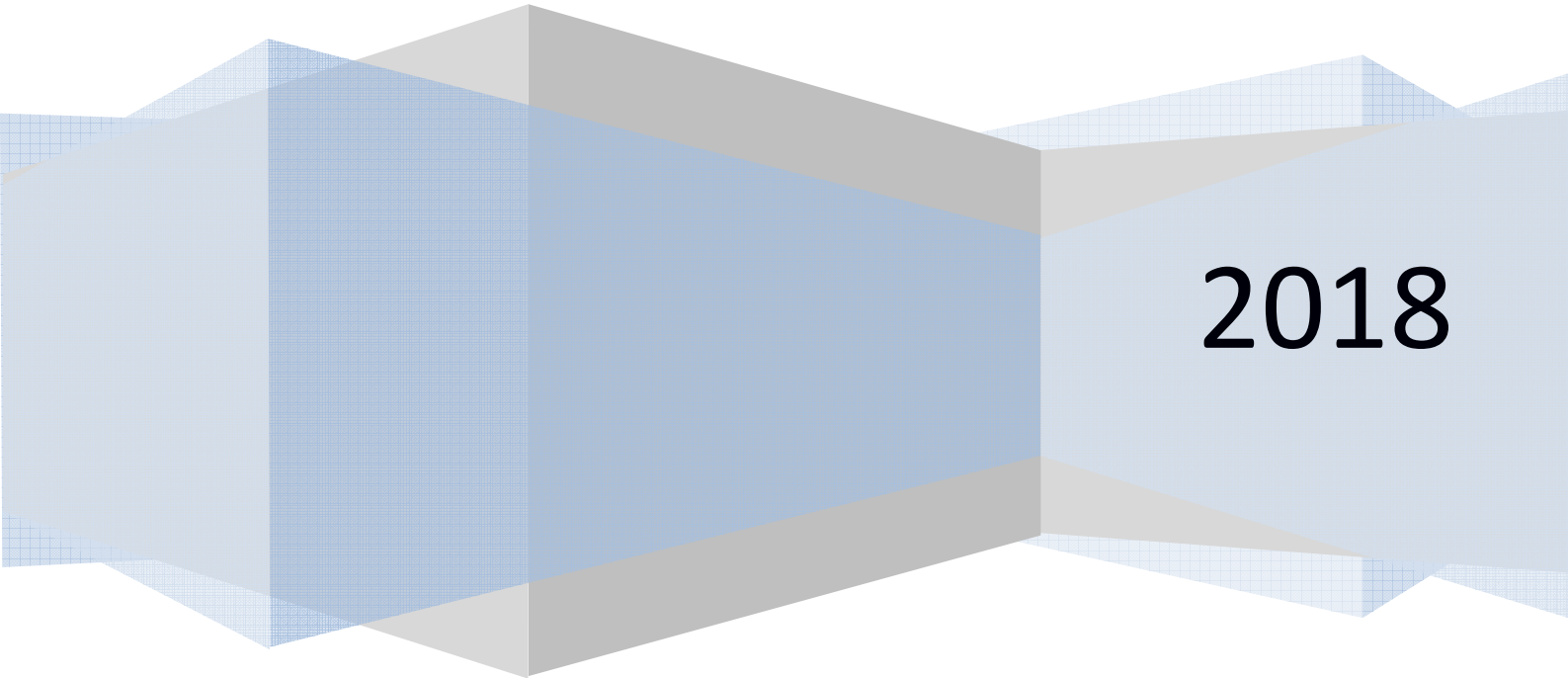


Politechnika Łódzka

Strukturalne podstawy aktywności wybranych pochodnych hydrazyny

Autoreferat

Małgorzata Szczesio



2018

Autoreferat

1. IMIĘ I NAZWISKO

Małgorzata Anna Szczesio

2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE

- 2002 – magister inżynier chemii, Politechnika Łódzka, Wydział Chemiczny, Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej; praca magisterska "Kationy w kanale gramicydynowym. Analiza miejsc wiążących kationów cezu, rubidu i potasu w strukturach krystalicznych kompleksów gramicydyny D", promotor prof. dr hab. inż. Marek L. Główka;
- 24.10.2006 doktor nauk chemicznych, Politechnika Łódzka, Wydział Chemiczny, Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej; praca doktorska "Struktura krystaliczna kompleksów gramicydyny D z halogenkami litowców lekkich" promotor prof. dr hab. inż. Marek L. Główka

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

- 1.10.2006 – 28.02.2007 – umowa zlecenie (prowadzenie zajęć z Krystalografii), Wydział Fizyki i Chemii, Uniwersytet Łódzki
- 1.10.2006 – 30.11.2006 – adiunkt, Wyższa Szkoła Zawodowa Łódzkiej Korporacji Oświatowej w Łodzi
- 1.10.2007 – 30.09.2010 – asystent, Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka
- 2010 – obecny – adiunkt, Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka

4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 ROKU O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

4.A. Tytuł osiągnięcia naukowego:

Strukturalne podstawy aktywności wybranych pochodnych hydrazyny

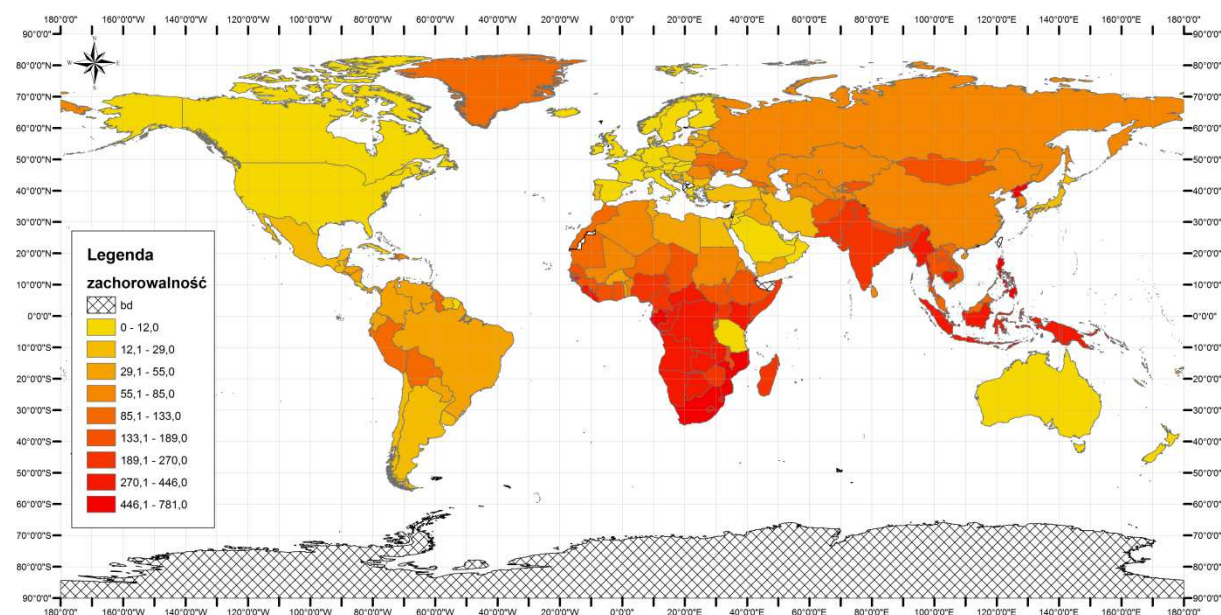
4.B. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

- [H1] A. Olczak, **M. Szczesio**, J. Gołka, C. Orlewska, K. Gobis, H. Foks, M.L. Głowska,
„Planarity of heteroaryldithiocarbazic acid derivatives showing tuberculostatic activity. II. Crystal structures of 3-[amino(pyrazin-2-yl)methylidene]-2-methylcarbazic acid esters”,
Acta Cryst. **C67**, o37-o42 (2011)
- [H2] **M. Szczesio**, A. Olczak, J. Gołka, K. Gobis, H. Foks and M. L. Głowska,
„Planarity of heteroaryldithiocarbazic acid derivatives showing tuberculostatic activity. III. Mono- and diesters of 3-(pyrazin-2-ylcarbonyl)dithiocarbazic acid”,
Acta Cryst. **C67**, o235-o240 (2011)
- [H3] **M. Szczesio**, A. Olczak, K. Gobis, H. Foks, M. L. Głowska,
„Planarity of heteroaryldithiocarbazic acid derivatives showing tuberculostatic activity. IV. Diesters of benzoylcarbonohydrazonodithioic acid”,
Acta Cryst. **C68**, o99-o103 (2012)
- [H4] **M. Szczesio**, A. Olczak, K. Gobis, H. Foks, M. L. Głowska
„Planarity of benzoylhydrazine-dithiocarbazoate tuberculostatics. I. N'-Methyl-substituted 3,4-dichlorobenzoyl monoesters”
Acta Cryst. **C68**, o373-o376 (2012)
- [H5] **M. Szczesio***, A. Olczak, K. Gobis, I. Mazerant, S. Kałużyńska, H. Foks, M. L. Głowska,
„Planarity of benzoyldithiocarbazate tuberculostatics. II. Diesters of benzoyldithiocarbazic acid”
Acta Cryst. **C72**, 75-79 (2016)
- [H6] **M. Szczesio***, A. Olczak, I. Mazerant, K. Gobis, H. Foks, M. L. Głowska,
„Planarity of benzoyldithiocarbazate tuberculostatics. III. Diesters of 3-(2-hydroxybenzoyl)dithiocarbazic acid”
Acta Cryst. **C73**, 84-90 (2017)
- [H7] **M. Szczesio***, A. Olczak, K. Gobis, , M. L. Głowska,
„Planarity of benzoylthiocarbazate tuberculostatics. IV. Polymorphs of N'-(1,3-dithiolan-2-ylidene)-4-nitrobenzohydrazide”
Acta Cryst. **C73**, 797-802 (2017)
- [H8] **M. Szczesio***, J. Gołka, I. Korona-Głowniak, C. Orlewska, K. Gobis, A. Olczak
„Planarity of heteroaryldithiocarbazic acid derivatives showing tuberculostatic activity: structure-activity relationships”
Acta Cryst. **C74**, 400-405 (2018)
- [H9] **M. Szczesio***, I. Korona-Głowniak, K. Gobis
„Planarity of benzoyl-di-thio-carbazate tuberculostatics. V Antibacterial activities of diesters of benzoyldithiocarbazic acid”
J. Mol. Struct. **1167C**, 127-133 (2018)

* Autor korespondencyjny

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

W 2016 roku zachorowało na gruźlicę ponad 10 milionów ludzi, co odnotowuje organizacja WHO [1]. W skutek niej zmarło 1,7 miliona osób, co plasuje gruźlicę w dziesiątce najczęstszych przyczyn śmierci na całym świecie. Zachorowalność na tę chorobę dotyczy ludzi nie tylko krajów tak zwanego trzeciego świata, ale również wysoko rozwiniętych (rys.1). Badania nad możliwościami wyleczenia gruźlicy mają istotne znaczenie również dla nosicieli wirusa HIV, ponieważ choroba ta wśród tych osób jest wiodącym ich zabójcą. Gruźlica jest chorobą wywoływaną przez bakterie *Mycobacterium tuberculosis* [2]. Na skutek uodparnia się prątków gruźlicy na stosowane leki obserwowane są jej odmiany m.in. gruźlicy wielolekoopornej.



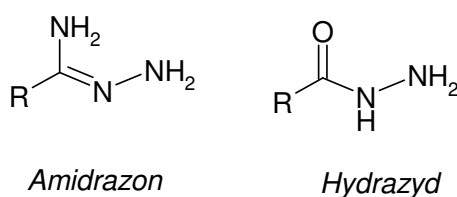
Rys.1. Zachorowalność na gruźlicę według WHO z 2016

(analizę zachorowalności wykonałam wykorzystując oprogramowanie GIS firmy ESRI [3])

Nadmierne i często niepotrzebne wykorzystywanie antybiotyków przyczyniło się do powstawania szczepów bakterii lekoopornych. Szybkie rozprzestrzenianie się tej zabójczej choroby wynika ze społeczności ukierunkowanej na migracje i przeświadczenia „że antybiotyki zwalczą dowolną chorobę”. Tak więc, poszukiwanie substancji czynnych biologicznie przy ciągłym uodparnianiu się bakterii na dostępne leki oraz projektowanie i syntezowanie nowych lepszych związków jest w ostatnich latach nagłą potrzebą i walką z czasem, farmaceutów i chemików z całego świata.

Jedną z metod poszukiwania nowych leków jest analiza zależności struktura-aktywność. W trakcie tych badań modeluje się farmakofor lub wykonuje analizę zależności między strukturą, a aktywnością QSAR (ang. Quantitative Structure-Activity Relationship). Celem takiego postępowania jest co najmniej zaproponowanie aktywniejszego związku do syntez lub określenie nowego kierunku kolejnych badań. Pierwszym krokiem są tu badania strukturalne.

