** uzyskany na podstawie rozprawy: „Synteza i właściwości farmakologiczne nowych pochodnych izotiazolo[5,4-*b*]pirydyny i fenotiazyny”. Promotor pracy prof. dr hab. Wiesław Malinka, Katedra i Zakład Chemii Leków Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu, 2007 r.

D) **Dyplom i tytuł menedżera projektu badawczo-rozwojowego**; Studia podyplomowe na kierunku: „Menedżer projektu badawczo-rozwojowego” zrealizowane w Wyższej Szkole Bankowej we Wrocławiu, 2013 r.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

3.1. Przebieg pracy zawodowej:

01.10.2000 – 30.09.2007 - **Asystent** w Katedrze i Zakładzie Chemii Leków Wydziału Farmaceutycznego z OAM Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

01.10.2007 – obecnie - **Adiunkt** w Katedrze i Zakładzie Chemii Leków Wydziału Farmaceutycznego z OAM Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

od 01.09.2016 – **pełniący obowiązki Kierownika** Katedry i Zakładu Chemii Leków Wydziału Farmaceutycznego z OAM Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

2013 - 2014 – wykładowca w Państwowej Wyższej Szkole Zawodowej w Wałbrzychu

2000 r. – obecnie, farmaceuta w aptece

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.)

A) Tytuł osiągnięcia naukowego

Synteza i właściwości biologiczne nowych pochodnych izotiazolopirydyny i dimetylopirydyny

B) Wykaz publikacji naukowych stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego

Podstawę osiągnięcia naukowego stanowi monotematyczny cykl 5 publikacji oraz 1 udzielony patent. Wszystkie pozycje z cyklu zostały opublikowane w latach 2011-2019. Odnośniki do prac z cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe oznaczone zostały przedrostkiem **H**. Dla wszystkich cytowanych prac, których jestem współautorem, podano wartości współczynnika wpływu *Impact factor* (IF) czasopism, w których się ukazały (według Journal Citation Reports), zgodnie z rokiem opublikowania oraz punkty MNiSW/KBN. Opis indywidualnego wkładu habilitanta w powstanie każdej z wieloautorskich publikacji znajduje się w Załączniku nr 4. Oświadczenia współautorów prac określające indywidualny wkład każdego z nich w jej powstanie znajdują się w Załączniku nr 6.

H1. Wiesław Malinka, **Piotr Świątek**, Andrzej Gamian: Patent numer **PL 211 841 B1** udzielony przez Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej na wynalazek pt.: Nowa pochodna izotiazolopirydyny. Warszawa **2011**

H2. Wiesław Malinka, **Piotr Świątek***, Małgorzata Śliwińska, Bogumiła Szponar, Andrzej Gamian, Zbigniew Karczmarzyk, Andrzej Fruziński.: Synthesis of novel isothiazolopyridines and their *in vitro* evaluation against *Mycobacterium* and *Propionibacterium acnes*. *Bioorg.Med.Chem.* **2013** Vol.21 no.17; s.5282-5291

IF: 2.951, Pkt. MNiSW/KBN: 30.000

H3. Piotr Świątek*, Małgorzata Strzelecka, Rafał Urniaż, Katarzyna Gębczak, Tomasz Gębarowski, Kazimierz Gąsiorowski, Wiesław Malinka.: Synthesis, COX-1/2 inhibition activities and molecular docking study of isothiazolopyridine derivatives. *Bioorg.Med.Chem.* **2017** Vol.25 no.1; s.316-326

IF: 2.881, Pkt. MNiSW/KBN: 25.000

H4. Piotr Świątek*, Małgorzata Strzelecka: Isothiazolopyridine Mannich bases and their antibacterial effect. [published online as ahead of print on November 18, 2018]. *Adv Clin Exp Med.* **2019**; 28(7). doi: 10.17219/acem/99310

IF: 1.262, Pkt. MNiSW/KBN: 15

H5. Piotr Świątek*, Jolanta Saczko, Nina Rembiałkowska, Julita Kulbacka: Synthesis of new hydrazone derivatives and evaluation of their efficacy as proliferation inhibitors in human cancer cells. *Med.Chem.* **2019** Jan 27. [Epub ahead of print];

doi: 10.2174/1573406415666190128100524

IF: 2.631 Pkt. MNiSW/KBN: 20.000

H6. Piotr Świątek*, Katarzyna Gębczak, Tomasz Gębarowski, Rafał Urniaż: Biological evaluation and molecular docking studies of dimethylpyridine derivatives. *Molecules* **2019** Vol.24 no.6; art.1093 [13 s.]

IF: 3.098 Pkt. MNiSW/KBN: 30.000

Sumaryczny współczynnik wpływu (IF) przedstawionych opracowań wynosi: 12.823

Pkt. MNiSW/KBN: 120

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

Cel prowadzonych badań

Zamieszczone poniżej opracowanie zawiera zwięzłe omówienie uzyskanych wyników z podkreśleniem ich istotności. Wszystkie szczegółowe informacje takie jak przepisy preparatywne, dokumentacja spektralna, tabele z wynikami, metodyka badań oraz opisy testów farmakologicznych są zamieszczone w wyżej wymienionych publikacjach i ich suplementach.

Przedstawione badania zostały podjęte w celu otrzymania nowych pochodnych izotiazolopirydyny i dimetylopirydyny o potencjalnej aktywności biologicznej i obejmowały:

1. Syntezę nowych pochodnych izotiazolopirydyny (**H1-H4**),
2. Syntezę nowych pochodnych dimetylopirydyny (**H5**),
3. Potwierdzenie struktur oraz czystości otrzymanych związków poprzez analizę danych spektroskopowych (magnetyczny rezonans jądrowy - ^1H NMR i ^{13}C NMR, spektroskopia w podczerwieni - FTIR, analiza elementarna) (**H1-H5**),
4. Określenie aktywności biologicznej nowych związków w oparciu o wykonane testy *in vitro* (**H1-H6**),
5. Wytypowanie najaktywniejszych pochodnych w celu wykonania dodatkowych badań biologicznych *in vivo* oraz *in vitro* oraz wyjaśnienia ich mechanizmu działania (**H1-H6**),
6. Scharakteryzowanie prawdopodobnego sposobu wiązania pochodnych izotiazolopirydyny i dimetylopirydyny z cyclooksigenazami (COX-1 i COX-2) za pomocą techniki dokowania molekularnego (**H3, H6**),
7. Przeprowadzenie studium literaturowego poświęconego usystematyzowaniu aktualnej wiedzy na temat badań nad poszukiwaniami nowych związków o wysokiej aktywności przeciwdrobnoustrojowej, chemoprewencyjnej i przeciwnowotworowej (**H1-H6**).

Uzyskane wyniki

Dane Światowej Organizacji Zdrowia WHO wskazują, że w 2016 roku na całym świecie doszło do 56,9 mln zgonów. Ponad połowa (54%) wynikała z 10 najważniejszych przyczyn. Wśród nich wysokie miejsce zajęły choroby zakaźne. W czołówce tego niechlubnego rankingu znalazły się infekcje dolnych dróg oddechowych, które w porównaniu do statystyk z 2000 roku, pozostały najbardziej śmiertelną chorobą zakaźną, powodując 3,0 mln zgonów na całym świecie. Z powodu chorób biegunkowych, u podłoża których leżały przede wszystkim zakażenia drobnoustrojami, zmarło 1,4 mln ludzi, głównie w krajach trzeciego świata. Ze wszystkich chorób zakaźnych najwięcej zgonów odnotowano z powodu gruźlicy. W 2017 roku 10 milionów ludzi zachorowało na gruźlicę (w tym ok. 1 miliona dzieci), a 1,6 miliona zmarło na tę chorobę (w tym 230 000 dzieci). Bardzo ważnym problemem jest gruźlica wielolekooporna (MDR-TB). WHO szacuje, że w 2017 r. było 558 000 nowych przypadków z opornością na ryfampicynę - najskuteczniejszy lek pierwszego rzutu, z czego - 82% miało MDR-TB [1]. Problem terapii zakażeń lekoopornych nie dotyczy tylko gruźlicy i krajów o niskich dochodach ludności. W raporcie przygotowanym w 2009 roku przez Europejską Agencję Leków (EMA) oraz Europejskie Centrum Prewencji Kontroli Zakażeń (ECDC) znaleźć można dane, że szczepy wielolekooporne powodują rocznie około 25000 zgonów na terenie Unii Europejskiej [2]. Według szacunków Centrum ds. Kontroli i Zapobiegania Chorób (CDC- ang. Center for Disease Control and Prevention) w USA co roku ponad dwa miliony osób ulega zakażeniu patogenem antybiotykoopornym, z czego przynajmniej 23 tysiące osób umiera. CDC w 2015 r. opublikowało listę największych zagrożeń zdrowotnych, na której znalazło się 18 lekoopornych patogenów. Trzy z nich skategoryzowano jako pilne. Były to *Clostridium difficile*, powodujący 15 000 zgonów rocznie w USA, odporne na karbapenemy bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* (CRE- ang. Carbapenem- resistance *Enterobacteriaceae*), które wywołują zakażenia kończące się śmiercią w 50% przypadków oraz *Neisseria gonorrhoeae*. Przedmiotem badań prowadzonych przez Globalization and Health były modele oporności kilku najpopularniejszych bakterii w trzech geograficznie, kulturowo i ekonomicznie oddzielonych krajach: Chinach, Kuwejcie i Stanach Zjednoczonych. Wykazały one, że Chiny mają najwyższy poziom oporności na antybiotyki, za nimi jest Kuwejt i dalej Stany Zjednoczone [3].

W obliczu tych zagrożeń oczekuje się od świata nauki, że w swoich zintensyfikowanych pracach zabezpieczy światową populację nowymi substancjami przeciwbakteryjnymi. Niestety

obserwowany jest spadek tempa wprowadzania nowych leków antybakteryjnych. W latach 1983-87 FDA zatwierdziła 16 antybiotyków, a w latach 2008-12 tylko dwa [4]. Porównanie to pokazuje jak wielka jest potrzeba badań nad nowymi substancjami o działaniu przeciwbakteryjnym.

Równie poważne problemy notujemy z leczeniem nowotworów, z powodu których według danych WHO z 2015 roku zmarło 8,8 miliona ludzi na całym świecie. Tylko rak płuc (wraz z rakiem tchawicy i rakiem oskrzeli) spowodował 1,7 mln zgonów. W 2018 r. najczęstszą przyczyną śmierci z powodu nowotworów u mężczyzn były rak płuc, wątroby, żołądka, jelita grubego i prostaty, u kobiet natomiast rak piersi, płuc, jelita grubego, szyjki macicy i żołądka. Roczny koszt leczenia nowotworów na całym świecie w 2010 roku wyniósł ok. 1.16 tryliona dolarów. Szacuje się, że 30-50% przypadków raka można było zapobiec. W 2012 r. Około 15% wszystkich nowotworów można było przypisać czynnikom zakaźnym, takim jak *Helicobacter pylori*, wirus brodawczaka ludzkiego (HPV), wirusowe zapalenie wątroby typu B i C oraz wirus Epsteina-Barra [1].