Interesującą grupą związków w badaniach nad poszukiwaniem związków przeciwgruźliczych są pochodne hydrazyny, a wśród nich hydrazydy oraz amidrazony (rys.2). Są to szeroko badane grupy związków pod względem ich aktywności biologicznej [4,5].



Rys.2. Rdzeń pochodnych amidrazonu i hydrazidu

Wykorzystanie substancji do leczenia innych chorób może powodować uodpornianie się *Mycobacterium tuberculosis* na dane związki, co w efekcie niweczy jego przydatność w leczeniu gruźlicy. Istotne jest więc, by dana substancja nie była stosowana wcześniej przy leczeniu innych schorzeń, podczas którego mogłyby mieć z nią kontakt prątki gruźlicy i mogłoby się na nią uodpornić. W związku z tym wykonałam oprócz oznaczenia aktywności tuberkulostatycznej, badania na selektywność pod kątem działań na inne wybrane bakterie oraz grzyby. Podstawowym celem wykonania moich badań było wskazanie kierunku zmian w strukturze oraz poszukiwanie nowego aktywnego związku przeciw prątkom gruźlicy.

Do realizacji projektu poszukiwania zależności struktura - aktywność wybrałam serię pochodnych hydrazynowych ze względu na znaną ich aktywność przeciwgruźliczą. Wyróżniłam dwa nurty badań, pierwszym było określenie struktury i analiza konformacyjna ponad 50 nowych pochodnych hydrazydowych i amidrazonowych (rys.3), drugim było sprawdzenie aktywności przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych nowo zsyntezowanych związków.

Główną metodą określenia struktury potencjalnych leków przeciwgruźliczych była rentgenografia strukturalna, do czego potrzebne były kryształy nowo zsyntezowanych związków. Oprócz metod krystalograficznych wykorzystałam także metody NMR oraz

obliczenia kwantowo-chemiczne na poziomie *ab initio*.

Badania aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej powyższych związków wobec trzech szczepów *M. tuberculosis*, w tym dwóch wyizolowanych od pacjentów, oraz badania przesiewowe na kilka rodzajów bakterii i grzybów. Zostało wyznaczone minimalne stężenie hamujące (MIC). Dzięki zebraniu wszystkich powyższych informacji, przy założeniu takiego samego mechanizmu działania badanych związków, mogłam zaproponować model farmakofora. Dodatkowo, ze względu na współistnienie wraz z gruźlicą innych chorób wynikających z osłabienia organizmu, istotne było przeprowadzenie badań "skrinigowych" przeciw innym bakteriom oraz grzybom.

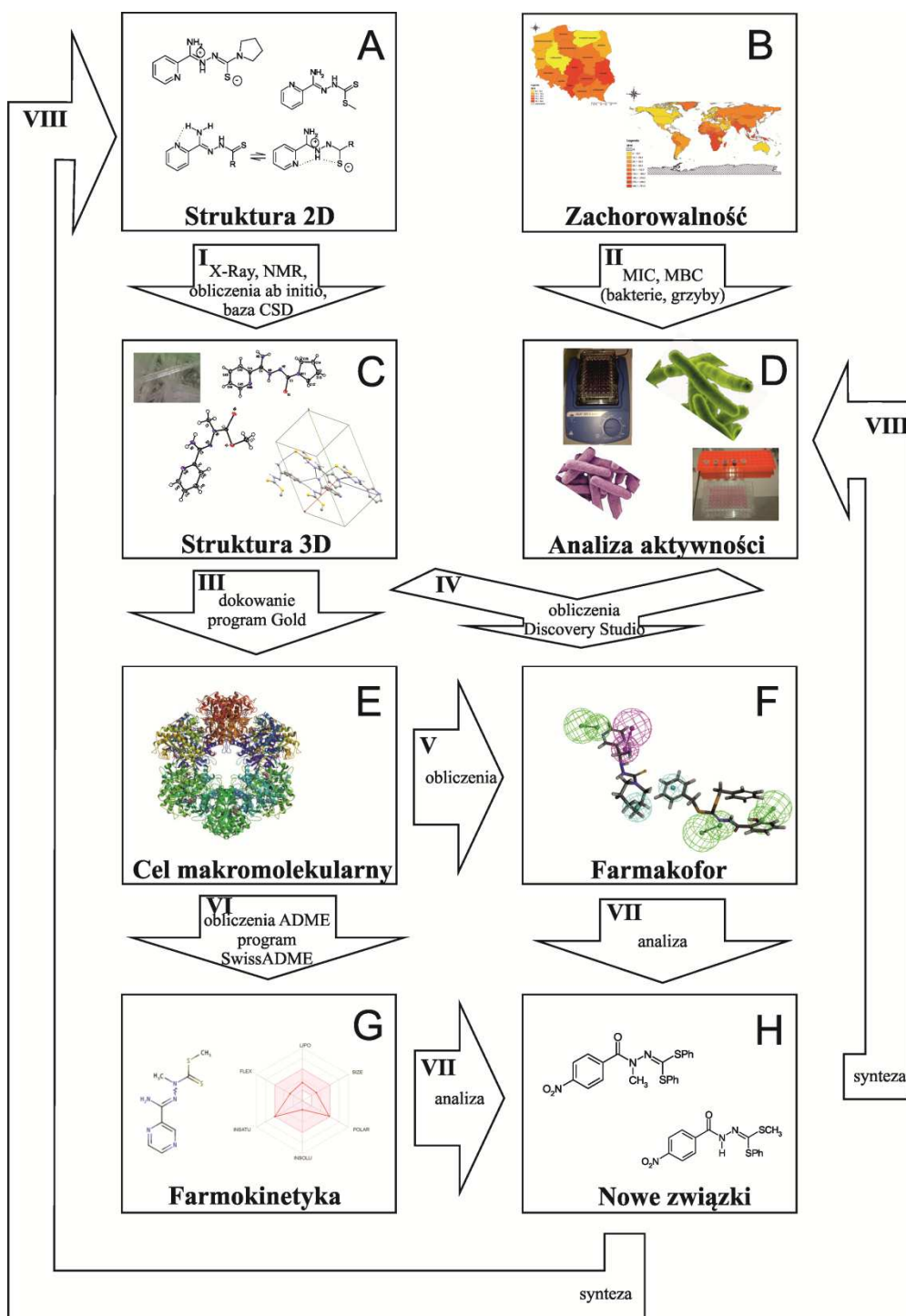
Badania strukturalne podzieliłam na kilka etapów. W ramach pierwszego określiłam struktury krystaliczne otrzymanych monokryształów. Następnie, w celu sprawdzenia ewentualnych zmian konformacyjnych związków w roztworze wykonałam pomiary NMR. Przeprowadziłam również obliczenia *ab-initio* w celu wyznaczenia konformeru o najniższej energii, wykorzystując program GAMESS [6]. Na podstawie wyników powyższych eksperymentów wykonałam porównawczą analizę konformacyjną badanych struktur, którą rozszerzyłam o struktury homologicznych związków zdeponowanych w bazie CSD (ang. The Cambridge Structural Database) [7].

Wykonałam również statystyczną analizę zachorowalności na Świecie i w Polsce wykorzystując oprogramowanie GIS firmy ESRI [3].

Badania mikrobiologiczne potwierdzające aktywność badanych związków przeprowadziłam w dwóch etapach. Pierwszy etap, wykonany w Instytucie Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie, dotyczył określenia aktywności przeciwgruźliczej, drugi natomiast, wykonałam w ramach stażu na Uniwersytecie Medycznym w Lublinie, dotyczył określenia aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej.

Po wymodelowaniu farmakoforu i przeprowadzeniu dokowania do celu makromolekularnego, którym ludzka katalaza, wykonałam analizę ADME (ang. Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion) *in silico* oraz określiłam lekopodobieństwo badanych związków.

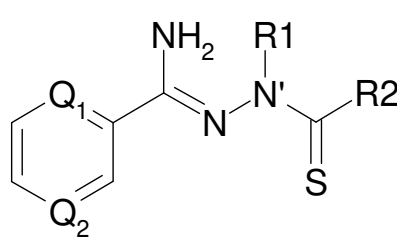
Zgłębienie strukturalnych podstaw aktywności wybranych pochodnych hydrazyny prowadziłam zgodnie z przedstawionym poniżej algorytmem (rys. 3)

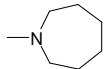
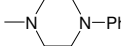


Rys. 3. Etapy projektowanie nowych związków.

Badania pochodnych amidrazonowych [H1, H2, H8]

Aktywność przeciwrzuciczą heterocyklicznych amidrazonów stwierdzono już w latach 50-tych ubiegłego wieku [8-14]. Synteza badanych strukturalnie przeze mnie związków, wykonana została przez dr hab. Katarzynę Gobis oraz prof. Henryka Foksa z Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (rys.4).

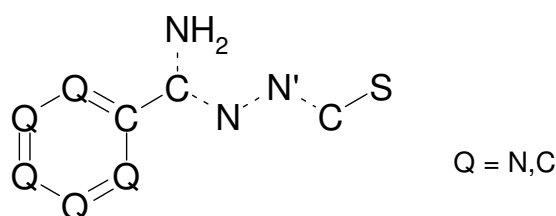


Nr	Q1	Q2	R1	R2	Dane krystalograficzne	
					Grupa przestrzenna	R1 [%]
1	N	N	Me	-S-Me		
2	N	N	Me	-S-Bz		
3	N	N	H			
4	N	N	H			
5	N	C	H		P2(1)/n	3,57
6	N	C	H	-S-Me	P2(1)/n	3,10
7	N	C	Me	-S-Me	P-1	3,50

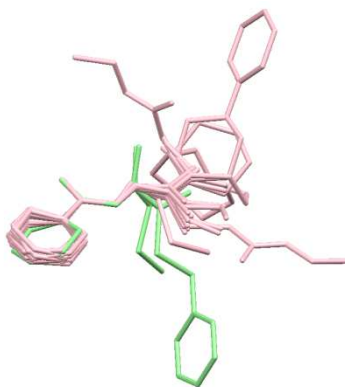
Rys.4. Badane amidrazony

Badania strukturalne

W bazie CSD [7] znajdują się 24 struktury zawierające fragment amidrazonowy (rys. 5), i wszystkie są pochodnymi pirydyny lub pirazyny, zawierającymi w pozycji N' atom wodoru (struktury oznaczone na różowo) lub grupę metylową (struktury „jasnozielone”) (rys. 6).



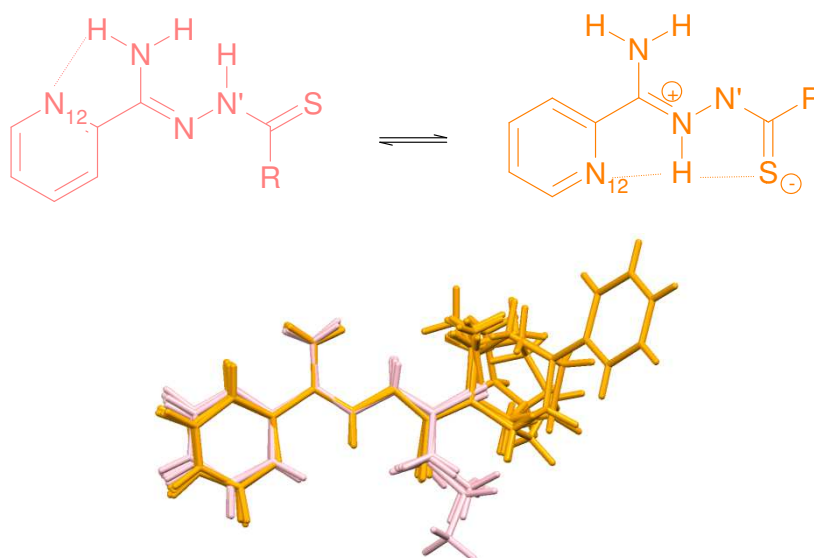
Rys.5. Fragment cząsteczki przeszukiwany w bazie CSD



Rys.6. Nałożenie 24 struktur amidrazoniowych znajdujących się w bazie CSD
(w tym sześć określonych przeze mnie)

Podstawnik w pozycji N' determinuje konformację cząsteczki. W przypadku podstawienia grupą metylową następuje skręcenie na wiązaniu N'-C skutkujące brakiem planarności całej cząsteczki. Tylko kąt torsyjny CH₃-N-C-S dla obu struktur podstawionych grupą metylową (**1**- AKEQEN, **2** - AKEQIR [H1]), jest bliski 0°.

W przypadku amidrazonów ważnym elementem strukturalnym jest możliwość tautomerii (rys.7). Zmiana pozycji atomu wodoru w różnych odmianach tautomerycznych powoduje tworzenie się innych wiązań wodorowych, a w rezultacie powstanie innego upakowania przestrzennego. W przypadku formy "zwitter-ion" występują wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe. Następuje obrót pierścienia aromatycznego, czego skutkiem jest ustawienie się atomu azotu (N12) po stronie grupy NH oraz obrót wzdłuż wiązania N-C o 180°, umożliwiając tworzenie kontaktu wodorowego pomiędzy atomem siarki, a grupą NH.



Rys.7. Tautomeria amidrazonów (związki występujące w kryształach w formie jonu obojnego – „pomarańczowe”, występujące w formie niezjonizowanej – „różowe”)

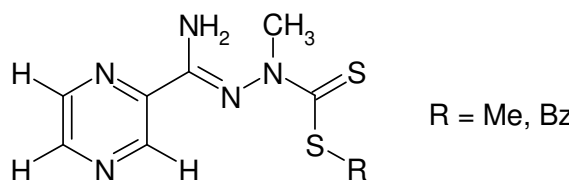
Badania mikrobiologiczne – aktywność przeciw drobnoustrojom

Ocena działania przeciwdrobnoustrojowego pochodnych hydrazynowych jest istotnym zagadnieniem z punktu widzenia poznawczego oraz możliwego zastosowania w medycynie. Wysoki stopień lekooporności i ograniczona skuteczność używanych leków jest powodem ciągłego zainteresowania nowymi związkami oraz tworzenia nowych pochodnych już istniejących mniej skutecznych substancji.

Aktywność tuberkulostatyczna

Sprawdzenie aktywności przeciw szczepom *Mycobacterium tuberculosis*: standardowym H₃₇Rv oraz wyizolowanym od pacjentów 192 (wrażliwy) i 210 (oporny) wykonane zostały w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie.

Zbadane przeze mnie pochodne amidrazonów nie wykazywały bardzo dużej aktywności. Wartość minimalnego stężenia hamującego MIC nigdy nie był niższy niż 50 µg/ml. Aktywność tuberkulostatyczna obu związków podstawionych grupą metylową (**1**, **2** - rys.8) w porównaniu do trzech wybranych szczepów *Mycobacterium tuberculosis* jest podobna do innych wcześniej badanych, niepodstawionych amidrazonów [15].

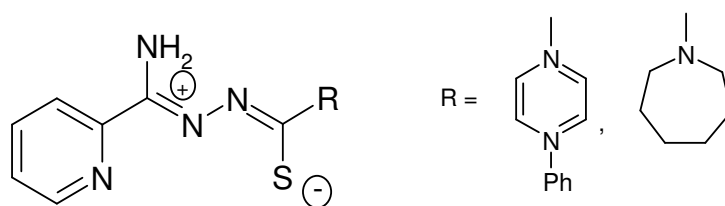


Rys.8. Wzory związków podstawionych grupą metylową w pozycji N'

Związki te nie przyjmują płaskiej formy. Wydaje się więc, że utrzymanie planarności całej cząsteczki nie jest istotne dla związków o niskiej aktywności biologicznej. Jednakże zaangażowanie hydrofilowego atomu wodoru w wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe, obserwowane w tych związkach, może ułatwiać przejście badanych cząsteczek przez hydrofobowe błony komórkowe, co może mieć z kolei wpływ na ich aktywność tuberkulostatyczną.

Jedynie związki wykazujące znaczącą aktywność przeciwgruźliczą (przy stężeniu hamującym ok. 16 µg/ml) to te, które mogły występować w postaci jonu obojnaczego i w takiej formie

były przeze mnie badane (**3,4** - rys. 9).



Rys.9. Aktywne pochodne amidrazonowe

Aktywność przeciwbakteryjna

Do badania aktywności przeciwbakteryjnej wybranych pochodnych amidrazonowych wykorzystałam szczepy wzorcowe z kolekcji mikrobiologicznych ATCC (ang. American Type Culture Collection). Badania te przeprowadziłam w czasie stażu w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. W badaniach wykorzystano 15 szczepów bakterii testowych:

- 10 szczepów bakterii Gram-dodatnich:

- 7 szczepów ziarenkowców (*S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 43300, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. pyogenes* ATCC 19615, *S. pneumoniae* ATCC 49619)
- 2 szczepy laseczek (*B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* ATCC 10876)
- 1 szczep paciorkowców (*S. mutans* ATCC 25175 *Streptococcus mutans*)

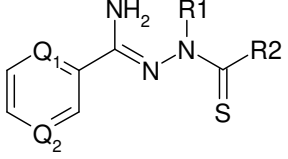
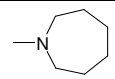
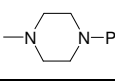
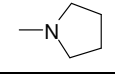
- 5 szczepów bakterii Gram-ujemnych:

- 4 z rodziny *Enterobacteriaceae* (*S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* ATCC 12453, *K. pneumoniae* ATCC 13883)
- inne (*P. aeruginosa* ATCC 9027)

Badania aktywności związków przeciw bakteriom Gram-dodatnim wykazały, że związki **3** i **4** oprócz wysokiej aktywności przeciwgruźliczej wykazują także dużą aktywność (poniżej 1 µg/ml - tab. 1). Dodatkowo dużą aktywnością charakteryzował się także związek **5** (nie

badany na prątki *Mycobacterium tuberculosis*). Związki nieaktywne posiadają grupę metylową w pozycji R1. Natomiast w pozycji R2 dla aktywnych związków znajduje się atom azotu będący częścią pierścienia niearomatycznego i związki te przyjmowały formę jonu obojnaczego. Związki **3** i **4** w odniesieniu do stosowanych antybiotyków wankomycyny i ciprofloxacyny wykazują porównywalną aktywność na bakterie Gram-dodatnie.

Tabela 1. Wartości MIC (MBC) dla badanych związków

					Bakterie Gram-dodatnie									
					<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>S. aureus</i> ATCC 43300	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>M. luteus</i> ATCC 10240	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>B. cereus</i> ATCC 10876	<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>S. mutans</i> ATCC 25175
Nr	Q 1	Q 2	R1	R2	MIC (MBC) [µg/ml]									
1	N	N	Me	-S-Me	>1000	>1000		>1000	1000	>1000				>1000
2	N	N	Me	-S-Bz	1000 (>1000)	500 (>1000)	500 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	1000 (>1000)	>1000 (>1000)	250 (>1000)	>1000 (>1000)	250 (>1000)
3	N	N	H		0,49 (7,9)	3,9 (31,25)	0,49 (0,49)	0,49 (15,6)	0,98 (7,8)	0,49 (0,49)	0,98 (3,9)	15,6 (62,5)	125 (250)	7,8 (62,5)
4	N	N	H		0,98 (1,95)	1,95 (15,6)	0,98 (15,6)	0,98 (15,6)	1,95 (1,95)	1,95 (1,95)	0,98 (0,98)	31,25 (62,5)	15,6 (62,5)	7,8 (31,25)
5	N	C	H		1,95 (125)	7,8 (250)	7,8 (250)	7,8 (62,5)	1,95 (3,9)	7,8 (250)	7,8 (250)	15,6 (500)	125 (250)	125 (125)
6	N	C	H	-S-Me	125 (500)	500 (500)	500 (500)	250 (500)	125 (250)	250 (1000)	250 (>1000)	250 (500)	500 (500)	250 (250)
7	N	C	H	-S-Me	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Vancomicin					0,98	0,49	-	0,98	0,12	0,24	0,98	0,24	0,24	0,98
Ciprofloxacin					0,49	0,24	-	0,49	0,98	0,03	0,12	-	-	-

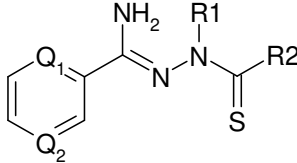
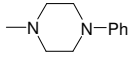
W przypadku bakterii Gram-ujemnych (*S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* ATCC 12453, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *P. aeruginosa* ATCC 9027) związki **1-7** nie wykazują znaczącej aktywności.

Aktywność przeciw drożdżom

Wybrane serie związków poddałam także badaniom na aktywność przeciw drożdżom. Do testów zostały wybrane trzy szczepy drożdży: *Candida albicans* ATCC 2091, *Candida albicans* ATCC 102231 i *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

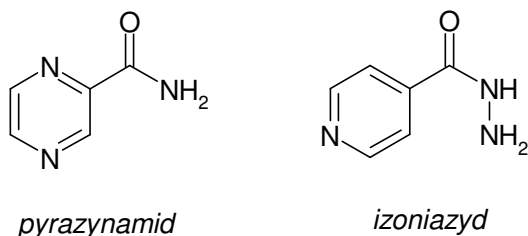
Związki **3**, **4** i **5** wykazały się znaczną aktywnością wobec wybranych szczepów drożdży, natomiast podstawienie grupą metylową przy atomie N' spowodowało niemalże całkowitą utratę aktywności, podczas gdy brak podstawnika wydaje się być warunkiem koniecznym acz niewystarczającym do wystąpienia takiej aktywności (tab.2).

Tabela 2. Wartości MIC (MBC) dla badanych związków

					Drożdże		
					<i>C. albicans</i> ATCC 2091	<i>C. albicans</i> ATCC 102231	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019
Nr	Q1	Q2	R1	R2	MIC(MBC) [µg/ml]		
1	N	N	Me	-S-Me	500	1000	1000
2	N	N	Me	-S-Bz	1000 (>1000)	1000 (>1000)	1000 (>1000)
3	N	N	H		3,9 (3,9)	7,8 (7,8)	7,8 (7,8)
4	N	N	H		7,8 (15,6)	7,8 (7,8)	7,8 (7,8)
5	N	C	H		3,9 (250)	3,9 (250)	7,8 (250)
6	C	N	H	-S-Me	125 (125)	125 (125)	250 (1000)
7	C	N	H	-S-Me	500 (1000)	500 (1000)	500 (>1000)
Fluconazole					0,25	0,98	1,95

Badania pochodnych hydrazydowych

Obiecującą grupą związków aktywnych przeciw drobnoustrojom (bakteriom) są pochodne hydrazydowe. Najbardziej znanymi związkami należącymi do tej grupy są pyrazynamid i izoniazyd, będące składnikami leków przeciwgruźliczych (rys.10) [16,17].

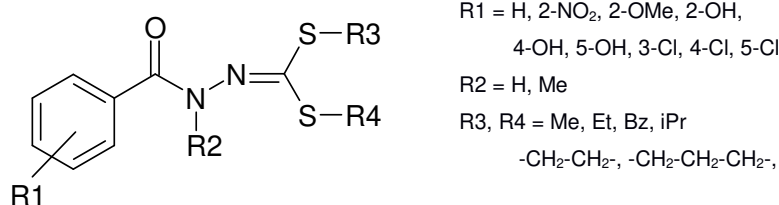


Rys.10. Wzory strukturalne pyrazynamidu oraz izoniazydu

Badane przeze mnie pochodne hydrazydowe ze względu na ich właściwości strukturalne oraz przeciwbakteryjne podzieliłam na S-estry oraz S,S-diestry.

Pochodne hydrazydowe S,S-diestrów [H3, H5-H7, H9]

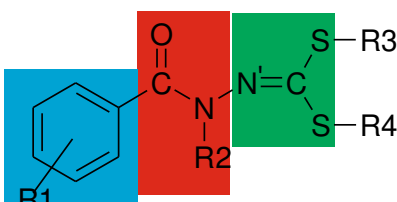
Kolejną serią związków, które poddałam badaniom strukturalnym oraz analizie przeciwbakteryjnej było 31 ditioestrów, pochodnych hydrazydowych (rys.11) [18-27, H3, H5-H7, H9].



Rys.11. Schemat analizowanych ditioestrów

Badania strukturalne

Badane pochodne hydrazydów zawierają trzy podstawowe płaskie fragmenty, których modyfikacja ma wpływ na konformację i aktywność (rys.12). Ich planarność wynika z obecności wiązań podwójnych i układów sprzężonych oraz z możliwości tworzenia wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych.