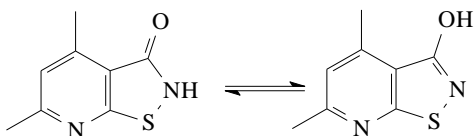
W leczeniu nowotworów, poza metodami chirurgicznymi, najczęściej wykorzystuje się leki cytostatyczne. Efekty uboczne działania cytostatyków stanowią istotny problem w terapii. Skutki toksycznego działania cytostatyków obserwowane są w układzie krwionośnym, mieszkach włosowych, przewodzie pokarmowym i wszędzie tam, gdzie występują komórki szybko dzielące się. Stąd też u osób stosujących te leki występują m.in. leukopenia, obniżenie odporności, wrzody żołądka, łysienie oraz niepłodność. Jednym z ważniejszych problemów w terapii pacjentów onkologicznych jest oporność komórek na stosowane leki. Korzystne jest więc stosowanie chemioterapii mieszanej, w której łączy się leki o różnym mechanizmie działania, ponieważ komórki odporne na jeden lek, mogą być wrażliwe na inny. Dzięki temu każdy z zastosowanych leków działa niezależnie od siebie, zmniejszając ryzyko wystąpienia oporności i zwiększając skuteczność terapii [5]. Na całym świecie trwają badania mające na celu znalezienie nowych leków chemoprewencyjnych i przeciwnowotworowych. Wiąże się to nie tylko ze wspomnianą wcześniej opornością na leki i wzrostem zachorowań, ale także poszukiwaniem nowych związków, które we wczesnym etapie odwrócą proces nowotworzenia, będą zarazem skuteczniejsze i mniej toksyczne dla organizmu niż obecnie stosowane terapeutyki.

Badania nad nowymi, syntetycznymi lekami przeciwdrobnoustrojowymi i przeciwnowotworowymi koncentrują się przede wszystkim na pochodnych różnego rodzaju

związków heterocyklicznych. Poszukiwania nowych, biologicznie aktywnych a zarazem nietoksycznych pochodnych izotiazolopirydyny i dimetylopirydyny wpisują się w ten nurt.

Poszukiwania aktywnych struktur w grupie pochodnych izotiazolopirydyny i dimetylopirydyny rozpocząłem od syntezy nowych związków (**H1-H5**). Próby optymalizacji metod syntezy i wydajności poszczególnych reakcji nie zostały opisane w przedstawionych pracach (opublikowane zostały metody zoptymalizowane). Strukturę nowo otrzymanych pochodnych potwierdziłem za pomocą metod spektralnych NMR oraz FTIR, wynikami analizy elementarnej a dla wybranych struktur wykonano analizę rentgenostrukturalną. Kolejnym etapem prac było określenie aktywności mikrobiologicznej (**H1, H2, H4**), anty-COX-1/COX-2 (**H3, H6**) oraz cytotoksyczności otrzymanych pochodnych wobec komórek linii nowotworowych oraz komórek linii prawidłowych (**H5, H6**). Ważnym celem moich badań była również próba wyjaśnienia sposobu wiązania się niektórych związków z centrami aktywnymi cyklooksygenaz z zastosowaniem techniki dokowania molekularnego (**H3, H6**). Tego typu metody komputerowe stwarzają szansę na zaprojektowanie nowych, jeszcze bardziej aktywnych związków w przyszłości.

W ramach prac nad poszukiwaniem związków o aktywności przeciwbakteryjnej (**H1, H2, H4**) skupiłem się na syntezie pochodnych 4,6-dimetyloizotiazolo[5,4-*b*]pirydyn-3(2*H*)-onu różnie podstawionych w położeniu 2 lub 3 macierzystego układu.

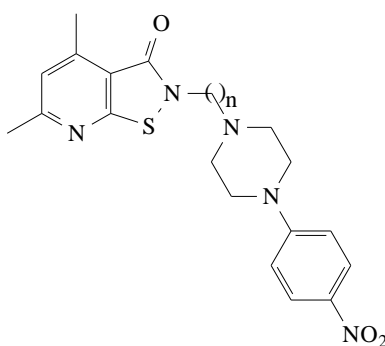


Rys. 1 Struktura wyjściowej izotiazolopirydyny

Właściwości przeciwdrobnoustrojowe izotiazolopirydyn oraz ich 7-dezazaanalogów – benzisotiazoli [6-8] znane są od lat. Pochodne 3-oksoizotiazolo[5,4-*b*]pirydyny, zawierające w pozycji 2 podstawniki: benzyłowy, aryłowy, alkilowy, cykloalkilowy bądź karbamoiloalkilowy wykazywały silny efekt hamujący wzrost bakterii wywołujących trądzik pospolity [9-12]. Dotychczasowe rezultaty badań prowadzonych w Katedrze i Zakładzie Chemii Leków UMed we Wrocławiu potwierdziły również w przypadku niektórych pochodnych izotiazolopirydyny 100% efekt hamujący wzrost szczepu *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* w stężeniu 12.5 µg/mL [13, 14].

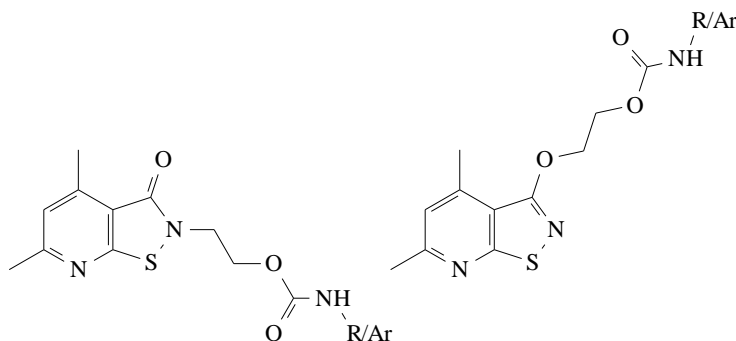
Biorąc pod uwagę powyższe fakty, w ramach prac własnych otrzymałem kilka serii pochodnych izotiazolopirydyny o potencjalnej aktywności przeciwbakteryjnej. Jako substraty wykorzystałem 4,6-dimetyloizotiazolo[5,4-*b*]pirydyn-3(2*H*)-on, jego 2- lub 3-hydroksymetylo(etylo)- oraz 2-(2-chloroetylowe pochodne otrzymane wcześniej [15-18].

Pierwszą grupę nowych związków stanowiły 4-nitrofenylopiperazynowe pochodne **I** różniące się między sobą długością łącznika węglowego (**H1**, **H2**). Warto dodać, że pochodne chinoksaliny zawierające ugrupowanie nitrofenylopiperazynowe wykazywały znaczącą aktywność antymykobakteryjną [19].



Rys. 2 Wzór ogólny związków serii **I**

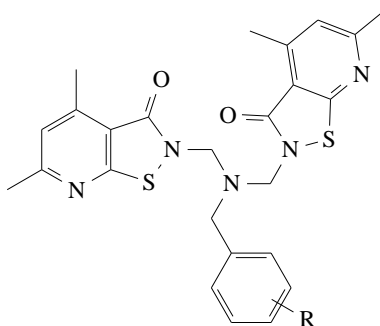
Kolejną serię stanowiły otrzymane na drodze dwuetapowej syntezy karbaminiany N-(2-hydroksyetylo)-4,6-dimetyloizotiazolo[5,4-*b*]pirydyn-3(2*H*)-onu **II** (**H2**), które można rozpatrywać jako azaanalogi aktywnych przeciwpłatkowo benzisotiazolonów [20]. Dla celów porównawczych otrzymano również ich 3-O-izomery.



Rys. 3 Wzór ogólny związków serii **II**

Kontynuując poszukiwania środków przeciwbakteryjnych wśród pochodnych izotiazolo[5,4-*b*]pirydyny uzyskałem także serię połączeń o budowie specyficznych bis-N-zasad Mannicha,

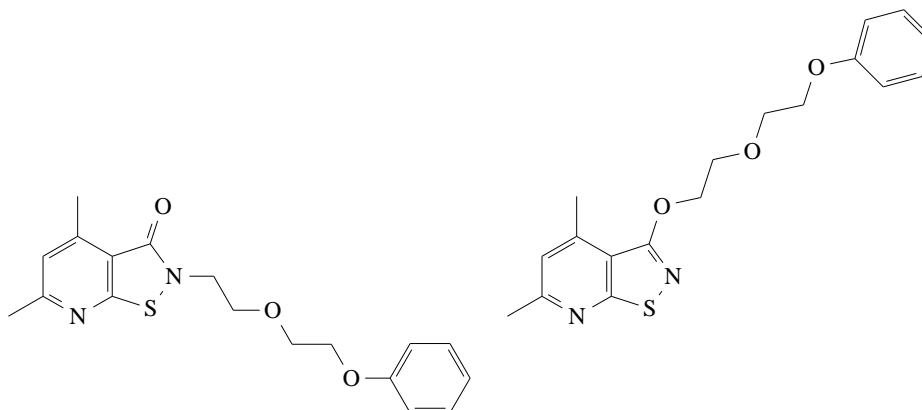
zawierających w pozycji N-2 pierścienia izotiazolu różne podstawione reszty benzyloaminowe **III** (H2).



Rys. 4 Wzór ogólny związków serii **III**

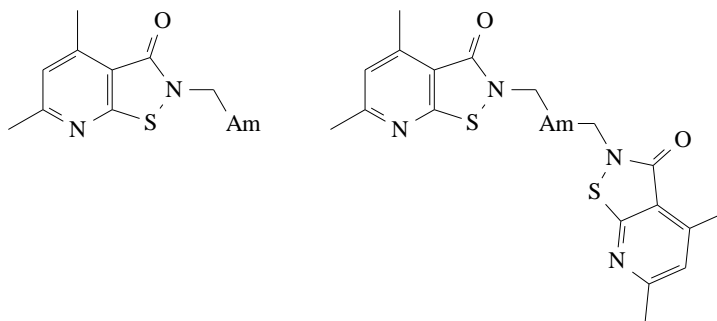
W świetle danych literaturowych połączenie w jednej cząsteczce ugrupowania benzyloaminowego i reszty izotiazolopirydynowej wydawało się wzmocnić efekt antybakteryjny tych dwóch składowych związków [21, 22].

Dwie kolejne 2(3)-fenoksyetoksyetylo pochodne izotiazolopirydyny **IV** (H2), pozbawione zasadowego atomu azotu w łańcuchu bocznym, otrzymałem w celu zbadania czy azot ten jest niezbędny dla aktywności przeciwbakteryjnej związków.



Rys. 5 Struktura związków serii **IV**

Ostatnią serię związków o potencjalnych właściwościach przeciwbakteryjnych stanowiły pochodne o budowie N-zasad Mannicha, zawierające różne podstawione reszty piperazynowe i piperydynowe **V** (H4). Niektórzy autorzy sugerują, że tego typu ugrupowania wprowadzone do cząsteczki związku mogą pełnić rolę farmakoforową dla aktywności antybakteryjnej [23, 24].