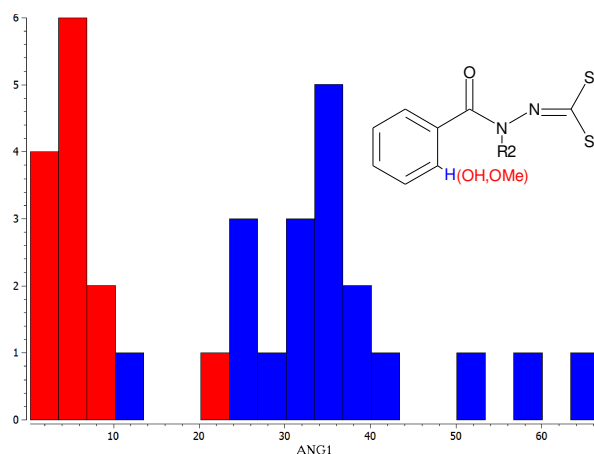
					Dane krystalograficzne	
Nr	R1	R2	R3	R4	Grupa przestrzenna	R1 [%]
8	2-NO ₂	H	Me	Me		
9	2-OH	H	Me	CH(CH ₃) ₂	Pna2(1)	3.73
10	2-OH	H	Me	Me		
11	2-OH	H	Me	Bz	P2(1)/c	4.4
12	2-OH	H	Bz	Bz	P-1	3.19
13	2,5-OH	H	Me	Me	P2(1)2(1)2(1)	2.61
14	2-OH,5-Cl	H	Me	Me	Cc	2.82
15	2-OH,5-Cl	H	Bz	Bz	P2/n	2.98
16	3,4-Cl ₂	H	Me	Me	P2(1)	2.9
17	3,4-Cl ₂	H	iPr	iPr	Pbca	4.3
18	3,4-Cl ₂	H	n-C ₁₀ H ₂₁	n-C ₁₀ H ₂₁		
19	3,4-Cl ₂	H	Bz	Bz	C2/c	3.0
20	3,4-Cl ₂	H	Me	Bz	P2(1)/c	5.68
21	4-NO ₂	H	Me	Me	P2(1)/c	4.11
22	4-NO ₂	H	Me	Bu	P2(1)/c	7.93
23	4-NO ₂	H	Me	Bz	P2(1)/n	4.3
24	4-NO ₂	H	Me	n-C ₁₀ H ₂₁		
25	4-NO ₂	H	-CH ₂ -CH ₂ -		P2(1)/c	2,8
26	2-OH	H	-CH ₂ -CH ₂ -			
27	2-OH	H	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -		P2(1)/c	5,3
28	3,4-Cl ₂ -Ph	H	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -		P2(1)/c	7,08
29	3,4-Cl ₂	Me	Me	Me	P-1	3,43
30	3,4-Cl ₂	Me	Bz	Bz	P2(1)/c	7.6
31	4-NO ₂	Me	Me	Me	P2(1)/n	2.63
32	4-NO ₂	Me	Bz	Bz	P2(1)/c	3.4
33	3,4-Cl ₂	Me	-CH ₂ -CH ₂ -		P2(1)/c	3,7
34	4-NO ₂	Me	-CH ₂ -CH ₂ -		P2(1)2(1)2(1)	2,3
35	4-NO ₂	Me	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -			

Rys.12. Schemat ditioestrów

Pierwszy płaski fragment związku to pierścień aromatyczny (przedstawiony na niebieskiej płaszczyźnie - rys. 12)

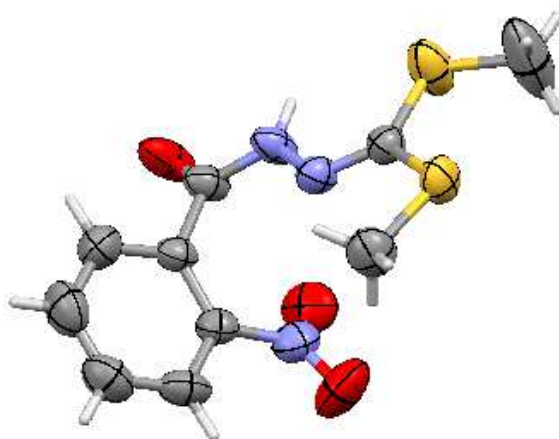
Wpływ na orientację pierścienia względem reszty cząsteczki ma zarówno rodzaj, jak i miejsce podstawnika R1 w pierścieniu oraz podstawienie atomem azotu (w pochodnych "-aza"). Podstawnik R1 ma istotny wpływ na skęcenie pierścienia w stosunku do płaszczyzny grupy amidowej. Na skęcenie pierścienia względem pozostałej części cząsteczki ma wpływ

również podstawnik przy N. W związkach niepodstawionych ($R_2=H$), zawierających grupę hydroksylową lub grupę metoksyłową w pozycji *orto* pierścienia aromatycznego, tworzą się wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe z grupą NH. Wiązanie to wymusza zachowanie płaskiej formy tego fragmentu cząsteczki (rys.13). W pozostałych związkach, zawierających wodór w pozycji *orto* pierścienia aromatycznego, wobec braku wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych, następuje skrócenie pierścienia względem grupy amidowej.



Rys.13. Histogram kąta pomiędzy pierścieniem a płaszczyzną zawierającą fragment $O=C-N$
(27 struktur z CSD w tym 14 zbadanych przeze mnie)

Tylko jeden związek (**8** - QUDMUZ [19] - rys.14) wykazuje duży kąt między płaszczyzną pierścienia, a płaszczyzną grupy amidowej (58°) oraz konformację *syn* na wiązania $(O=)C-N(-R_2)$. W tym przypadku duże skrócenie jest spowodowane obecnością grupy nitrowej w pozycji *orto* pierścienia aromatycznego, która wymusza skrócenie ze względu na przestrzenne zatłoczenie (rys.14). Związek ten ze względu na konformację *syn* tworzy dimery stabilizowane wiązaniami wodorowymi typu $NH\cdots O$.

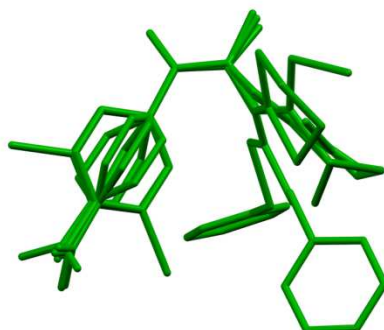


Rys.14. Struktura związku **8** - QUDMUZ (wykonana w programie Mercury [28])

Decydujący wpływ na konformację tego fragmentu cząsteczki ma podstawnik metylowy w pozycji R2, a nie podstawniki w pierścieniu.

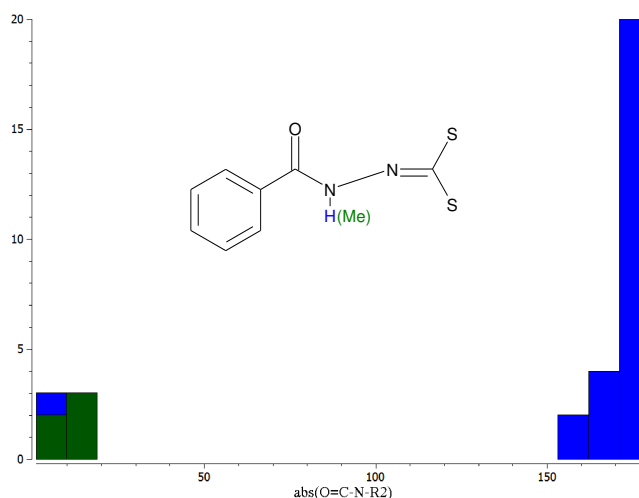
Drugi płaski fragment (amidowy) wyznaczający „czerwoną płaszczyznę” - rys. 12

Jednym z czynników wpływających na ogólną budowę badanych cząsteczek to podstawienie grupą metylową (R2) przy atomie azotu. To podstawienie określa konformację wokół wiązania N-C (*syn/anti*). Związki zawierające w pozycji R2 podstawnik metylowy w stanie krystalicznym przyjmują konformację *syn* na wiązaniu O=C-N-R2, co oznacza preferencję dla konformacji „zgiętej” (rys. 15, 16). W przypadku grupy metylowej (R2) skrócenie pierścienia jest powyżej 45° (zakres 47,4 – 66,8°).



Rys.15. Nałożenie struktur zawierającą grupę metylową w pozycji R2

Związki niepostawione przy azocie amidowym (R2=H) przyjmują konformację *anti*, oprócz związku QUDMUZ opisanego wcześniej (rys.14).

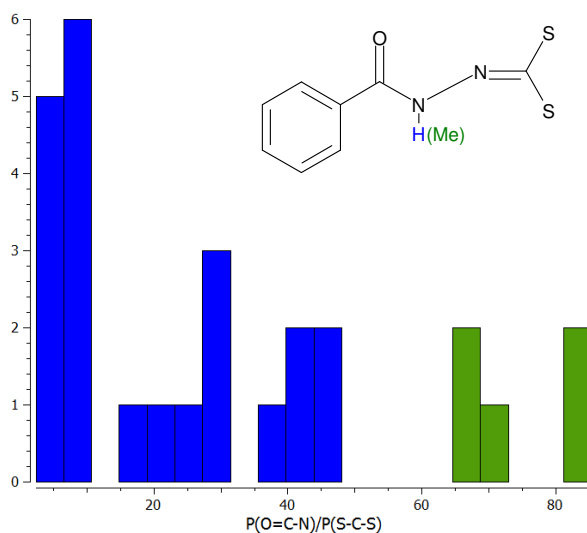


Rys.16. Histogram kąta torsyjnego O=C-N-R2
(27 struktur z CSD w tym 14 zbadanych przeze mnie)

Konformacja najbardziej aktywnego związku **21** ($R_1=4\text{-NO}_2$, $R_2=\text{H}$, $R_{3,4}=\text{Me}$.) była zoptymalizowana za pomocą metod opartych na teorii funkcjonału gęstości (DFT). Końcowa geometria (dla konformacji *anti*) była bardzo podobna do tej znalezionej w stanie krystalicznym. Dodatkowo cząsteczkę zmodyfikowałam do konformacji *syn* i zoptymalizowałam za pomocą tej samej metody. Minimalna energia dla tej konformacji ($\text{O}=\text{C}-\text{N}-\text{H}$ kąt torsyjny po optymalizacji wynosi 4.7°) jest prawie taka sama (tylko 1 kcal mol^{-1} niższa), co sugeruje, że wśród dwóch energetycznie równoważnych konformacji *syn* / *anti*, ta ostatnia jest korzystniejsza w stanie krystalicznym ze względu na oddziaływania międzycząsteczkowe.

Trzeci płaski fragment to układ tiokarbonylowy (przedstawiony na „zielonej płaszczyźnie” - rys. 12)

Skręcenie tego fragmentu zależy jak poprzednio od rodzaju podstawnika R_2 (rys.12). Dla związków zawierających grupę metylową kąt skrzywienia jest powyżej 65° (rys.17).

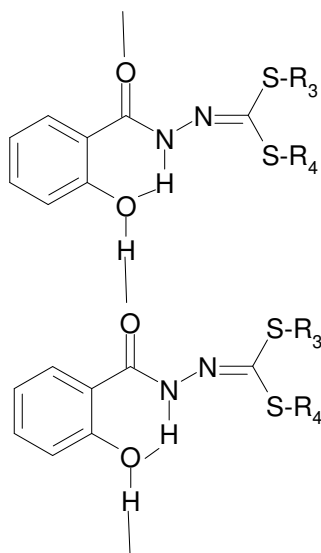


Rys.17. Histogram kąta pomiędzy płaszczyznami układów amidowego i tiokarbonylowego (27 struktur z CSD w tym 14 zbadanych przeze mnie)

Wiązania wodorowe

Schemat wiązań wodorowych w analizowanej serii związków zależy przede wszystkim od rodzaju podstawnika w pozycji *orto* pierścienia aromatycznego.

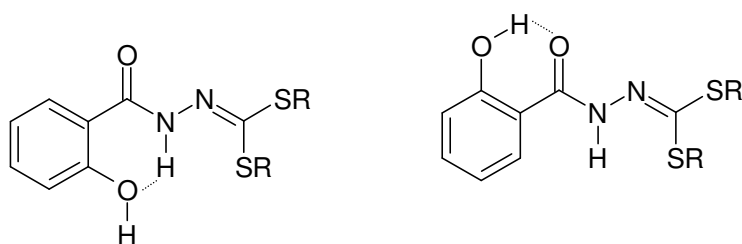
W związkach zawierających grupę hydroksylową (rys.18) wiązania wodorowe tworzą łańcuch (za pomocą wiązań typu O-H...O(=C)) oraz wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe typu N-H...O(H) [22-24,26, H6].



Rys.18. Schemat wiązań wodorowych dla związków z podstawnikiem hydroksylowym

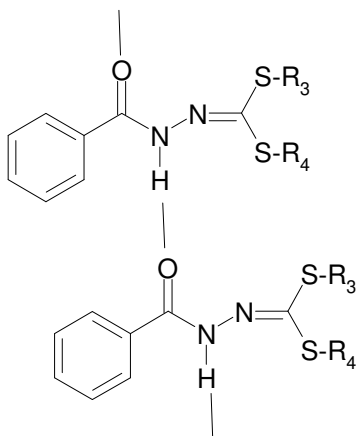
W dwóch związkach z grupą hydroksylową w położeniu *orto*, w strukturę wbudował się rozpuszczalnik. W przypadku związku o podstawieniu R1=2-OH, R2=H oraz R3,R4=Me (**10**) jest to izopropanol. Związek ma ten sam schemat wiązań wodorowych, co wyżej opisane, a ponadto pojawia się wiązanie wodorowe z rozpuszczalnikiem. W przypadku związku o podstawieniu R1=2-OH, R2=H oraz R3,R4=Bz (**12**) występuje zupełnie inny schemat wiązań wodorowych. Cztery cząsteczki (dwie cząsteczki związku i dwie rozpuszczalnika – izopropanolu) tworzą pierścień za pomocą wiązań wodorowych.

Wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe (N-H ... O) pozostawia wolną zarówno grupę karbonylową (jako akceptor), jak i grupę hydroksylową (jako donor). Te dwie grupy znajdują się w przeciwległych miejscach cząsteczek, co umożliwia utworzenie międzycząsteczkowego wiązania wodorowego prowadzącego do powstania w kryształach łańcuchów cząsteczek. Obliczenia kwantowe wskazują, że dla wyizolowanej cząsteczki konformacja z wewnątrzcząsteczkowym wiązaniem wodorowym OH ... O jest bardziej stabilna niż w przypadku wiązania wodorowego NH ... O (rys.19). Różnica w energii tych dwóch konformacji jest stosunkowo wysoka i wynosi, w zależności od wybranych funkcji bazowych, 4,8 kcal / mol (6-311G (d, p)) lub 5,7 kcal / mol (cc-pVTZ).



Rys.19. Schemat wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych dla związków z podstawnikiem hydroksylowym

Siedem związków niepodstawionych w pozycji *orto*, tworzy ten sam schemat wiązań wodorowych typu N-H...O (rys.20), dających łańcuchy o grafie wodorowym C(4) (według Etter i Berstaina [29]).



Rys.20. Schemat wiązań wodorowych

Dwa kolejne związki, **19** - WAWTOF ($R_1=3,4\text{-Cl}$, $R_2=\text{H}$ oraz $R_3,R_4=\text{Bz}$) [H3] oraz DUVHUY ($R_1=4\text{-OMe}$, $R_2=\text{H}$ oraz $R_3,R_4=\text{Bz}$) [30], posiadające większe grupy (benzylowe) w pozycji R_3 i R_4 nie tworzą silnych wiązań wodorowych, podobnie jak związki podstawione grupą metylową w pozycji R_2 .

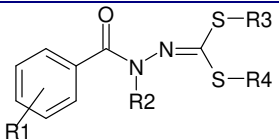
Badania mikrobiologiczne – aktywność przeciw drobnoustrojom

Badania pochodnych hydrazydowych na aktywność przeciw mikroorganizmom wykonałam na tych samych szczepach.

Aktywność tuberkulostatyczna

Istotnym elementem do zaistnienia aktywności tuberkulostatycznej pochodnych hydrazydowych wydawała się możliwość przyjęcia płaskiej konformacji przez dany związek. Wyższą aktywność wykazują związki z małymi podstawnikami (np. grupą metylową) w pozycji R3 i R4. Większe grupy tj. benzylowa czy propylowa powodują gwałtowny spadek aktywności (tab. 3). Natomiast podstawienie grupą metylową pozycji R2 powoduje całkowity zanik aktywności.

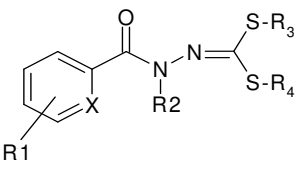
Tabela 3. Wartości MIC dla badanych związków

					<i>Mycobacterium tuberculosis</i>		
					H ₃₇ Rv	192	210
Nr	R1	R2	R3	R4	MIC [µg/ml]		
8	2-NO ₂	H	Me	Me	25	50	50
9	2-OH	H	Me	CH(CH ₃) ₂	25	25	25
10	2-OH	H	Me	Me	-	-	-
11	2-OH	H	Me	Bz	25	25	25
12	2-OH	H	Bz	Bz	25	25	25
13	2,5-OH	H	Me	Me	25	50	50
14	2-OH,5-Cl	H	Me	Me	25	25	25
15	2-OH,5-Cl	H	Bz	Bz	25	25	25
16	3,4-Cl ₂	H	Me	Me	6,2	3,1	12,5
17	3,4-Cl ₂	H	iPr	iPr	50	25	50
18	3,4-Cl ₂	H	n-C ₁₀ H ₂₁	n-C ₁₀ H ₂₁	50	50	50
19	3,4-Cl ₂	H	Bz	Bz	50	50	50
20	3,4-Cl ₂	H	Me	Bz	12,5	12,5	25
21	4-NO ₂	H	Me	Me	3,1	3,1	25
22	4-NO ₂	H	Me	Bu	25	6,2	50
23	4-NO ₂	H	Me	Bz	50	12,5	25
24	4-NO ₂	H	Me	n-C ₁₀ H ₂₁	50	12,5	25
25	4-NO ₂	H	-CH ₂ -CH ₂ -		50	25	50
26	2-OH	H	-CH ₂ -CH ₂ -		25	25	12,5
27	2-OH	H	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -		-	-	-
28	3,4-Cl ₂ -Ph	H	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -				
29	3,4-Cl ₂	Me	Me	Me	50	50	50
30	3,4-Cl ₂	Me	Bn	Bn	50	50	50
31	4-NO ₂	Me	Me	Me	50	50	50
32	4-NO ₂	Me	Bn	Bn	-	-	-
33	3,4-Cl ₂	Me	-CH ₂ -CH ₂ -		100	50	50
34	4-NO ₂	Me	-CH ₂ -CH ₂ -		100	50	50
35	4-NO ₂	Me	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -		50	50	50

Aktywność przeciw bakteriom Gram-dodatnim

Związki przebadalam również na aktywność przeciw bakteriom Gram-dodatnim (wyniki w tabeli 4). Pierwsze badania wykazały, że największy wpływ na aktywność badanych szczepów ma podstawienie pierścienia w pozycji *orto* grupą hydroksylową. Mogłoby to oznaczać, że tak jak w przypadku tuberkulostatyków ważną rolę pełni płaska forma cząsteczki lub możliwość tworzenia wiązań wodorowych. Jednak jeden ze związków (OP26) znacząco odbiegał wartościami aktywności od pozostałych związków. Zmotywowało to mnie do powiększenia tej serii związków w celu określenia cech strukturalnych badanych substancji wpływających na ich aktywność. Wykonanie analizy dla większej serii uwidocznilo drugi niezbędny element wpływający na aktywność tych związków. Oprócz grupy hydroksylowej ważny jest też podstawnik przy atomie siarki. Im większy jest ten podstawnik tym aktywniejszy związek. Małe grupy powodują spadek aktywności, natomiast dla większych grup, takich jak benzyłowa czy izopropylowa, obserwowany jest wzrost aktywności. Podstawienie grupą metylową atomu azotu (w pozycji R2) powoduje spadek aktywności.

Tabela 4. Wartości MIC (MBC) dla badanych związków

					Bakterie Gram-dodatnie									
					<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>S. aureus</i> ATCC 43300	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>M. luteus</i> ATCC 10240	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>B. cereus</i> ATCC 10876	<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>S. mutans</i> ATCC 25175
Nr	R1	R2	R3	R4	MIC (MBC) [µg/ml]									
8	2-NO ₂	H	Me	Me	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)
9	2-OH	H	Me	Me	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)
10	2-OH	H	Me	CH(CH ₃) ₂	15,6 (>1000)	15,6 (>1000)	15,6 (>1000)	125 (>1000)	15,6 (>1000)	15,6 (1000)	15,6 (>1000)	250 (>1000)	250 (1000)	125 (1000)
11	2-OH	H	Me	Bz	3,9 (1000)	7,8 (500)	7,8 (1000)	7,8 (500)	7,8 (500)	7,8 (15,6)	7,8 (31,25)	62,5 (>1000)	62,5 (1000)	62,5 (1000)
12	2-OH	H	Bz	Bz	0,49 (>1000)	0,98 (>1000)	0,98 (>1000)	0,98 (>1000)	0,98 (>1000)	0,98 (31,25)	0,98 (>1000)	>1000 (>1000)	62,5 (1000)	1000 (1000)
13	2,5-OH	H	Me	Me	1000 (>1000)	1000 (>1000)	1000 (>1000)	500 (>1000)	500 (>1000)	250 (>1000)	500 (>1000)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)
14	2-OH,5-Cl	H	Me	Me	125 (>1000)	125 (>1000)	500 (>1000)	250 (>1000)	500 (>1000)	125 (>1000)	250 (>1000)	125 (>1000)	125 (>1000)	125 (>1000)
15	2-OH,5-Cl	H	Bz	Bz	0,49 (7,8)	0,49 (7,8)	0,49 (7,8)	1,95 (7,8)	0,49 (7,8)	0,98 (7,8)	0,98 (7,8)	15,6 (500)	7,8 (250)	15,6 (125)
16	3,4-Cl ₂	H	Me	Me	>1000	>1000	-	>1000	1000	>1000	>1000	-	-	-
17	3,4-Cl ₂	H	iPr	iPr	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	250 (250)	>1000 (>1000)
18	3,4-Cl ₂	H	n-C ₁₀ H ₂₁	n-C ₁₀ H ₂₁	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	3,4-Cl ₂	H	Bz	Bz	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	125 (125)	>1000 (>1000)
20	3,4-Cl ₂	H	Me	Bz	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	1000 (1000)	>1000 (>1000)
21	4-NO ₂	H	Me	Me	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	1000 (>1000)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)
22	4-NO ₂	H	Me	Bu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	4-NO ₂	H	Me	Bz	>1000	>1000	>1000	>1000	1000	500	>1000	>1000	>1000	>1000
24	4-NO ₂	H	Me	n-C ₁₀ H ₂₁	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	250 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)
25	4-NO ₂	H	-CH ₂ - CH ₂ -		>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	1000 (>1000)	>1000 (>1000)	500 (>1000)	500 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)
26	2-OH	H	-CH ₂ - CH ₂ -		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	2-OH	H	-CH ₂ - CH ₂ - CH ₂ -		125 (>1000)	250 (>1000)	125 (>1000)	125 (>1000)	250 (>1000)	125 (250)	250 (>1000)	250 (250)	1000 (1000)	1000 (1000)
28	3,4-Cl ₂ -Ph	H	-CH ₂ - CH ₂ - CH ₂ -		>1000	>1000	>1000	>1000	1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
29	3,4-Cl ₂	Me	Me	Me	1000	>1000	-	>1000	500	>1000	>1000	-	-	-
30	3,4-Cl ₂	Me	Bn	Bn	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	125 (500)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)
31	4-NO ₂	Me	Me	Me	500	>1000	-	500	500	500	>1000	-	-	-
32	4-NO ₂	Me	Bn	Bn	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	3,4-Cl ₂	Me	-CH ₂ - CH ₂ -		1000 (>1000)	1000 (>1000)	1000 (>1000)	>1000 (>1000)	250 (>1000)	500 (>1000)	1000 (>1000)	500 (500)	500 (500)	500 (1000)
34	4-NO ₂	Me	-CH ₂ - CH ₂ -		>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
35	4-NO ₂	Me	-CH ₂ - CH ₂ - CH ₂ -		>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)	>1000 (ND)
Vancomycin					0,98	0,49	-	0,98	0,12	0,24	0,98	0,24	0,24	0,98
Ciprofloxacin					0,49	0,24	-	0,49	0,98	0,03	0,12	-	-	-

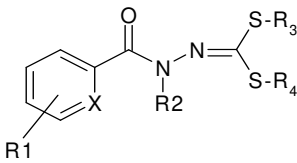
Aktywność przeciw bakteriom Gram-ujemnym

Badane związki (**8-35**) nie wykazywały aktywności przeciw bakteriom Gram-ujemnym (*S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* ATCC 12453, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *P. aeruginosa* ATCC 9027).

Aktywność – względem drożdży

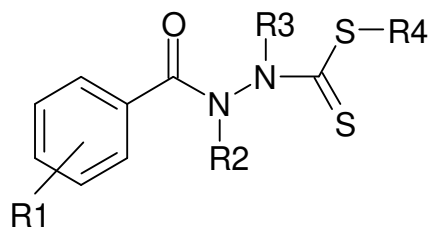
Badane związki wykazują niewielką aktywność przeciw drożdżom i nie zależy ona od podstawnika przy pierścieniu, natomiast zależy od wielkości podstawników przy atomach siarki, przy czym im większa grupa tym lepsza aktywność (tab.5).