Rys. 6 Wzór ogólny związków serii V

Wszystkie zsyntetyzowane pochodne w ramach nawiązanej współpracy zostały przebadane pod kątem ich właściwości przeciwbakteryjnych. Związki serii II, III, IV poddano badaniom aktywności hamującej rozwój szczepu *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Połączenia serii I, II, III, IV poddano dodatkowo badaniom wobec *Mycobacterium fortuitum* PCM672 oraz *Propionibacterium acnes* PCM2400. Z kolei dla związków serii V wyznaczono aktywność wobec *Escherichia coli* ATCC25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 (MDR), *Acinetobacter baumannii* ATCC19606, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 i *Staphylococcus aureus* ATCC43300 (MRSA). Otrzymane wyniki testów mikrobiologicznych wskazują, że tylko jeden związek 2-[2-(2-fenoksyetoksy)etylo]-4,6-dimetyloizotiazolo[5,4-*b*]pirydyn-3(2*H*)-on w 100% hamował wzrost *M. tuberculosis* H37Rv przy MIC = 6.25 µg/mL. Jego 3-*O*-izomer był kompletnie pozbawiony aktywności. Ta obserwacja koreluje z wynikami testów mikrobiologicznych uzyskanych wcześniej dla innych pochodnych izotiazolopirydyny. Większość *O*-izomerów była nieaktywna wobec mykobakterii. Należy dodać, że 2-fenoksyetoksyetylo pochodna mimo swojej wysokiej aktywności nie przewyższała działaniem ryfampicyny zastosowanej jako lek odniesienia. Dodatkowo w wykonanych testach cytotoksyczności charakteryzowała się niskim współczynnikiem selektywności SI IC₅₀/MIC wynoszącym 0.68, co dyskwalifikowało ten związek z dalszych testów.

Działanie testowanych pochodnych wobec szczepu *M. fortuitum*, uznawanego przez niektórych jako szczep bezpieczniejszy w badaniach nad aktywnością przeciwprątkową, było generalnie słabe. Tylko *N,N*-bis(4,6-dimetylo-3-okso-2,3-dihydroizotiazolo[5,4-*b*]pirydyn-2-ylometylo)-*N*-2-metoksybenzyloamina znacząco hamowała wzrost badanego szczepu przy MIC₉₀ < 1 µg/mL co było wynikiem porównywalnym do tego, otrzymanego dla izoniazydu.

Również wobec szczepu *P. acnes* tylko jeden związek 2-{2-[4-(nitofenylo)piperazylo]etylo}-4,6-dimetyloizotiazolo[5,4-*b*]pirydyn-3(2*H*)-on wykazywał znaczącą aktywność (MIC₉₀<1 µg/mL). Związek ten przewyższał swoim działaniem erytromycynę w zakresie stężeń 1-0.25 µg/mL. Ze względu na wysoką aktywność przeciwbakteryjną 4-nitrofenylopo pochodna stała się przedmiotem uzyskanego patentu nr PL 211 841 B1 udzielonego przez Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej na wynalazek pt.: „Nowa pochodna izotiazolopirydyny” (**H1**).

Spośród serii związków **V**, tylko pochodne heksylopiperazynowa i 4-metylo-2-fenylopiperazynowa wykazywały aktywność wobec dwóch szczepów tj. *A. baumannii* i *S. aureus*. Nie przewyższały one swoim działaniem kolistyny, polimyksyny B, wankomycyny i daptomycyny zastosowanych jako związki referencyjne.

Ze względu na silną aktywność wobec *M. fortuitum* oraz specyficzną budowę *N,N*-bis(4,6-dimetylo-3-okso-2,3-dihydroizotiazolo[5,4-*b*]pirydyn-2-ylometylo)-*N*-2-metoksybenzyloaminy wykonano jej badania rentgenostrukturalne. Za pomocą analizy rentgenowskiej potwierdzono jednoznacznie jej budowę (**H2**). Wykazano, że geometria (długości wiązań, kąty) układu izotiazolopirydyny w pochodnej 2-metoksybenzyloaminowej jest bardzo podobna do tej, określonej wcześniej dla niepodstawionego 4,6-dimetyloizotiazolo[5,4-*b*]pirydyn-3(2*H*)-onu oraz jego pochodnych [25, 26]. Z analizy ponadto wynika, że atom azotu trzeciorzędowej grupy aminowej ma konfigurację piramidalną z sumą kątów wokół 337.2° charakterystyczną dla hybrydyzacji sp³. Mostki metylenowe łączące ugrupowania izotiazolopirydynowe i pierścien fenyłowy z centralną grupą aminową mają odpowiednio konformację *gauche-gauche-trans*, *gauche-trans-gauche* i *trans-gauche-trans* w stosunku do pierścieni izotiazolopirydyny i pierścienia fenyłowego. Konformacja całej cząsteczki jest stabilizowana przez wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe.

Drugim obszarem moich badań jest poszukiwanie nowych związków o aktywności hamującej cyklooksygenazy, antyproliferacyjnej oraz przeciwnowotworowej. Swoją uwagę w tym zakresie skupiałem dotychczas na syntezie pochodnych izotiazolopirydyny (**H3**) a obecnie pracuję głównie nad nowymi związkami z grupy dimetylopirydyny (**H5**, **H6**).

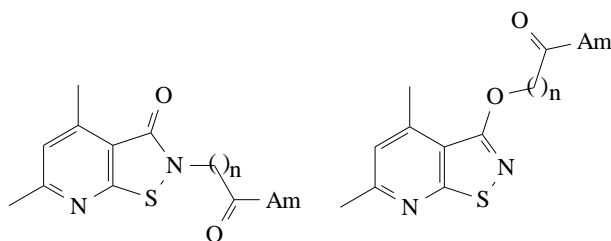
Jak powszechnie wiadomo cyklooksygenazy (COX) są odpowiedzialne za syntezę prostaglandyn – czynników prozapalnych. Szczególne znaczenie przypisuje się cyklooksygenazie 2 (COX-2), która jest formą indukowalną, a ekspresja jej zachodzi w tkankach objętych zapaleniem lub w tkankach nowotworowych. Gen COX-2 ulega ekspresji w różnych typach

tkanek i komórek, w odpowiedzi na prozapalne czynniki, takie jak: cytokiny (TNF α , INF γ , IL-1 α i 1 β), czynniki wzrostu (EGF, FGF, VEGF), hormony (FSH, LH) i estrogeny oraz onkogeny (np. V-RAS, V-SRC, HER-2/neu i WNT). W ostatnich latach wykazano zwiększoną ekspresję COX-2 w komórkach nowotworowych. Zaobserwowano na przykład podwyższony poziom prostaglandyn związanych z większą ekspresją COX-2 w raku jelita grubego. Stwierdzono ponadto ok. 50% wzrost ekspresji COX-2 w gruczolakach i ok. 80-85% w gruczolakorakach, sugerując znaczenie tego enzymu w kancerogenezie jelita grubego [27, 28]. Badania na modelach zwierzęcych i pierwsze prospektywne badania epidemiologiczne wskazują na ochronny wpływ aspiryny i innych niesteroidowych leków przeciwzapalnych na rozwój raka jelita grubego. Liczne następne badania kliniczne potwierdziły, iż stałe zażywanie NSAID bądź selektywnych inhibitorów COX-2 zatrzymuje powstawanie, a nawet regresję gruczolakowatych polipów (30-50%) u pacjentów z zespołem gruczolakowatej polipowatości rodzinnej. Podwyższony poziom COX-2 w przednowotworowych komórkach nabłonka gruczołu krokowego czy keratynocytach raka skóry mogą świadczyć o roli tego enzymu w etiologii tych nowotworów [29]. Inne badania wykazały ważną rolę cyklooksygenazy-2 w nowotworach, takich jak: rak gruczołu sutkowego, żołądka, przełyku, pęcherza moczowego, płuc oraz głowy i szyi. Z kolei Masferrer i wsp. sugerują, iż podwyższona ekspresja COX-2 i produkowane prostaglandyny mają również duże znaczenie w procesie angiogenezy [30].

Wiele badań na ludzkich i zwierzęcych modelach *in vitro* i *in vivo* wyjaśniało mechanizmy chemoprewencyjnego efektu działania inhibitorów COX. Wśród nich można wyróżnić: indukcję apoptozy, hamowanie wzrostu nowotworów, supresję angiogenezy, indukcję zatrzymania cyklu komórkowego, hamowanie ekspresji receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksosomów (PPARs) [31-36]. Prowadzone badania przedkliniczne sugerują addytywny i synergistyczny efekt skojarzenia koksibów i konwencjonalnych metod leczenia przeciwnowotworowego. Ponieważ przewlekłe stany zapalne predysponują podatne komórki na transformację nowotworową, im dłużej trwa proces zapalny tym większe jest ryzyko zachorowania na raka. Istotne jest zatem określenie najbardziej racjonalnej i skutecznej kombinacji związków przeciwzapalnych z innymi standardowymi lekami przeciwnowotworowymi a także określenie niskiej, nietoksycznej dawki tych związków.

W ramach poszukiwań nowych inhibitorów cyklooksygenaz w swoich badaniach skupiłem się w pierwszej kolejności na syntezie amidowych pochodnych izotiazolopirydyny VI.

Opisane wcześniej w literaturze pochodne benzisotiazolu (dezazaanalog izotiazolopirydyny) o charakterze amidów, wykazywały wyższą aktywność anty-COX-2 niż rofekoksyb [37]. Otrzymane izotiazolopirydyny były N- i O-izomerycznymi związkami zawierającymi reszty acetamidowe, propanamidowe oraz butanamidowe w łańcuchu bocznym. Fragment zasadowy cząsteczki stanowiły odpowiednie fenylopiiperazyny a w jednym przypadku była to dimetoksytetrahydrochinolina. Dla celów porównawczych otrzymano również amidowy analog benzisotiazolowy.