Tabela 5. Wartości MIC (MBC) dla badanych związków

					Drożdże		
					<i>C. albicans</i> ATCC 2091	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019
Nr	R1	R2	R3	R4	MIC (MBC) [µg/ml]		
8	2-NO ₂	H	Me	Me	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)
9	2-OH	H	Me	Me	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)
10	2-OH	H	Me	CH(CH ₃) ₂	1000 (>1000)	>1000 (>1000)	1000 (1000)
11	2-OH	H	Me	Bz	125 (1000)	125 (1000)	7,8 (1000)
12	2-OH	H	Bz	Bz	1000 (1000)	250 (500)	250 (1000)
13	2,5-OH	H	Me	Me	1000 (>1000)	1000 (>1000)	1000 (>1000)
14	2-OH,5-Cl	H	Me	Me	1000 (1000)	>1000 (>1000)	1000 (>1000)
15	2-OH,5-Cl	H	Bz	Bz	125 (1000)	1000 (>1000)	>1000 (>1000)
16	3,4-Cl ₂	H	Me	Me	1000	1000	500
17	3,4-Cl ₂	H	iPr	iPr	250 (>1000)	125 (>1000)	250 (>1000)
18	3,4-Cl ₂	H	n-C ₁₀ H ₂₁	n-C ₁₀ H ₂₁	-	-	-
19	3,4-Cl ₂	H	Bz	Bz	250 (>1000)	125 (1000)	125 (>1000)
20	3,4-Cl ₂	H	Me	Bz	250 (>1000)	125 (>1000)	62,5 (1000)
21	4-NO ₂	H	Me	Me	1000 (>1000)	>1000 (>1000)	1000 (>1000)
22	4-NO ₂	H	Me	Bu	-	-	-
23	4-NO ₂	H	Me	Bz	-	-	-
24	4-NO ₂	H	Me	n-C ₁₀ H ₂₁	250 (1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)
25	4-NO ₂	H	-CH ₂ - CH ₂ -		1000 (>1000)	1000 (>1000)	500 (>1000)
26	2-OH	H	-CH ₂ - CH ₂ -		-	-	-
27	2-OH	H	-CH ₂ - CH ₂ - CH ₂ -		250 (1000)	500 (1000)	15,6 (500)
28	3,4-Cl ₂ -Ph	H	-CH ₂ - CH ₂ - CH ₂ -		>1000	>1000	>1000
29	3,4-Cl ₂	Me	Me	Me	1000		1000
30	3,4-Cl ₂	Me	Bn	Bn	250 (1000)	>1000 (>1000)	250 (>1000)
31	4-NO ₂	Me	Me	Me	125	125	125
32	4-NO ₂	Me	Bn	Bn	-	-	-
33	3,4-Cl ₂	Me	-CH ₂ - CH ₂ -		500 (1000)	500 (1000)	15,6 (500)
34	4-NO ₂	Me	-CH ₂ - CH ₂ -		1000 (1000)	1000 (1000)	500 (1000)
35	4-NO ₂	Me	-CH ₂ - CH ₂ - CH ₂ -		125 (1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)
Fluconazole					0,25	0,98	1,95

Pochodne hydrazydowe S-estrów [H4, H9]

Do badań korelacji struktura-aktywność w kolejnej serii pochodnych hydrazydowych S-estrów wykorzystałam 9 posiadanych związków (rys. 21).

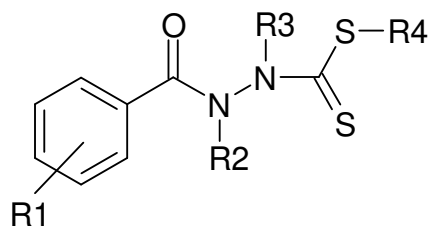


Nr	R1	R2	R3	R4	Dane krystalograficzne	
					Grupa przestrzenna	R1 [%]
36	4-NO ₂ -Ph	H	H	Me	P2(1)/c	5,38
37	2-OH	H	H	Me	P2(1)/c	6,96
38	2-OH,5-Cl	H	H	Me		
39	3,4-Cl ₂ -Ph	H	Me	Me	P2(1)/c	3,36
40	3,4-Cl ₂ -Ph	H	Me	Bu	P2(1)/n	2,39
41	3,4-Cl ₂ -Ph	H	Me	n-C ₁₀ H ₂₁		
42	3,4-Cl ₂ -Ph	H	Me	Bz	P2(1)/c	7,9
43	o-OH	H	Me	Bz	P2(1)	2,44
44	2-OH,5-Cl	H	Me	CH(CH ₃) ₂	P2/n	3,46

Rys.21. Schemat analizowanych tioestrów

Badania strukturalne

W bazie CSD znajduje się 10 związków (w tym zbadanych przeze mnie 3 związki [H4]) pochodnych hydrazydowych S-estrów (rys.22) [7].

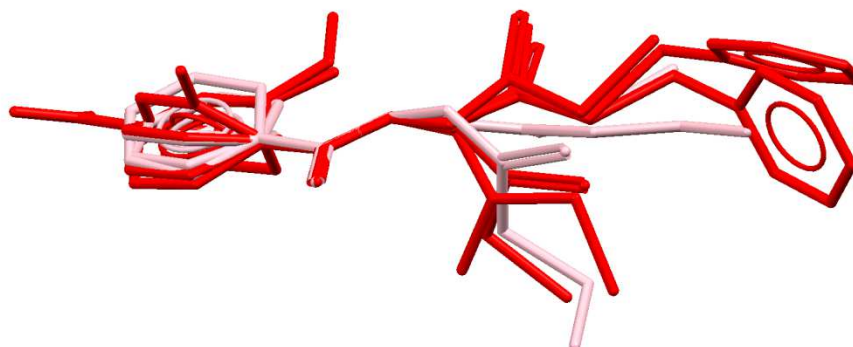


Rys.22. Schemat S-estrów

Konformacja tych związków zależy przede wszystkim od rodzaju podstawnika R3.

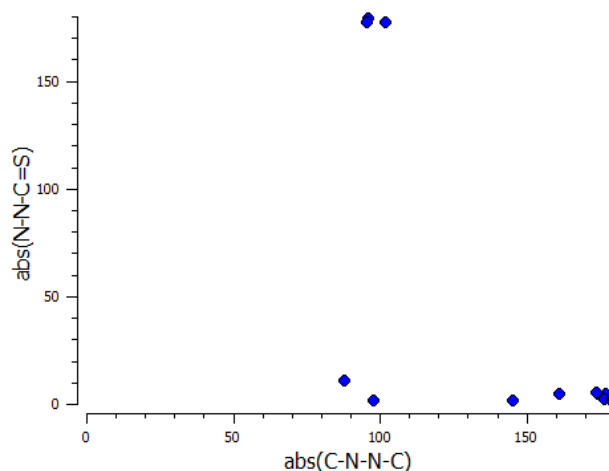
Związki niepodstawione w pozycjach R2, R3

Z 9 związków podstawionych wodorem w pozycji R2 i R3 w bazie CSD znajduje się 8 (rys.23).



Rys.23. Nałożenie struktur podstawionych wodorem w pozycji R3 (związki „czerwone” fenylopo pochodne, „różowe” heterocykliczne)

W odróżnieniu od serii S,S-diestrów, pochodne S-estrowe wykazują większą swobodę obrotu wokół wiązania N-N, zaś kąt torsyjny C-N-N-C zawiera się pomiędzy 87 a 180°. Także kolejny kąt torsyjny N-N-C=S jest bardzo ważny dla upakowania cząsteczek tej serii związków. Istotnym elementem wpływającym na aktywność związku wydaje się położenia atomu siarki (rys. 24).



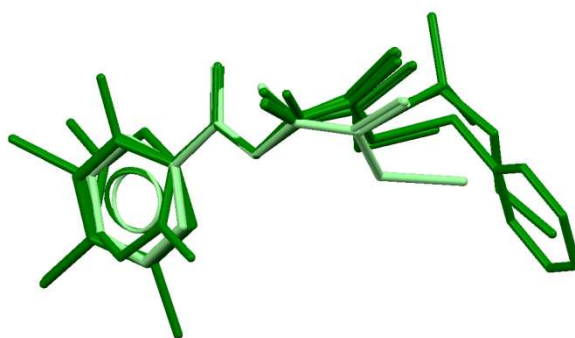
Rys.24. Wykres zależności kątów torsyjnych N-N-C=S od C-N-N-C

Atom wodoru przy azocie ustawia się po tej samej stronie co atom siarki (kąt torsyjny H-N-C=S jest bliski 0°) tylko w przypadku, gdy następuje skręcenie na wiązaniu N-N. Częsteczki, w których jest skręcenie na wiązaniu N-N, mogą przyjmować kąt torsyjny H-N-C=S zarówno bliski 0° jak i 180° .

W analizowanych związkach najczęściej występują wiązania wodorowe typu (C=O)···H-N, tworzące łańcuch cząsteczek.

Związki podstawione w pozycji R2 lub R3

Dla serii związków zawierających grupę metylową w położeniu R3 mamy do czynienia z mniejszą różnorodnością konformacyjną (rys. 25).



Rys.25. Nałożenie struktur podstawionych grupą metylową w pozycji R3 („ciemnozielony” związki fenylopo pochodne, „jasnozielony” heterocykliczne)

Wszystkie zbadane związki (6 struktur) są „skręcone” na wiązaniu N-N, a grupa metylowa znajduje się po tej samej stronie co siarka z układu C=S.

Wiązania wodorowe

Równolegle ustawione cząsteczki tworzą łańcuch za pomocą wiązań wodorowych typu (C=O)···H-N, (graf - C(4)). W przypadku związków **43** i **44** dodatkowo tworzą się wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe z grupą hydroksylową w pozycji *orto* pierścienia.

Co ciekawe, to dla struktury **43** tworzy się wiązanie wodorowe z grupą karbonylową, natomiast dla **44** z grupą aminową.

Badania mikrobiologiczne – aktywność przeciw drobnoustrojom

Aktywność tuberkulostatyczna

Żaden ze związków tej serii nie wykazywał zadawalającej aktywności tuberkulostatycznej. Wartości MIC dla wszystkich związków i szczepów wynosiły 50 lub 100 µg/ml.

Aktywność przeciw bakteriom Gram-dodatnim.

W przeciwieństwie do braku aktywności na *Mycobacterium tuberculosis*, wszystkie te związki wykazywały aktywność przeciw pozostałym przebadanym bakteriom Gram-dodatnim (tab.6). W odróżnieniu od poprzednich serii dużą aktywność wykazują związki posiadające grupę metylową przy atomie N'. Wpływ na aktywność ma także podstawnik przy atomie siarki, przy czym jak zwykle im jest on większy tym wyższa jest aktywność związku.

Tabela 6. Wartości MIC (MBC) dla badanych związków

					Bakterie Gram-dodatnie									
					<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>S. aureus</i> ATCC 43300	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>M. luteus</i> ATCC 10240	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>B. cereus</i> ATCC 10876	<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>S. mutans</i> ATCC 25175
Nr kryst	R1	R2	R3	R4	MIC (MBC) [µg/ml]									
36	4-NO ₂ -Ph	H	H	Me	250 (>1000)	125 (>1000)	125 (>1000)	250 (>1000)	125 (1000)	250 (1000)	250 (>1000)	500 (1000)	500 (500)	1000 (1000)
37	2-OH	H	H	Me	62,5 (1000)	15,6 (1000)	62,5 (1000)	62,5 (1000)	125 (500)	62,5 (250)	250 (>1000)	1000 (1000)	500 (500)	1000 (1000)
38	2-OH,5-Cl	H	H	Me	31,3 (125)	31,3 (62,5)	31,3 (62,5)	31,3 (125)	31,3 (125)	125 (250)	62,5 (500)	500 (>1000)	125 (250)	500 (>1000)
39	3,4-Cl ₂ -Ph	H	Me	Me	15,6 (>1000)	31,25 (>1000)	31,25 (>1000)	31,25 (1000)	31,25 (>1000)	7,8 (125)	31,25 (>1000)	125 (125)	125 (125)	125 (125)
40	3,4-Cl ₂ -Ph	H	Me	Bu	1,95 (15,6)	1,95 (15,6)	1,95 (7,9)	3,9 (7,9)	1,95 (7,9)	0,98 (1,95)	1,95 (7,9)	15,6 (250)	15,6 (62,5)	15,6 (62,5)
41	3,4-Cl ₂ -Ph	H	Me	n-C ₁₀ H ₂₁	3,9 (250)	7,8 (500)	3,9 (62,5)	>1000 (>1000)	31,25 (1000)	3,9 (125)	3,9 (62,5)	31,25 (125)	31,25 (125)	1000 (1000)
42	3,4-Cl ₂ -Ph	H	Me	Bz	1,95 (125)	1,95 (125)	1,95 (62,5)	1,95 (7,8)	1,95 (62,5)	1,95 (7,8)	1,95 (125)	31,3 (>1000)	15,6 (31,3)	31,3 (>1000)
43	o-OH	H	Me	Bz	3,9 (31,3)	3,9 (62,5)	3,9 (31,3)	7,8 (15,6)	7,8 (62,5)	7,8 (15,6)	7,8 (500)	31,3 (500)	31,3 (62,5)	62,5 (>1000)
44	2-OH,5-Cl	H	Me	CH(CH ₃) ₂	1,95 (62,5)	1,95 (31,3)	3,9 (31,3)	3,9 (31,3)	3,9 (31,3)	3,9 (3,9)	1,95 (250)	15,6 (500)	15,6 (125)	15,6 (500)
Vancomycin					0,98	0,49			0,12	0,24	0,98	0,24	0,24	0,98
Ciprofloxacin					0,49	0,24		0,49	0,98	0,03	0,12			

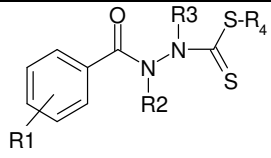
Aktywność przeciw bakteriom Gram-ujemnym

Związki tej serii nie wykazują aktywności na analizowane bakterie Gram-ujemne. Wartości MIC wynosiły od 250 do >1000 µg/ml.

Aktywność przeciw drożdżom

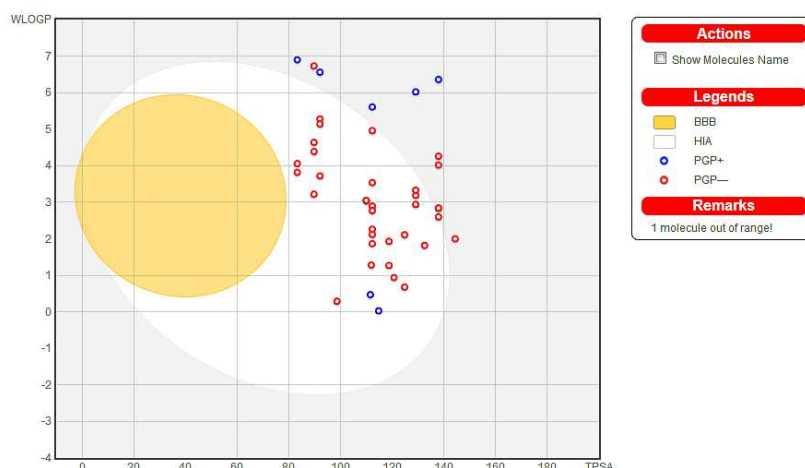
Wszystkie związki tej serii wykazują średnią lub małą aktywność przeciw badanym grzybom (tab.7).

Tabela 7. Wartości MIC (MBC) dla badanych związków

					Drożdże		
					<i>C. albicans</i> ATCC 2091	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019
Nr	R1	R2	R3	R4	MIC (MBC) [µg/ml]		
36	4-NO ₂ -Ph	H	H	Me	500 (>1000)	1000 (>1000)	15,6 (1000)
37	2-OH	H	H	Me	500 (500)	500 (500)	15,6 (500)
38	2-OH,5-Cl	H	H	Me	250 (250)	250 (500)	62,5 (125)
39	3,4-Cl ₂ -Ph	H	Me	Me	62,5 (1000)	62,5 (1000)	62,5 (1000)
40	3,4-Cl ₂ -Ph	H	Me	Bu	250 (1000)	125 (1000)	500 (1000)
41	3,4-Cl ₂ -Ph	H	Me	n-C ₁₀ H ₂₁	250 (>1000)	500 (>1000)	31,25 (1000)
42	3,4-Cl ₂ -Ph	H	Me	Bz	125 (>1000)	500 (>1000)	>1000 (>1000)
43	o-OH	H	Me	Bz	250 (>1000)	500 (>1000)	>1000 (>1000)
44	2-OH,5-Cl	H	Me	CH(CH ₃) ₂	31,3 (62,5)	31,3 (62,5)	62,5 (125)
Fluconazole					0,25	0,98	1,95

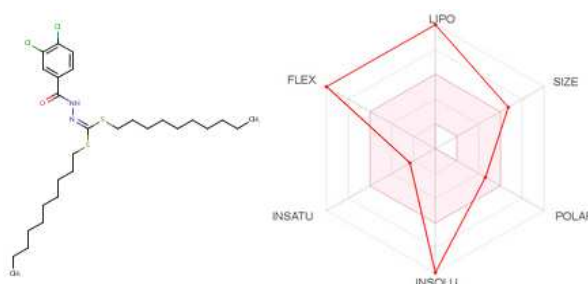
Analiza ADME

Analiza farmakokinetyczna została przeprowadzona dla 43 najbardziej obiecujących związków. Wykonany został profil ADME (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion) wykorzystując program SwissADME [30]. Poza wykresem wchłaniania jest 11 związków, pozostałe związki ze względu na budowę mogą być wchłaniane z jelita, żaden ze związków nie przekracza bariery krew- mózg (rys.26).



Rys 26. Wykres wchłaniania leku typu BOILED-Egg [31] dla badanych związków

Analizowane związki sklasyfikowałam (poza **24**) jako podobne do leku, zgodnie z regułami Lipinskiego [32]. Związek o najgorszych parametrach pod względem wykorzystania jako substancji aktywnej został przedstawiony na rys. 27 wraz z tarczą trafności określającą podobieństwo do leku (szary obszar).



Rys.27. Struktura i tarcza trafności związku nr24

Analiza ADME, w tym tarcza trafności, wykonana dla badanych związków potwierdziła, że mogą być one dalej badane jako potencjalnie interesujące substancje czynne.

Określenie modelu farmakoforu

Jednym z elementów badań było określenie modelu farmakoforu. Oznaczenie rozłożenia w przestrzeni charakterystycznych grup (m.in. donorów i akceptorów wiązania wodorowego, grup hydrofilowych, elektrofilowych itp.) umożliwia zaproponowanie kolejnych związków do badań.

Model farmakoforu określiłam za pomocą programów DiscoveryStudio oraz LigandScout na znanych aktywnych, analogicznych związkach (rys. 28). Umożliwiło to wstępną analizę substancji pod kątem potencjalnych właściwości przeciwbakteryjnych.

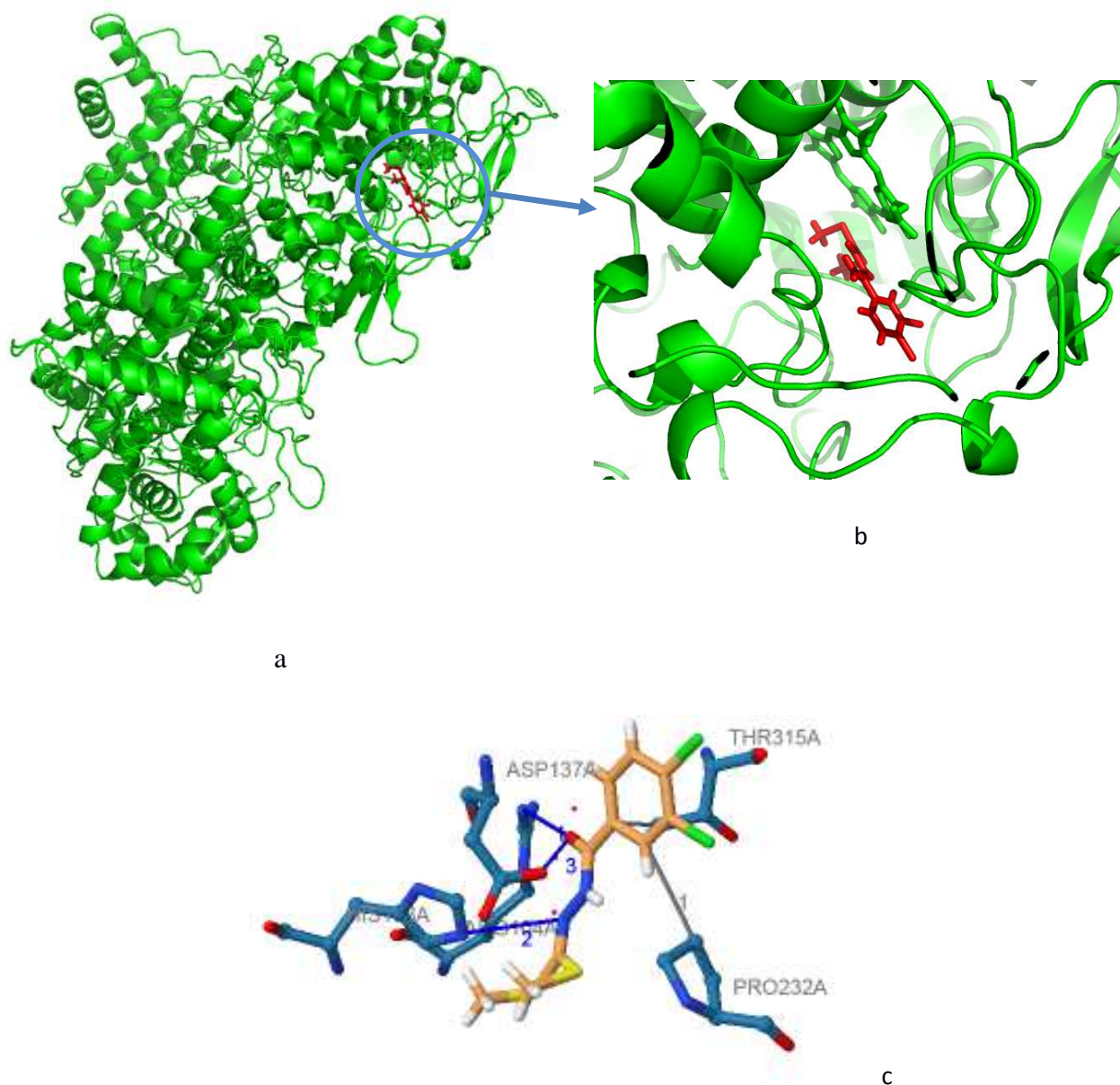


Rys.28 Analiza kontaktów dla związku **16**

Analiza farmakoforu pozwoliła mi określić charakterystyczne elementy budowy związków, w tym donor i akceptor wiązania wodorowego, wielkość i rodzaj podstawników przy atomach siarki [H6-H9].

Dokowanie związków

Mutacje w genie *katG* kodującym białko katalazy/peroksydazy są najprawdopodobniej przyczyną powstawania oporności prątków gruźlicy [33]. Wykonałam dokowania wykorzystując program Gold [34] badanych związków do struktury katalazy ze zmutowaną seryną w pozycji 315 na treoninę (PDB: 2CCD) [35]. Umożliwiło to analizę kontaktów badanych związków z aminokwasami w centrum aktywnym enzymu (rys. 24), szczególnie z aminokwasem w pozycji 315, który wpływa na oporność prątków gruźlicy na izoniazyd [33].



Rys.24 Struktura katalazy 2CCD [35] (a); związek **16** w centrum katalitycznym enzymu (b); analiza kontaktów w miejscu aktywnym enzymu (program PLIP [36])

Zmutowana treonina (S315T) zmniejsza przestrzeń kanału przez który dostaje się lek w miejsce aktywne enzymu. Przeprowadzone przeze mnie dokowania zaprojektowanych pochodnych hydrazyny do centrum aktywnego zmutowanej katalazy (315T) pokazały, że wielkość tego miejsca aktywnego determinuje konformację potencjalnych leków przeciwgruźliczych. W związku z tym planarność i wielkość podstawników w pochodnych hydrazyny ma kluczową rolę na aktywność tych związków. Oddziaływania związków w miejscu aktywna są dwojakiego rodzaju. Występują oddziaływania hydrofobowe z treoniną 315 i proliną 232 oraz wiązania wodorowe z arginina 104, histydyną 108 oraz wiązanie rozwidłone z kwasem asparginową 137 (rys.24c).

Podsumowanie

Przedstawiona rozprawa oparta jest na 9 publikacjach, które obejmują zarówno badania strukturalne jak i analizę struktura-aktywność dwóch serii pochodnych: amidrazonowych i hydrazydowych.

Pochodne amidrazonowe charakteryzują się dużą różnorodnością konformacyjną. Jednym z powodów tak dużej różnorodności jest możliwość tworzenia tautomerii. Wśród tej grupy znajdują się związki aktywne biologicznie. Jednak grupa ta nie jest specyficzna gdyż związek wykazujący działanie przeciwbakteryjne, wykazuje także działanie przeciwgrzybiczne. Aktywny związek posiada układ niearomatyczny heterocykliczny. Podstawienie grupą metylową pozycji R2 powoduje brak aktywności.

Pochodne hydrazydowe nie wykazują aktywności przeciw szczepom bakterii Gram-ujemnym (*S. typhimurium*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*). Wykazują natomiast niewielką aktywność przeciw przebadanym grzybom (*C. albicans*, *C. parapsilosis*). Najbardziej interesujące są wyniki przeciw bakteriom Gram-dodatnim (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. mutans*). Związki te nie tworzą jednej specyficznej grupy i dlatego zostały podzielone na dwie serie: S-estry i S,S-diestry. W przypadku ditioestrów małe podstawniki przy atomach siarki oraz brak podstawnika przy N' determinują aktywność tuberkulostatyczną. Związki te nie są jednak aktywne na pozostałe bakterie Gram-dodatnie. Dla tych związków muszą być spełnione trzy warunki powodujące aktywność przeciwgruźliczą: brak podstawnika przy atomie N', grupa hydroksylowa w pozycji *orto* oraz duże grupy przy atomach siarki. Seria S-estrów wykazuje aktywność dla zbadanych bakterii Gram-dodatnich, poza *Mycobacterium Tuberculosis*. W tym przypadku związki aktywne zawierają grupę metylową w pozycji N oraz duże podstawniki przy atomach siarki.