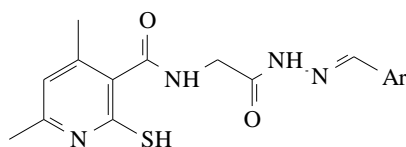
Rys. 7 Wzór ogólny związków serii VI

Badaniom biologicznym poddano wszystkie amidy oraz ich trzy kwasowe prekursorsy. Do testów biologicznych włączono również otrzymane wcześniej związki, zawierające zamiast fragmentu amidowego, łącznik alkilowy oraz izotiazolopirydynową pochodną kwasu octowego [13-14, 38]. Przeprowadzone badania *in vitro* wykazały, że wszystkie związki hamowały aktywność COX-1 w trakcie 2 minutowej inkubacji z enzymem. Najsilniej działające pochodne hamowały aktywność enzymu na poziomie 25-40%. Efekt inhibicji COX-1 utrzymywał się dla większości związków w trakcie trwania całego testu tj. przez 10 minut. Należy podkreślić, że po 10 minutach inkubacji z enzymem referencyjny piroksykam nie hamował enzymu ale wręcz stymulował jego aktywność o 11%. Działanie na COX-2 badanych związków było zróżnicowane i generalnie słabsze niż na COX-1. Najsilniejsze pochodne hamowały cyklooksygenazę 2 na poziomie 20-25%. Co ciekawe trzy chlorofenylopiiperazynowe pochodne izotiazolopirydyny w trakcie całego testu dość znacząco stymulowały aktywność COX-2 (15-25%). Na uwagę zasługuje 2-{3-okso-3-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]propylo}-1,2-benzisothiazol-3(2H)-on, który w stopniu porównywalnym do piroksykamu hamował COX-2. Dla badanych związków określono również indeks selektywności SI wobec COX-1 i COX-2. Okazało się, że dwie pochodne wyraźnie hamują tylko COX-1 ($SI_{COX-2/COX-1}$ - 2.24-2.26) a dwie inne preferują COX-2 ($SI_{COX-2/COX-1}$ - 0.39-0.61).

Aby skorelować tryb wiązania związków z aktywnością biologiczną, niektóre pochodne poddano badaniom dokowania molekularnego do odpowiednich struktur krystalicznych cyklooksygenaz. Ze względu na wysoką homologię między domenami wiążącymi COX-1 i COX-2 dla prawie wszystkich związków, obserwowane interakcje z obydwojoma domenami wiążącymi były dość podobne. Znajduje to odzwierciedlenie w wyznaczonych średnich wartościach pIC_{50} dla wszystkich związków, które były porównywalne (COX-1 $pIC_{50} = 3.58$ i COX-2 $pIC_{50} = 3.37$). Zaobserwowano, że „duże” związki (pochodne amidowe i alkiloaminowe) wiążą się przez ugrupowanie fenylopiiperazynowe do wewnętrznej części COX-1 i COX-2 a fragment izotiazolopirydynowy skierowany jest na zewnątrz. Tego typu sposób wiązania jest charakterystyczny dla flurbiprofenu. Co ciekawe, inny sposób wiązania ale tylko z cyklooksygenazą 2 zaobserwowano w przypadku związku, w którym zastąpiono macierzystą izotiazolopirydynę ugrupowaniem benzotiazolowym. Z przeprowadzonych badań wynika, że związek ten wiąże się z enzymem w podobny sposób jak meloksykam. Wyjaśnieniem takiego zachowania może być subtelna różnica między budową domen wiążących COX-1 i COX-2 w pozycji 523. Mniejsza reszta waliny w COX-2 w porównaniu z izoleucyną w COX-1 umożliwia łatwiejszy dostęp do hydrofobowej kieszeni bocznej w enzymie. Podobnie jak w przypadku ugrupowania benzotiazynowego w meloksykampie dochodzi do zaginania fragmentu benzotiazolowego. Dzięki temu związek wchodzi głębiej w domenę wiążącą co zwiększa siłę działania i zapobiega zbyt wczesnej dysocjacji. W przypadku pozostałych związków, dla których wykazano silniejszą aktywność hamującą aktywność COX-1, reszta izoleucyny 523 w COX-1 może stanowić steryczną zawadę i stabilizować związek w domenie wiążącej. Częsteczki stabilizowane przez izoleucynę pozostają dłużej w domenie wiążącej, co przekłada się bezpośrednio na ich aktywność biologiczną. W trakcie badań dokowania molekularnego udowodniono również, że związki poddane analizie dodatkowo oddziałują z domenami wiążącymi enzymów przez wiązania wodorowe.

Kontynuując poszukiwania nowych związków o działaniu hamującym cyklooksygenazy a zarazem antyproliferacyjnym, otrzymałem serię **VII** pochodnych *N*-(2-hydrazyno-2-oksoetylo)-4,6-dimetylo-2-sulfanylopiirydino-3-karboksamidu (**H5**). Ten wysokowydajny substrat powstał nieoczekiwanie jako produkt reakcji estru etylowego kwasu 4,6-dimetylo-3-okso-2,3-dihydroizotiazolo[5,4-*b*]pirydyn-2-ylooctowego z wodzianem hydrazyny. Okazało się, że w trakcie syntezy oprócz powstania spodziewanego hydrazynu dochodzi jednocześnie do pęknięcia

wiązania S-N w pierścieniu izotiazolu. Budowę tak powstałej pochodnej dimetylopirydyny udało się jednoznacznie potwierdzić za pomocą metod spektralnych. W widmie ^1H NMR otrzymanego hydrazynu pojawił się sygnał protonu grupy $-\text{SH}$ przy 13.46 ppm, natomiast dwuprotonowy singlet grupy metylenowej $>\text{NCH}_2\text{CO}-$ obecny w widmie wyjściowego estru został zastąpiony przez dwuprotonowy dublet (3.78 ppm) tej samej grupy w hydrazynie ($-\text{NHCH}_2\text{CO}-$). Związki serii **VII** uzyskałem w reakcji addycji nukleofilowej pierwszorzędowej grupy aminowej hydrazynu z odpowiednim aldehydem aromatycznym.



Rys. 8 Wzór ogólny związków serii **VII**

W widmach ^1H NMR acylohydrazonowych pochodnych zaobserwowano podwójne sygnały odpowiadające dwóm amidowym protonom NH, protonom aryldenowym, metylenowym i metylowym. Z danych literaturowych wynika, że związki zawierające struktury aryleno-acylohydrazonowe mogą występować jako geometryczne izomery E/Z w związku obecnością podwójnego wiązania C=N a dodatkowo jako konformery cis/trans amidowe [39-42]. Moje wyniki korelują więc z danymi z piśmiennictwa.

Struktura pochodnych serii **VII** nie jest przypadkowa. Związki posiadające ugrupowanie N-acylohydrazonowe lub N-arylohydrazonowe od lat opisywane są jako potencjalne analgetyki czy też chemioterapeutyki. Niektórzy autorzy sugerują, że tego typu ugrupowania mogą pełnić rolę farmakoforów, odpowiedzialnych za aktywność analgetyczną związków [43-45]. J. P. Mały i współpracownicy zaproponowali wręcz mechanizm działania związków N-arylohydrazonowych, który prawdopodobnie polega na hamowaniu cyklooksygenazy [46]. Fragment benzo-bis-azaallilowy, pochodzący z arylo- lub acylohydrazonu oraz bis-allilometylenowy w kwasie arachidonowym wykazują izosteryczne podobieństwo, dzięki czemu hydrazonowa pochodna jako fałszywy ligand jest w stanie zablokować cyklooksygenazę a tym samym kaskadę enzymatyczną kwasu arachidonowego i produkcję czynników prozapalnych [43, 47]. Z dokonanego przeglądu piśmiennictwa wynika ponadto, że związki o budowie hydrazonów lub acylohydrazonów stanowią ważną grupą pochodnych, wśród których poszukuje się nowych leków o aktywności antyproliferacyjnej. Niektórzy autorzy sugerują, że to farmakoforowe ugrupowanie ($-\text{CO}-\text{NH}-$

N=CH-) jest niezbędne dla działania przeciwnowotworowego różnego rodzaju klas związków chemicznych [48-51].

W świetle przedstawionych danych związki serii **VII** poddano badaniom biologicznym *in vitro* w kierunku ich aktywności anty-COX-1/COX-2, przeciwwolnorodnikowej oraz przeciwnowotworowej (**H5**, **H6**). Otrzymane wyniki wskazują, że pochodne: *N'*-fenylo-metylidenowa i *N'*-4-metylofenylo-metylidenowa hamują aktywność COX-1 w niższych stężeniach w porównaniu do meloksykamu i piroksykamu. Wartości IC₅₀ COX-1 tych związków wynosiły odpowiednio 57.3 μM oraz 51.8 μM (IC₅₀ dla meloksykamu 85.8 μM, IC₅₀ dla piroksykamu 170.5 μM). Warto podkreślić, że *N'*-4-cyjanofenylo-metylidenowa pochodna najsilniej ze wszystkich, hamowała działanie COX-2, przy czym efekt ten był podobny do tego, który obserwowano dla piroksykamu.

Dla pochodnych dimetylopirydyny **VII** scharakteryzowano również sposób ich wiązania do COX-1 i COX-2 za pomocą techniki dokowania molekularnego. Badania te wykazały, że związki, które najsilniej hamowały aktywność cyklooksygenaz dokują się w całości wewnątrz domeny wiążącej enzymu. Najbardziej aktywne pochodne metylofenylo-wa, wobec COX-1 oraz cyjanofenylo-wa, wobec COX-2, posiadały tę samą orientację we wnękach wiążących. Fragment dimetylopirydyny był skierowany do subdomeny B a ugrupowanie arylo-wa do subdomeny A. Subdomena A reprezentuje tryb wiązania flurbiprofenu, a subdomena B meloksykamu i piroksykamu. Jak z tego wynika te dwa związki mogą wiązać się z centrum aktywnym enzymu zarówno tak jak flurbiprofen a także podobnie jak meloksykam i piroksy-kam. Znajduje to odzwierciedlenie w ich wysokiej aktywności oraz nieselektywnym hamowaniu obu izoform cyklooksygenazy.

W teście aktywności przeciwwolnorodnikowej pochodna naftylo-metylidenowa najsilniej ze wszystkich zmniejszała ilość wolnych rodników zarówno w stabilnych warunkach, jak i pod wpływem stresu oksydacyjnego. Wszystkie związki w warunkach stresu oksydacyjnego działały silniej niż leki referencyjne.

Ocenę cytotoksyczności związków serii **VII** przeprowadzono w oparciu o dwa testy: MTT (bromek 3-(4,5-dimetylotiazol-2-yl)-2,5-difenylo-tetrazoliowy) (**H5**) oraz SRB (sulfurodamina B) (**H6**). W teście MTT najwyższą aktywność cytotoksyczną wykazano dla *N'*-(antracen-9-yl)-metylidenowej pochodnej wobec komórek ludzkiego gruczołakoraka gruczołu sutkowego z opornością lekową MCF-7/DOX (IC₅₀ = 93.35 μM) i ludzkiego gruczołakoraka jelita grubego

opornych na dokсорubicynę LoVo/DX ($IC_{50} = 131.2 \mu\text{M}$) oraz wobec ludzkich komórek czerniaka izolowanych z przerzutu do węzłów chłonnych Me45 ($IC_{50} = 73.76 \mu\text{M}$). Warto podkreślić, że prawidłowe komórki kontrolne: chomicze fibroblasty z jajnika (CHO) i ludzkie fibroblasty (HF) ekspozowane na badany związek okazały się znacznie mniej wrażliwe CHO ($IC_{50} = 730 \mu\text{M}$) i HF ($IC_{50} = 1881,5 \mu\text{M}$) co wskazuje, że badana substancja jest bezpieczna. Ze względu na swoje właściwości biologiczne związek ten stał się przedmiotem zgłoszenia patentowego nr P.427105 pt.: „Hydrazyd kwasu *N'*-[(antracen-9-ylo)metylideno]-2-[4,6-dimetylo-2-sulfanylopirydyn-3-ylo-karboksamido]octowego, sposób jego otrzymywania i zastosowanie”.

W teście sulforodaminowym (**H6**) zbadano aktywność cytotoksyczną związków serii **VII** wobec komórek ludzkiego gruczolaka jelita grubego wrażliwych na dokсорubicynę LoVo oraz komórek gruczolaka płuc A549. Otrzymane wyniki wskazują, że najwyższy indeks terapeutyczny posiadają pochodne: fenylova, chlorofenylova, metylofenylova, metylotiofenylova i dichlorofenylova. Związki te hamowały rozwój komórek rakowych w niższych stężeniach, w porównaniu do stężeń otrzymanych dla fibroblastów użytych jako kontrola. W przypadku chlorofenylo-, metylotiofenylo- oraz dichlorofenylopochoďnej, wartości IC_{50} wyznaczone dla komórek nowotworowych były 2–4 razy mniejsze niż te, otrzymane dla komórek zdrowych.

Należy zauważyć, że pochodne: fenylova, chlorofenylova, metylofenylova wykazują jednocześnie istotnie statystyczne hamowanie aktywności cyklooksygenaz COX-1 bądź COX-2. Otwiera to możliwość zastosowania tych związków w chemoprewencji nowotworów. Szczególnie ważne są dalsze badania nad związkami wykazującymi zarówno właściwości antyproliferacyjne, jak i przeciwzapalne.

Podsumowanie

Podsumowując omówione powyżej badania mogę stwierdzić, że prezentowane osiągnięcie naukowe stanowi przykład kompleksowego, multidyscyplinarnego postępowania w poszukiwaniu nowych, aktywnych substancji leczniczych. Wyniki przeprowadzonych badań poszerzyły stan wiedzy w zakresie syntezy nowych związków o aktywności przeciwbakteryjnej, hamujących działanie cyklooksygenazy i antyproliferacyjnych w grupie pochodnych

izotiazolopirydyny i dimetylopirydyny. Założone cele badawcze zostały osiągnięte. Zsyntezowałem wiele nowych pochodnych izotiazolopirydyny i dimetylopirydyny, których strukturę oraz czystość potwierdziłem za pomocą metod spektroskopowych oraz dzięki wynikom analizy elementarnej.

Dla wszystkich otrzymanych pochodnych wykonano szereg testów biologicznych *in vitro*, w których dla wybranych serii określono ich aktywność antybakteryjną, anty-COX-1/COX-2 oraz cytotoksyczność. Większość opisanych w pracach związków była nietoksyczna w zakresie badanych stężeń oraz wykazała pożądaną aktywność farmakologiczną. Każda z nowo otrzymanych pochodnych powiększyła bazę struktur, która może być wykorzystana przy projektowaniu kolejnych substancji o zdefiniowanych właściwościach biologicznych.

W grupie związków hamujących aktywność cyklooksygenaz, dzięki technice dokowania molekularnego, udało się przeprowadzić analizę mechanizmu wiązania aktywnej cząsteczki z domeną wiążącą enzymu. W przyszłości może to być pomocne w zaprojektowaniu nowych pochodnych w oparciu o modelowanie molekularne.

Analizując otrzymane wyniki testów biologicznych, wytypowałem najaktywniejsze pochodne w celu wykonania poszerzonych badań oraz poszukiwania ich mechanizmu działania, szczególnie w odniesieniu do substancji działających silnie cytotoksycznie.

Reasumując, przeprowadzone badania i wynikające z nich wnioski pozwalają na stwierdzenie, że poszukiwanie nowych aktywnych biologicznie substancji wśród pochodnych izotiazolopirydyny jak i dimetylopirydyny jest celowe i uzasadnione. Poszerzenie zakresu badań w tych grupach związków może przynieść w przyszłości preparaty o silnych właściwościach przeciwbakteryjnych a także przeciwzapalnych oraz jednocześnie chemoprewencyjnych i przeciwnowotworowych.

D) Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych, dydaktycznych oraz organizacyjnych

Osiągnięcia naukowo-badawcze uzyskane przed otrzymaniem stopnia naukowego doktora.

W 2000 roku ukończyłem z wyróżnieniem studia na Wydziale Farmaceutycznym z OAM Akademii Medycznej we Wrocławiu. Pracę w Katedrze i Zakładzie Chemii Leków Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu rozpocząłem 1 października 2000 r. na stanowisku asystenta. Od pierwszych dni aktywnie włączyłem się w pracę badawczą jednostki. Moje zainteresowania dotyczyły głównie syntezy związków heterocyklicznych z grupy pochodnych pirydo[3,2-*e*]-1,2-tiazyny, indolu, izotiazolo[5,4-*b*]pirydyny oraz fenotiazyny o potencjalnej aktywności biologicznej. Tak szerokie spektrum zainteresowań pozwoliło mi na otrzymanie kilkudziesięciu nowych związków, które w ramach nawiązanej, szerokiej współpracy udało się przebadać w kierunku aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwbólowej, chemoprewencyjnej oraz antyproliferacyjnej. Badania te były koordynowane przez mojego opiekuna naukowego prof. dr hab. Wiesława Malinkę.

W ramach prac nad poszukiwaniem aktywnych związków w grupie pirydotiazyny otrzymałem serię 3-benzoilopochodnych ditlenku 4-hydroksypirydo-1,2-tiazyny, posiadających w pozycji 2 ugrupowanie arylopieperazyno(piperydino)alkilowe. Dodatkowo, związki te zostały poddane reakcji z różnorodnymi aminami pierwszorzędowymi, dając odpowiednie pochodne enaminowe. Z kolei w reakcji benzoilopochodnych z metylohydrazyną dochodziło do cyklizacji i otrzymania odpowiednich pirazolo[4,3-*c*]pirydo[3,2-*e*]-1,2-tiazynopochodnych. Spośród otrzymanych związków dwa wykazały wysoką aktywność przeciwprątkową (93-95% zahamowania wzrostu mykobakterii przy MIC = 3.13 i 6.25 µg/mL) ale były jednocześnie toksyczne. Substancji aktywnych wobec *M. tuberculosis* poszukiwałem również wśród pochodnych indolu. Zsyntezowałem w tym celu serię podstawionych w pozycji 3 związków o budowie N-zasad Mannicha zawierających reszty arylopierazynowe lub arylopiperydynowe. Wyniki testów wykonane w ramach programu TAACF (Tuberculosis Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility) wykazały najwyższą aktywność przeciwprątkową 3-[[4-(2,3-dimetylofenylo)piperazyn-1-ylo]]metyloindolu, który hamował w 98% wzrost mykobakterii przy 6.25 µg/mL. Okazał się jednakże cytotoksyczny i nie przewyższał aktywnością ryfampicyny, zastosowanej jako lek referencyjny. Wśród pochodnych izotiazolo[5,4-*b*]pirydyny poszukiwałem

z kolei związków działających przeciwbólowo i przeciwnowotworowo. W teście wicia się wszystkie z otrzymanych pochodnych izotiazolopirydyny o budowie N-zasad Mannicha wykazywały silny efekt przeciwbólowy jeszcze w dawce 1/160-1/320 LD₅₀. Wartości ED₅₀ 11 spośród 12 badanych związków wahały się w granicach 3.4-11.6 mg/kg.m.c. Podobny efekt analgetyczny występował po podaniu kwasu acetylosalicylowego przy wartości ED₅₀ równej 39.15 mg/kg, a morfiny przy wartości ED₅₀ na poziomie 2.44 mg/kg. Z tego wynika, że aktywność testowanych połączeń była 4-10 razy wyższa niż ASA i ok. 1.5-5 razy niższa niż morfiny. Najsilniejszy efekt hamowania bólu obserwowano w przypadku pochodnej *o*-fluorofenylopiperazynowej i 1,2,3,4-tetrahydro- β -karbolinowej, dla których wartości ED₅₀ wynosiły odpowiednio 3.4 i 4.9 mg/kg. Ze względu na wcześniejsze doniesienia o niskim indeksie selektywności niektórych izotiazolopirydyn o aktywności przeciwbakteryjnej, kilka amino(hydroksy)alkilo pochodnych tego układu poddano badaniom na liniach komórek nowotworowych w NCI w Bethesda (USA). Związki zawierające 2-hydroksypropylenowy łącznik wykazały umiarkowaną aktywność wobec 9 linii komórek nowotworowych w stężeniu ok. 20 mM/L.

Osobnym wątkiem moich badań było poszukiwanie związków antymutagennych i chemoprewencyjnych wśród pochodnych fenotiazyny. W ramach moich prac badawczych skupiłem się na syntezie hydrofilowych analogów, stosowanej jako lek neuroleptyczny, flufenazyny (FPh). Badania farmakologiczne *in vitro* potwierdziły silną aktywność antymutagenną FPh. Lek ten wykazywał efekt proapoptotyczny w stosunku do uszkodzonych genotoksycznie limfocytów ludzkich i obniżał tempo ich proliferacji [52-53]. Zasadniczym problemem w potencjalnym zastosowaniu flufenazyny jako czynnika chemoprewencyjnego u ludzi, jest niestety szeroka gama objawów niepożądanych ze strony OUN, w tym: zespoły dyskinetyczne, zespoły Parkinsonowskie, senność, apatia, depresja. Z tych powodów modyfikacja struktury chemicznej flufenazyny, zmniejszająca jej wpływ na OUN, stała się celem moich poszukiwań nowych związków fenotiazynowych, które mogłyby wspomagać terapię nowotworów. W celu zwiększenia właściwości hydrofilowych nowych połączeń łącznik propyloowy obecny w cząsteczce flufenazyny zastąpiono łańcuchem 2-hydroksypropylowym. Zamiast grupy hydroksyetylopiperazynowej w charakterze funkcji zasadowej wprowadzono różnorodne aminoalkohole m.in.: *N*-metylo-*N*-2-(hydroksy)etyloaminę *N,N*-bis(2-hydroksyetylo)aminę itp. Badania biologiczne związków przeprowadzono w hodowlach ludzkich

limfocytów poddanych wcześniej działaniu czynnika genotoksycznego – benzo[*a*]pirenu. Analizowano wpływ nowych połączeń między innymi na obniżenie liczby uszkodzeń materiału genetycznego limfocytów, wzrost odsetka komórek okazujących cechy apoptozy, toksyczność dla limfocytów. Należy podkreślić, że aktywność chemoprewencyjna badanych związków była większa niż aktywność macierzystej flufenazyny. Związki wykazywały silniejszy efekt proapoptotyczny (korzystny w uszkodzonych komórkach) a zarazem mniejszy pronekrotyczny (na komórki nieuszkodzone) od FPh. Najaktywniejsze związki zostały wyselekcjonowane do poszerzonego skriningu, celem dokładniejszego poznania mechanizmów ich działania chemoprewencyjnego.