Przeprowadzone przeze mnie badania pozwalają na odpowiedni dobór serii związków pod względem stosowania substancji, będących składnikiem leków przeciwgruźliczych. Brak innej aktywności niż przeciwgruźlicza może skutkować małym wykorzystaniem związku i poprzez rzadkie stosowanie powoduje małe uodpornienie się na niego prątków gruźlicy. Natomiast badania nad związkami o szerokim spektrum działania może wspomóc leczenie chorób współistniejących z gruźlicą, wynikających z osłabienia organizmu i kontaktem z innymi bakteriami w trakcie pobytu szpitalnego.

Literatura

- [1] <http://www.who.int/tb/en/>
- [2] L.M. Fu, C.S. Fu-Liu, *Tuberculosis* 82, 85, (2002)
- [3] ArcGIS ver. 9.2 (ESRI)
- [4] S.L. Dax, *Antibacterial Chemotherapeutic Agents*, Chapman and Hall, London, (1997)
- [5] J. Bertrand, C. Dobritz, H. Beerens, *Bull. Soc. Pharm.* 39, 1168, (1956)
- [6] M.W. Schmidt, K.K. Baldrige, J.A. Boatz, S.T. Elbert, M.S. Gordon, J.H. Jensen, S. Koseki, N. Matsunaga, K.A. Nguyen, S. Su, T.L. Windus, M. Dupuis, J.A. Montgomery, *J. Comput. Chem.* 14, 1347, (1993)
- [7] C.R. Groom, I.J. Bruno, M.P. Lightfoot, S.C. Ward, *Acta Cryst. B*72, 171, (2016)
- [8] J. Bertrand, C. Dobritz, H. Beerens, *Bull. Soc. Pharm.* 39, 1168, (1956)
- [9] H. Foks, M. Buraczewska, W. Manowska, J. Sawlewicz, *Diss. Pharm. Pharmacol.* 23, 49, (1971)
- [10] D. Pancechowska-Ksepko, H. Foks, M. Janowiec, Z. Zwolska-Kwiek, *Acta Polon. Pharm.* 45, 193, (1988)
- [11] H. Foks, C. Orlewska, M. Janowiec, *Acta Polon. Pharm.-Drug Res.*49, 47, (1992)
- [12] M.G. Mamolo, L. Vio, E. Banfi, M. Cinco, *Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther.* 21, 467, (1986)
- [13] L. Vio, M.G. Mamolo, G. Ronsisvall, *Farmaco* 44, 819, (1989)
- [14] M.L. Główna, D. Martynowski, A. Olczak, C. Orlewskam H. Foks, J. Bojarks, M. Szczesio, J. Gołka, *Journal of Chemical Crystallography*, 35, 477, (2005)
- [15] Zwolska, komunikat prywatny, (2009)
- [16] Y. Zhang, D. Mitchison, *Int J Tuberc Lung Dis* 7 (1) 6–21, (2003).
- [17] L. H. Jensen, *J. Am. Chem. Soc.*, 76 (18), 4663–4667, (1954).
- [18] N. Bouslimani, N. Clement, G. Rogez, P. Turek, S. Choua, S. Dagorne, R. Welter, *Inorg.Chim.Acta* , 363, 213, (2010)
- [19] K. Gobis, H. Foks, Z. Zwolska, E. Augustynowicz-Kopec, M.L. Główna, A. Olczak, M. Sabisz *Monatsh.Chem.*, 142, 1137, (2011)
- [20] N.K. Singh, M. Singh, R.J. Butcher, *Acta Crystallogr.,Sect.E:Struct.Rep.Online* , 63, o4405, (2007)
- [21] C. Beghidja, N. Bouslimani, R. Welter, *Comptes Rendus Chimie* , 10, 590, (2007)
- [22] M.K. Bharty, R.K. Dani, S.K. Kushawaha, Om Prakash, R.K.Singh, V.K.Sharma, R.N. Kharwar, N.K. Singh, *Spectrochim.Acta,Part A* , 145, 98, (2015)

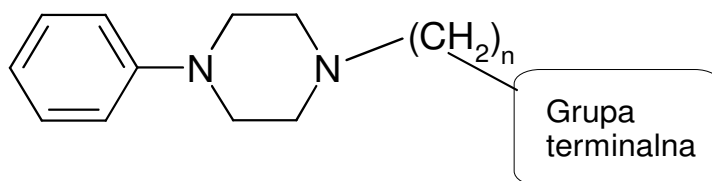
- [23] C. Beghidja, M. Wesolek, R. Welter, *Inorg.Chim.Acta* ,358,3881, (2005)
- [24] C. Toussaint, C. Beghidja, R. Welter, *Comptes Rendus Chimie* ,13,343, (2010)
- [25] P. Nath, M.K.Bharty, R. Chaurasia, S. Kumari, S.K. Gupta, *Acta Crystallogr., Sect.E:Cryst.Comm.* , 71, o967, (2015)
- [26] K. Gobis, H. Foks, Z. Zwolska, E. Augustynowicz-Kopec, M.L. Główka, A. Olczak, M. Sabisz, *Monatsh.Chem.* ,142,1137, (2011)
- [27] J.P. Jasinski, R.J. Butcher, S.K. Kushawaha, M.K. Bharty, N.K. Singh, *Acta Crystallogr.,Sect.E:Struct.Rep.Online* ,66,o1899, (2010)
- [28] C. F. Macrae, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler, & J. van de Streek, *J. Appl. Cryst.* 39, 453–457, (2006)
- [29] M.C. Etter, J.C. MacDonald, J. Bernstein, *Acta Cryst.* B46, 256-262, (1990)
- [30] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, *Sci. Rep.* 7, 42717-42732, (2017)
- [31] A. Daina, V. Zoete, *Chem. Med. Chem.* 11,1117-1121, (2016)
- [32] C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 23 (1–3), pp. 3-25, (1997)
- [33] T. Jagielski, M. Grzeszczuk, M. Kamiński, K. Roeska, A. Napiórkowska, R. Stachowiak, E. Augustynowicz-Kopeć, Z. Zwolska, J. Bielecki; *Pneumonol. Alergol. Pol.* 81, 298-307, (2013)
- [34] G. Jones, P. Willett, R.C. Glen, A.R. Leach, R. Taylor, *J. Mol. Biol.*, 267, 727-748, (1997)
- [35] X. Zhao, H. Yu, S. Yu, F. Wang, J.C. Sacchettini, R.S. Magliozzo, *Biochemistry* 45, 4131-4140, (2006)
- [36] S. Salentin, S. Schreiber, V.J. Haupt, M.F. Adasme, M. Schroeder, *Nucleic. Acids Res.* 43, 443-447, (2015)

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĘGNIĘĆ NAUKOWO - BADAWCZYCH

5.A Poszukiwania zależności struktura-aktywność pochodnych arylopiperazynowych wykazujących powinowactwo do receptorów serotoninowych.

Od kilku lat jestem zaangażowana w określenie struktur krystalicznych związków będących pochodnymi arylopiperazyny ze względu na ich właściwości farmakologiczne.

Pochodne układu arylopiperazynowego są dobrze znane ze względu na ich interesujące właściwości farmakologiczne, a długołańcuchowe arylopiperazyny (LCAP) są szeroko badane jako ligandy receptora serotoninowego, działające na ośrodkowy układ nerwowy.



Serotonina jest ważnym związkiem, który reguluje w organizmie funkcje odpowiedzialne m.in. stany emocjonalne, sen, ból. Złe funkcjonowanie neuroprzekaźnika objawia się takimi chorobami psychicznymi, jak: depresja, schizofrenia, czy stany lękowe [1,2]. Poszukiwanie nowych aktywnych związków, m.in. na podstawie analizy QSAR oraz określanie farmakoforu pozwala poznać działanie ligandów receptorowych, jak i budowę samego receptora.

W wyniku zbadania struktury krystalicznej kilkudziesięciu takich związków, zarówno wolnych zasad, jak i ich chlorowodorków, o różnych długościach łańcucha ($n=2, 3$ lub 4) stwierdziłam, że:

- protonowanie arylopiperazyny zwiększa tendencję do rozciągniętej formy,
- piperazyna przyjmuje konformację krzeselkową i preferuje podstawniki w pozycji ekwatorialnej,
- powinowactwo do receptora serotoninowego zależy od długości łącznika (parzystość grup metylenowych) [3,4].

Interesującym elementem badań nad pochodnymi LCAP jest podstawienie grupy aromatycznej. Kilkanaście struktur na kilkaset znajdujących się w bazie CSD posiada podstawnik aromatyczny w pozycji aksjalnej. Wybranie odpowiedniej grupy może

powodować preferencję takiego podstawienia. Badania nad nowo zaprojektowanymi przeze mnie arylopiperazynami potwierdzają już tę tezę. Odpowiedni wybór grup aromatycznej i terminalnej może być istotny do dopasowania się do receptora.

Literatura

- [1] D. Hoyer, J.P. Hannon, G.R. Martin, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 71, 533–54, (2002)
- [2] A.J. Bojarski, B. Duszyńska, M. Kołaczkowski, P. Kowalski, T. Kowalska, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14, 5863–5866, (2004)
- [3] J. Obniska, H. Byrtus, K. Kamiński, M. Pawłowski, M. Szczesio, J. Karolak-Wojciechowska, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 18, 6134–6142, (2010)
- [4] J. Karolak-Wojciechowska, A. Mrozek, A. Fruziński, M. Szczesio, P. Kowalski, T. Kowalska, *Journal of Molecular Structure* 979, 144–151, (2010)

5.B Monitoring środowiska – wykorzystanie geograficznych systemów informacji do opracowań statystycznych, analizy i tworzenia map

Prowadziłam także badania nad wykorzystaniem systemu informacji geograficznej (GIS) dla potrzeb badań naukowych w zakresie biologii, chemii i ochrony środowiska [1].

System informacji geograficznej jest to system, który umożliwia gromadzenie, usystematyzowanie, analizę i wizualizację danych, które są powiązane ze współrzędnymi geograficznymi [2–4]. Dzięki wykorzystaniu GIS w ochronie środowiska, biologii, chemii czy monitoringu można ułatwić, usystematyzować i opracować projekty badawcze w szybszy, często łatwiejszy sposób. Praca chemika, analityka, biologa czy ekologa często wiąże się z pobieraniem próbek w terenie a następnie ich analizą i opisem.

W ramach projektu 201/BN/D/2005 wykonywana była analiza gleb rolniczych w województwie łódzkim. Badania jakości gleb województwa łódzkiego wykonywane były w Instytucie Chemii Ogólnej i Ekologicznej Politechniki Łódzkiej. Badano zanieczyszczenia w pierwiastki ciężkie (kadm, ołów, nikiel) [5]. W kolejnych latach dokonywano porównawczych analiz dla próbek pobranych z tych samych miejsc kilka lat później z myślą o zbadaniu wpływu zmiany otoczenia na te zanieczyszczenia (przede wszystkim w związku z budową autostrady). Wykonałam analizę GIS zmian zanieczyszczenia gleby w województwie łódzkim

wykorzystując powyższe dane [6]. W ramach kolejnego projektu 804/BN/D/2016 analizowany jest także skład gleby w okolicach rzek i kanałów [7]. Istotnym badanym parametrem jest migracja zanieczyszczeń z wód powierzchniowych do gleb rolniczych.

Literatura

- [1] M. Szczesio, GIS w ochronie środowiska (Ochrona środowiska na studiach przyrodniczych - rozdział) ISBN 978-83-7283-755-4
- [2] J. Urbański, GIS w badaniach przyrodniczych, Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, (2008)
- [3] A. Magnuszewski, GIS w geografii fizycznej, PWN, Warszawa, (2012)
- [4] Roger F. Tomlinson, Rozważania o GIS : planowanie Systemów Informacji Geograficznej dla menedżerów, ESRI Polska, Warszawa, (2008)
- [5] Umowa dotacji nr 201/BN/D/2005 zawarta między Wojewódzkim Funduszem Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Łodzi a Politechniką Łódzką
- [6] K. Kabzińska, M. Szczesio, J. Świątosławski, A. Turek, Geology, Geophysics & Environment, 41 (1), 25-32, (2015)
- [7] Umowa dotacji nr 804/BN/D/2016 zawarta między Wojewódzkim Funduszem Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Łodzi a Politechniką Łódzką

Małgorzata Szczesio