Opisane powyżej badania zostały wykonane m.in. w ramach następujących projektów badawczych:

1. „Synteza oraz badania *in vitro* hydrofilowych analogów flufenazyny o przewidywanym działaniu antymutagennym”, grant nr 431, Akademia Medyczna we Wrocławiu 01.01.2002-31.12.2002, **Piotr Świątek - kierownik grantu**
2. „Synteza i badania *in vitro* pochodnych flufenazyny o przewidywanej aktywności proapoptotycznej i przeciwnowotworowej”, grant nr 975, Akademia Medyczna we Wrocławiu 2003-2004, **Piotr Świątek - kierownik grantu**
3. „Synteza i badania *in vitro* nowych pochodnych izotiazolopirydyny o przewidywanej aktywności antyagregacyjnej”, grant nr 1310, Akademia Medyczna we Wrocławiu 2005-2006, **Piotr Świątek - kierownik grantu**
4. Badania Statutowe realizowane w Katedrze i Zakładzie Chemii Leków Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, od 2002 do 2007 roku **Piotr Świątek - wykonawca zadania**

Wyniki przedstawionych badań zostały opublikowane w 6 oryginalnych (1 praca w suplemencie czasopisma) pracach (**sumaryczny IF = 1.095**, punktacja **MNiSW/KBN = 32**), których jestem współautorem oraz zostały przedstawione na 9 krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych.

Osiągnięcia naukowo-badawcze uzyskane po otrzymaniu stopnia naukowego doktora.

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych w 2007 roku kontynuowałem prace badawcze rozpoczęte wcześniej oraz poszerzyłem moje zainteresowania naukowe o nowe wątki. Oprócz zasadniczego kierunku badawczego, stanowiącego podstawę habilitacji, w ramach nawiązanej szerokiej współpracy międzynarodowej i krajowej, poszukiwałem nowych celów farmakologicznych dla związków izotiazolopirydynowych oraz przede wszystkim skoncentrowałem się na pogłębionych badaniach fizyko-chemicznych i biologicznych pochodnych fenotiazyny.

Dzięki nawiązanej współpracy z Institute of Pharmaceutical Sciences, Albert-Ludwigs-Universität we Freiburgu zostały wykonane badania kilku pochodnych izotiazolopirydyny jako potencjalnych inhibitorów acetylotransferaz histonowych (HATs). Enzymy te katalizują proces przenoszenia grup acetylowych acetylokoenzymu A na ϵ -aminowe reszty lizyny zlokalizowane w N-końcowych fragmentach histonów rdzeniowych. Acetylacja przyczynia się do aktywacji transkrypcji genów poprzez wywołanie zmian konformacyjnych nukleosomu. Acetylacja białek histonowych znosi dodatni ładunek łańcuchów bocznych lizyny w środowisku fizjologicznym i prowadzi do słabszego wiązania z ładunkiem ujemnym DNA. Przeciwną rolę w komórkach pełnią deacetylazy histonowe (HDAC), które usuwają grupy acetylowe z acetylowanych lizyn. Równowaga pomiędzy acetylacją i deacetylacją histonów ma ogromne znaczenie dla organizmu. Nienormalna aktywność HAT i HDAC odgrywa rolę w stanach chorobowych (nowotwory, infekcje HIV) dlatego też potrzebne jest poszukiwanie inhibitorów obu enzymów. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że trzy spośród badanych izotiazolopirydyn: *N*-etylokarbaminianowa pochodna, *N*-metylo-*N*-benzyloaminopochodna oraz etyloestrowa pochodna wykazały silną aktywność (91-99% zahamowania) wobec ludzkich acetylotransferaz histonowych PCAF, Gcn5 oraz CBP przy IC_{50} 1.67-13.60 μ M. Dodatkowo pochodna karbaminianowa hamowała wzrost komórek białaczki HL-60 przy GI_{50} =6.55 μ M.

Innym zagadnieniem badawczym realizowanym we współpracy z zespołem z Katedry Telekomunikacji i Teleinformatyki Politechniki Wrocławskiej była próba korelacji widm terahercowych (THz) wybranych pochodnych izotiazolopirydyny z ich aktywnością biologiczną oraz parametrami fizyko-chemicznymi (temperatura topnienia, współczynnik podziału olej/woda). Jeżeli uda się uchwycić takie zależności, to takie nowatorskie, dotychczas

nieopisywane, podejście posłuży być może w przyszłości do projektowania nowych aktywnych związków.

W ramach wielośrodkowej współpracy rozwijałem z kolei temat syntezy i właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych analogów flufenazyny. W pracach z zakresu syntezy skoncentrowałem się na otrzymaniu nowych, heterocyklicznych (piperazynowych, piperidynowych) pochodnych, oraz specyficznych bis-związków posiadających dwie reszty 2-trifluorometylofenotiazynowe.

Dla najsilniej działającej (badania wykonane wcześniej) proapoptotycznie pochodnej bis(hydroksyetyloaminowej) wykonano również testy stabilności. Dzięki zastosowaniu metody HPLC oraz ESI-MS udało się zidentyfikować produkty degradacji związku. Wykazano, że w warunkach stresowych dochodzi m.in. do utlenienia atomu siarki pierścienia fenotiazyny, utlenienia grupy trifluorometylowej do pochodnej kwasowej czy też rozerwania wiązania C-C w łączniku alkilowym cząsteczki. Dowiedziono również, że związek w fazie stałej jest foto- i termo stabilny oraz odporny na środowisko kwasu solnego. Natomiast roztwory są wrażliwe na światło i czynniki utleniające, więc substancja powinna być chroniona przed tymi czynnikami w trakcie kolejnych badań.

W trakcie trwających równolegle, poszerzonych badań biologicznych związków, które zidentyfikowano jako najbardziej aktywne we wstępnym skriningu oraz związków nowo zsyntezowanych, podjęto próby wyjaśnienia mechanizmu działania analogów flufenazyny. Dowiedziono, że otrzymane związki fenotiazynowe wykazują działanie antymutagenne, chemoprewencyjne oraz chemosensytyzujące czyli odwracają lekooporność komórek nowotworowych. Wykazano, że pochodne fenotiazyny hamują aktywność transportową glikoproteiny P (P_{gp}), która to jest odpowiedzialna za usuwanie m.in. leków z dwuwarstwy lipidowej na zewnątrz komórki. Dzięki zastosowaniu techniki różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), ^{31}P NMR oraz FTIR-ATR udowodniono, że pochodne fenotiazyny zmieniają płynność lipidów błonowych (destabilizują błony komórkowe) oraz powodują obniżenie temperatury (T) i entalpii (DH) ich przejścia fazowego. Związki te stymulują również aktywność kwaśnej sфингомielinazy oraz zwiększają aktywność kaspazy-3 w kulturach limfocytów genotoksycznie uszkodzonych benzo[a]pirenem, kierując je tym samym na drogę apoptozy. Co ciekawe, badane związki miały zdecydowanie mniejszy wpływ proapoptotyczny na

nieuszkodzone limfocyty co sugeruje, że wzmocnienie apoptozy może być specyficznie ograniczone do genotoksycznie uszkodzonych kultur limfocytów.

W toku przeprowadzonych badań biologicznych podjęto również próbę oceny bezpośredniego wpływu związków fenotiazynowych na linie komórek nowotworowych. Przyjętą hipotezą badawczą było założenie, że wybrane pochodne flufenazyny będą obniżać przeżywalność komórek rakowych. Odpowiedź na tak sformułowane pytanie miały dać wyniki badań uzyskanych po przeprowadzeniu testów cytotoksyczności względem komórek gruczolaka jelita grubego LoVo i LoVo/Dx (oporne na doksorubicynę). Wyniki wykonanych testów dowiodły, że wszystkie badane analogi flufenazyny zostały zidentyfikowane jako substancje hamujące wzrostu komórek nowotworowych. Co istotne, pochodne flufenazyny, w niektórych stężeniach wykazywały wyższą cytotoksyczność wobec opornych komórek LoVo/Dx niż wobec LoVo. Wszystkie spośród badanych pochodnych indukowały śmierć komórek na drodze apoptozy, co wykazano poprzez wzrost aktywności kaspazy 3, a także fragmentację DNA we frakcjach internukleosomalnych. Wykazano ponadto, że chlorowodorek 10-[3-(*N*-2-hydroksyetylo-*N*-metyloamino)-2-hydroksypropylo-2-trifluorometylofenotiazyny pełni funkcję inhibitora ekspresji transportera ABCB1 za pośrednictwem czynnika jądrowego NF- κ B. Można uznać ten związek za substancję o potencjalnej przydatności w charakterze modulatora oporności wielolekowej związanej z nadekspresją transportera ABCB1, co pokazano w doświadczeniach z zastosowaniem doksorubicyny. Udowodniono także, że cytotoksyczne działanie wszystkich ocenianych analogów flufenazyny ma również związek z nasileniem sygnałów komórkowych odpowiedzialnych za generowanie reaktywnych form tlenu (RFT). Potwierdzono możliwość uzyskania korzystnej interakcji (synergii) między cytostatykami (doksorubicyną) a inhibitorami wzrostu komórek nowotworowych, takimi jak *N*-2-hydroksyetylo-*N*-metyloaminopochodna. Dodatkowo wykazano, że nietoksyczna dla komórek teobromina może pełnić funkcję adjuwanta potęgującego działanie fenotiazyn a zdolność niektórych pochodnych do odwracania oporności komórek LoVo/Dx na doksorubicynę ulega wzmocnieniu w obecności symwastatyny. Zaobserwowano ponadto, że wszystkie badane pochodne flufenazyny obniżają aktywność enzymatyczną COX-2. Podsumowując uzyskane wyniki badań pochodnych fenotiazyny można stwierdzić, że związki tego typu, ze względu na swoją aktywność chemoprewencyjną, chemosensytyzującą, przeciwzapalną i cytotoksyczną mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie w terapii nowotworów. Wymiernym efektem przeprowadzonych badań jest uzyskany patent

numer **P.381292** udzielony przez Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej na wynalazek pt.: „Nowa pochodna fenotiazyny i sposób otrzymywania nowej pochodnej fenotiazyny”, Warszawa **2011**.

Opisane powyżej badania zostały wykonane m.in. w ramach następujących projektów badawczych:

1. „Określenie charakteru oddziaływań błonowych w mechanizmie chemoprewencyjnego działania nowych analogów flufenazyny” grant nr N N204 150338 Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego 2010-2013, **Piotr Świątek – główny wykonawca grantu**
2. „Nowe pochodne izotiazolo[5,4-*b*]pirydyny o przewidywanej aktywności wobec *M. tuberculosis* i *Helicobacter pylori*”, grant nr 1660, Akademia Medyczna we Wrocławiu 2007-2008, **Piotr Świątek - kierownik grantu**
3. „Synteza i badanie wpływu nowych pochodnych 2-trifluorometylofenotiazyny na modelowe dwuwarstwy fosfolipidowe”, grant nr Pbm50, Akademia Medyczna/Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu 2011-2013, **Piotr Świątek - kierownik grantu**
4. Badania Statutowe realizowane w Katedrze i Zakładzie Chemii Leków Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, od 2008 do 2019 roku **Piotr Świątek - wykonawca zadania**, od 2016 roku **Piotr Świątek - kierownik zadania**

Efektom mojej aktywności naukowo-badawczej po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych było współautorstwo **24** publikacji (22 oryginalnych i 2 prace poglądowe) i **3** rozdziałów w monografiach. **Sumaryczny** impact factor (**IF**) za publikacje **wynosi 39.779**, **punktacja za publikacje MNiSW/KBN = 449**. Wyniki zostały przedstawione w formie **50 komunikatów zjazdowych** na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych (pełne dane zawarte w załączniku nr 7).

Podsumowując, mój dotychczasowy dorobek naukowy, będący wynikiem aktywności naukowo-badawczej w latach **2000 - 2019** stanowi współautorstwo **30 publikacji** (28 oryginalnych i 2 poglądowych), współautorstwo **3 rozdziałów w monografii**, **3 udzielonych patentów** oraz **1 zgłoszenia patentowego**. Wyniki badań zostały zaprezentowane w formie **59**

komunikatów zjazdowych na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. W latach 2012 - 2019 wykonałem **9 recenzji** artykułów naukowych. **Sumaryczny współczynnik wpływu (IF)** za publikacje **wynosi 40.874**, **punktacja za publikacje MNiSW/KBN = 481**, **punktacja za rozdziały w monografii MNiSW/KBN = 14**, **indeks Hirscha** wynosi **6**, **całkowita liczba cytowań 171**, **bez autocytowań 147** (wg bazy Web of Science, 2019.04.09).

Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne.

Oprócz aktywności naukowej jestem zaangażowany w działalność dydaktyczną Katedry i Zakładu Chemii Leków oraz Wydziału Farmaceutycznego z OAM Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Prowadzę zajęcia dydaktyczne w ramach pensum dydaktycznego z chemii leków w następujących formach:

wykłady dla studentów farmacji,

ćwiczenia laboratoryjne dla studentów farmacji.

Brałem czynny udział w pracach Rady Programowej na kierunku „Farmacja” w latach 2014/2015 oraz 2015/2016.

Od 2013 roku jestem członkiem Wydziałowego Zespołu ds. Jakości Kształcenia Wydziału Farmaceutycznego z OAM Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. W latach 2016-2018 pełniłem rolę Koordynatora ds. Hospitacji Wydziałowego Zespołu ds. Jakości Kształcenia.

W latach 2013 - 2014 prowadziłem zajęcia z farmakologii dla kierunku kosmetologia w Państwowej Wyższej Szkole Zawodowej w Wałbrzychu.

W trakcie mojej pracy dydaktycznej byłem promotorem 14 prac magisterskich wykonanych w Katedrze i Zakładzie Chemii Leków Wydziału Farmaceutycznego z OAM Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu oraz recenzentem 33 prac magisterskich wykonanych na Wydziale Farmaceutycznym z OAM Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Moje zaangażowanie w pracę organizacyjną na rzecz Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu obejmowało pracę w strukturach Uczelni oraz Wydziału Farmaceutycznego. Potwierdza to lista aktywności znajdująca się poniżej:

1. Członek Senackiej Komisji Badań Naukowych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, 2008 - 2012 oraz 2012 - 2016
2. Członek Senackiej Komisji Dydaktyki i Wychowania Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, 2016 - 2020
3. Członek Senackiej Komisji Rozwoju Kadry Naukowo-Dydaktycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, 2012 - 2016
4. Członek zespołu opracowującego nowy Statut Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu zgodnie z Ustawą 2.0, 2018 - 2019
5. Członek Wydziałowej Komisji Rozwoju Kadry Naukowo-Dydaktycznej Wydziału Farmaceutycznego z OAM Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, 2016 - 2020
6. Członek Wydziałowego Zespołu ds. przygotowania dokumentacji akredytacyjnej, Wydział Farmaceutyczny z OAM Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, 2017
7. Członek Rektorskiej Komisji ds. Wynalazczości Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, 2012 – 2016
8. Członek Wydziałowej Komisji ds. Powoływania na Stanowiska Nauczycieli Akademickich Wydziału Farmaceutycznego z OAM Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, 2012 - 2016
9. Członek Rady Wydziału Farmaceutycznego z OAM Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w latach 2012 – 2016 oraz 2016 - 2020
10. Członek Uczelnianego Kolegium Elektorów Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, 2012 – 2016 oraz 2016 - 2020
11. Członek Komitetu Organizacyjnego obchodów 60-lecia Akademii Medycznej we Wrocławiu, 2009/2010
12. Członek Uczelnianej Komisji Rekrutacyjnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, 2018/2019
13. Członek Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej Wydziału Farmaceutycznego z OAM Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, 2003/2004, 2004/2005 oraz 2012/2013
14. Członek Wydziałowego Zespołu ds. Jakości Kształcenia Wydziału Farmaceutycznego z OAM Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, 2013 - obecnie

Moja aktywność obejmuje także **udział w komitetach organizacyjnych krajowych konferencji naukowych** oraz w **strukturach Dolnośląskiego Samorządu Aptekarskiego** jako:

1. Członek Komitetu Organizacyjnego ogólnopolskiego Sympozjum „Szkoła Chemii Medycznej”, Wrocław 2013, 2015, 2017.
2. Delegat Dolnośląskiej Izby Aptekarskiej na Zjazd Sprawozdawczo-Wyborczy, Rejon Wrocławski, 2007 – 2011 oraz 2015 – 2019.

Jestem członkiem krajowych organizacji oraz towarzystw naukowych:

- | | |
|--|---------|
| 1. Dolnośląska Izba Aptekarska | od 2000 |
| 2. Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne (PTFarm) | od 2000 |
| 3. Ogólnopolska Sekcja Chemii Medycznej PTFarm | od 2010 |
| 4. Polskie Towarzystwo Chemii Medycznej | od 2007 |

Moja współpraca naukowa z ośrodkami badawczymi została poparta publikacjami, a podjęte badania zyskały charakter interdyscyplinarny. **Jednostki naukowe z którymi współpracuję to:**

1. Department of Medicine, Institute for Medical Research, University of Cambridge, Cambridge Biomedical Campus, Addenbrooke's Hospital, Hills Rd, CB2 0SP, Cambridge, UK
2. Institute of Pharmaceutical Sciences, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Albertstraße 25, 79104 Freiburg, Germany
3. Politechnika Łódzka, Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej, ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź
4. Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Instytut Chemii, ul. 3 Maja 54, 08-110 Siedlce
5. Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Katedra Chemii Farmaceutycznej, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań
6. Politechnika Wrocławska, Katedra Telekomunikacji i Teleinformatyki, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław
7. Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk, ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław
8. Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii, ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław

9. Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich, Wydział Lekarski, Katedra Biochemii Lekarskiej, ul. Chałubińskiego 10, 50-368 Wrocław
10. Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich, Wydział Lekarski, Katedra Biofizyki, ul. Chałubińskiego 10, 50-368 Wrocław
11. Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich, Wydział Farmaceutyczny, Zakład Biologii Molekularnej i Komórkowej, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław
12. Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich, Wydział Farmaceutyczny z OAM, Katedra i Zakład Analityki Medycznej, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław
13. Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich, Wydział Farmaceutyczny z OAM, Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych, ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław
14. Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich, Wydział Farmaceutyczny z OAM, Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław

Za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowo-badawczej, dydaktycznej oraz organizacyjnej zostały mi przyznane:

- **Srebrna Odznaka Honorowa „Academia Medica Wratislaviensis”**, legitymacja 580/07, Wrocław 2007, nadaną uchwałą Senatu Akademii Medycznej we Wrocławiu.
- **10 Nagród Indywidualnych JM Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu:** 2007, 2008, 2010, 2011, 2012, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018.
- **11 Nagród Zespołowych JM Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu:** 2004, 2005, 2006, 2009, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2018.

5. Piśmiennictwo

- [1] World Health Organization, (online). Available: <http://www.who.int>, 02. 04.2019.
- [2] Magiorakos A. P., Srinivasan A., Carey R. B., et al.: Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2012, 18, 268–281.
- [3] Zhang R., Eggleston K., Rotimi V., Zeckhauser R. J.: Antibiotic resistance as a global threat: Evidence from China, Kuwait and the United States. *Global. Health*, 2006, 2- 6.
- [4] Davies J., Davies D.: Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2010, 74, 417- 433.
- [5] Klopman G., Shi L., Ramu A., Quantitative structure-activity relationship of multidrug resistance reversal agents, *Mol. Pharm.*, 1997, 52(2), 323-334.
- [6] Asish De., 4 Biologically active 1,2-benzisothiazole derivatives, *Prog. Med. Chem.*, 1981, 18, 117-133.
- [7] Davis M., Recent advances in the chemistry of benzisothiazoles and other polycyclic isothiazoles, *Adv. Heterocycl. Chem.*, 1985, 38, 105-133.
- [8] Okachi R., Niino H., Kitaura K., Mineura K., Nakamizo Y., Murayama Y., Ono T., Nakamizo A., Synthesis and antibacterial activity of 2,2'-dithiobis(benzamide) derivatives against *Mycobacterium* species, *J. Med. Chem.*, 1985, 28, 1772-1779.
- [9] Maignan J., Shroot B., German Patent 3.342.538, 1984; *Chem. Abstr.*, 1984, 101, 116736c.
- [10] Maignan J., Shroot B., German Patent 3.313.778, 1983; *Chem. Abstr.*, 1984, 100, 121052k.
- [11] Shroot B., Maignan J., French Patent 2.555.450, 1985; *Chem. Abstr.*, 1985, 103, 215278c.
- [12] Rainey J. L., Seidel M. C., US Patent 3.965.107, 1976; *Chem. Abstr.*, 1986, 85, 160072h.
- [13] Malinka W., Ryng S., Sieklucka-Dziuba M., Rajtar G., Głowniak A., Kleinrok Z., 2-Substituted-3-oxoisothiazolo(5,4-b)pyridines as potential central nervous system and antimycobacterial agents, *Farmaco*, 1998, 53, 504-512.
- [14] Malinka W., Sieklucka-Dziuba M., Rajtar G., Zagodziński W., Kleinrok Z., Synthesis and preliminary screening of derivatives of 2-(4-arylpiperazin-1-ylalkyl)-3-oxoisothiazolo[5,4-b]pyridines as CNS and antimycobacterial agents, *Pharmazie*, 2000, 55, 6, 416-425.

- [15] Malinka W., Rutkowska M., Synthesis and anorectic activity of 2H-4,6-dimethyl-2-[(4-phenylpiperazin-1-yl)methyl]-3-oxo-2,3-dihydroisothiazolo[5,4-b]pyridine, *Farmaco*, 1997, 52, 595-601.
- [16] Zawisza T., Malinka W., Synthesis and properties of some derivatives of 2H-4,6-dimethylpyrido[3,2-d]isothiazolin-3-one, *Farmaco*, 1985, 40, 124-132.
- [17] Malinka W., Synthesis and biological evaluation of some piperazine derivatives of isothiazolo [5,4-b]pyridin-3-one and its 1,1-dioxide, *Acta Pol. Pharm.-Drug Res.*, 1991, 48, 19-21.
- [18] Malinka W., Synthesis and properties of 2H-2-(4-substituted-1-piperazinyllalkyl)-4,6-dimethyl-3-oxo-2,3-dihydroisothiazolo[5,4-b]pyridines, *Acta Pol. Pharm.-Drug Res.*, 1990, 47, 51-56.
- [19] Ortega M.A., Montoya M.E., Jaso A., Zarranz B., Tirapu I., Aldana I., Monge A., Antimycobacterial activity of new quinoxaline-2-carbonitrile and quinoxaline-2-carbonitrile 1,4-di-N-oxide derivatives, *Pharmazie*, 2001, 56, 205-207.
- [20] Pagani G., Borgna P., Piersimoni C., Nista D., Terreni M., Pregnolato M., In vitro anti-*Mycobacterium avium* activity of N-(2-hydroxyethyl)-1,2-benzisothiazol-3(2H)-one and -thione carbamic esters, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 1996, 329, 421-425.
- [21] Meindl W. R., von Angerer E., Schoenenberger H., Ruckdeschel G., Benzylamines: synthesis and evaluation of antimycobacterial properties, *J. Med. Chem.*, 1984, 27, 1111-1118.
- [22] Malinka W., Sieklucka-Dziuba M., Rajtar G., Morawska D., Kleinrok Z., Synthesis and biological evaluation of 7-azaanalogues of ipsapirone, *Farmaco*, 1995, 50, 769-778.
- [23] Brickner S.J., Hutchinson D.K., Barychyn M.R., Manninen P.R., Ulanowich D.A., Garmon S.A., Grega K.C., Hendges S.K., Toops D.S., Ford C.W., Zurenko G.E., Synthesis and antibacterial activity of U-100592 and U-100766, two oxazolidinone antibacterial agents for the potential treatment of multidrug-resistant gram-positive bacterial infections, *J. Med. Chem.* 1996, 39, 673-679.
- [24] Barbachyn M.R., Hutchinson D.K., Brickner S.J., Cynamon M.H., Kilburn J.O., Klemens S.P., Glickman S.E., Grega K.C., Hendges S.H., Toops D.S., Ford C.W., Zurenko G.E., Identification of a novel oxazolidinone (U-100480) with potent antimycobacterial activity, *J. Med. Chem.*, 1996, 39, 680-685.

- [25] Karczmarzyk Z., Malinka W., Structure of 4,6-dimethylisothiazolo[5,4-b]pyridin-3(2H)-one and its 2-[4-(2-methylphenyl) piperazin-1-ylmethyl] derivative, *J. Chem. Crystallogr.* 2004, 34, 453-458.
- [26] Karczmarzyk Z., Malinka W., Structural characterization of analgesic isothiazolopyridines of Mannich base type; X-ray analysis of 2-[(4-phenylpiperazin-1-yl)ethyl]- and 2-[(4-methylpiperazin-1-yl)methyl]-4,6-dimethylisothiazolo[5,4-b]pyridin-3(2H)-ones, *J. Chem. Crystallogr.* 2008, 888, 160-167.
- [27] DuBois R.N., Abramson S.B., Crofford L., Gupta R.A., Simon L.S., Van de Putte L.B.A., Lipsky P.E., Cyclooxygenase in biology and disease, *The FASEB Journal*, 1998, 12, 1063-1073.
- [28] Williams C.S., Mann M., DuBois R.N., The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development, *Oncogene* 1999, 18, 7908-7916.
- [29] Herschman H.R., Talley J.J., DuBois R., Cyclooxygenase 2 (COX-2) as a target for therapy and noninvasive imaging, *Molecular Imaging and Biology*, 2003, 5(5), 286-303.
- [30] Masferrer J.L., Leahy K.L., Koki A.T., Zweifel B.S., Settle S.L., Woerner M., Edwards D.A., Flickinger A.G., Moore R.J., Seibert K., Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors, *Cancer Research*, 2000, 60, 1306-1311.
- [31] Hsu A.L., Ching T.T., Wang D.S., Song X., Rangnekar V.M., Chen C.S., The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib induces apoptosis by blocking activation in human prostate cancer cells independently of Bcl-2, *J. Biol. Chem.*, 2000, 275(15), 11397-11403.
- [32] Song X., Lin H.P., Johnson A.J., Tseng P.H., Yang Y.T., Kulp S.K., Chen C.S., Cyclooxygenase-2, player or spectator in cyclooxygenase-2 inhibitor-induced apoptosis in prostate cancer cells, *J. Natl. Cancer Inst.* 2002, 94(8), 585-591.
- [33] Liu X.H., Kirschenbaum A., Yao S., Lee R., Holland J.F., Levine A.C., Inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses angiogenesis and the growth of prostate cancer in vivo, *J. Urol.*, 2000, 164(3 Pt 1), 820-825.
- [34] Narayanan B.A., Condon M.S., Bosland M.C., Narayanan N.K., Reddy B.S., Suppression of N-methyl-N-nitrosourea/testosterone-induced rat prostate cancer growth by celecoxib, *Clin. Cancer Res.*, 2003, 9(9), 3503-3513.
- [35] Vital-Reyes V., Rodríguez-Burford C., Chhieng D.C., Oelschlager, D.K., Reyes-Fuentes A., Barnes M., Grizzle W.E., Celecoxib inhibits cellular growth, decreases Ki-67 expression and modifies apoptosis in ovarian cancer cell lines, *Arch. Med. Res.*, 2006, 37(6), 689-695.

- [36] Parada B., Sereno J., Reis F., Teixeira-Lemos E., Garrido P., Pinto A.F., Cunha M.F., Pinto R., Mota A., Figueiredo A., Anti-inflammatory, anti-proliferative and antioxidant profiles of selective cyclooxygenase-2 inhibition as chemoprevention for rat bladder carcinogenesis, *Cancer Biol. Ther.*, 2009, 8(17), 1615–1622.
- [37] Nulgumnalli M.R., Aitha J., Alapati V.R., Subrahmanyam C.V.S., Synthesis, pharmacological evaluation and docking studies of N-(benzo[d]thiazol-2-yl)-2-(piperazin-1-yl)acetamide analogs as COX-2 inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2012, 22(2), 820-823.
- [38] Malinka W., Swiatek P., Filipek B., Sapa J., Jezierska A., Koll A., Synthesis, analgesic activity and computational study of new isothiazolopyridines of Mannich base type, *Farmaco*, 2005, 60, 961-968.
- [39] Lukasik P.M., Elabar S., Lam F., Shao H., Liu X., Abbas A.Y., Wang S., Synthesis and biological evaluation of imidazo[4,5-b]pyridine and 4-heteroaryl-pyrimidine derivatives as anti-cancer agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, 57, 311-322.
- [40] Pape V.F., Toth S., Furedi A., Szebenyi K., Lovrics A., Szabo P., Wiese M., Szakacs G., Design, synthesis and biological evaluation of thiosemicarbazones, hydrazinobenzothiazoles and arylhydrazones as anticancer agents with a potential to overcome multidrug resistance, *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, 117, 335-354.
- [41] Nasr T., Bondock S., Youns M., Anticancer activity of new coumarin substituted hydrazide-hydrazone derivatives, *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, 76, 539-548.
- [42] Li F., Long L., Xiao J., Wang C., Li W., Li S., Zhao C., Wang L., A novel hydroxyphenyl hydrazone derivate YCL0426 inhibits cancer cell proliferation through sequestering iron, *Anticancer drugs*, 2017, 28, 1131-1140.
- [43] Bezerra-Netto H.J.C., Lacerda D.I., Miranda A.L.P., Alves H.M., Barreiro E.J., Fraga C.A.M., Design and synthesis of 3,4-methylenedioxy-6-nitrophenoxyacetylhydrazone derivatives obtained from natural safrole: new lead-agents with analgesic and antipyretic properties, *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14, 7924–7935.
- [44] Lima P.C., Lima L.M., da Silva K.C.M., Léda P.H.O., de Miranda A.L.P., Fraga C.A.M., Barreiro E.J., Synthesis and analgesic activity of novel N-acylarylhydrazones and isosters, derived from natural safrole, *Eur. J. Med. Chem.*, 2000, 35, 187–203.

- [45] Gaston M.A., Dias L.R., Freitas A.C., Miranda A.P., Barrerio E.J., Synthesis and analgesic properties of new 4-arylhydrazone 1H-pyrazole[3,4-b]pyridine derivatives, *Pharm. Acta Helv.*, 1996, 71, 213–219.
- [46] Mahy J.P., Gaspard S., Mansuy D., Phenylhydrazones as new good substrates for the dioxygenase and peroxidase reactions of prostaglandin synthase: formation of iron(III)-sigma-phenyl complexes, *Biochemistry*, 1993, 32, 4014–4021.
- [47] Silva G.A., Costa L.M.M., Brito F.C.F., Miranda A.L.P., Barreiro E.J., Fraga C.A.M., New class of potent antinociceptive and antiplatelet 10H-phenothiazine-1-acylhydrazone derivatives, *Bioorg. Med. Chem.*, 2004, 12, 3149–3158.
- [48] Kumar D., Maruthi Kumar N., Ghosh S., Shah K., Novel bis(indolyl)hydrazide-hydrazones as potent cytotoxic agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012, 22, 212-215.
- [49] Vicini P., Incerti, M., Doytchinova I.A., La Colla P., Busonera B., Loddo R., Synthesis and antiproliferative activity of benzo[d]isothiazole hydrazones, *Eur. J. Med. Chem.* 2006, 41, 624-632.
- [50] Yu X., Shi L., Ke S., Acylhydrazone derivatives as potential anticancer agents: Synthesis, bio-evaluation and mechanism of action, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2015, 25, 5772-5776.
- [51] Misra S., Ghatak S., Patil N., Dandawate P., Ambike V., Adsule S., Unni D., Venkateswara Swamy K., Padhye S., Novel dual cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors targeting hyaluronan-CD44v6 pathway and inducing cytotoxicity in colon cancer cells, *Bioorg. Med. Chem.*, 2013, 21, 2551-2559.
- [52] Gašiorowski K., Antimutagenic activity of todralazine and fluphenazine. A comparison of the results from short-term cytogenetic tests, *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 2000, 5, 397-403.
- [53] Gašiorowski K., Brokos B., Szyba K., Leszek J., Antimutagenic activity of fluphenazine in short-term tests, *Mutagenesis*, 2001, 16, 31-38.

Piotr Świątek