



Autoreferat

**Wpływ związków o aktywności anty- i
pro-neurodegeneracyjnej na
strukturę poli-L-lizyny i modelowych
błon lipidowych**

Dr Katarzyna Cieślik-Boczula

Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii

1. Dane osobowe

dr Katarzyna Aneta Cieřlik-Boczula

Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski

ul. F. Joliot-Curie 14

50-383 Wrocław

tel.: (+48) 71 375 7209

e-mail: katarzyna.cieřlik@chem.uni.wroc.pl

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

wrzesień 2007, doktor chemii, specjalność: chemia fizyczna i teoretyczna, Wydział Chemii
Uniwersytet Wrocławski

tytuł rozprawy doktorskiej: *Właściwości fotofizyczne i funkcje biologiczne pochodnych fenoli*,

promotor: prof. dr hab. Aleksander Koll

czerwiec 2002, magister biotechnologii, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski

tytuł pracy magisterskiej: *Wstępne badania właściwości semisyntetycznych pochodnych lipidów fenolowych*.

promotor: dr Maria Stasiuk

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

od 2010 – adiunkt, Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski

2007 – 2009 – asystent, Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017 r. poz. 1789):

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

Wpływ związków o aktywności anty- i pro-neurodegeneracyjnej na strukturę poli-L-lizyny i modelowych błon lipidowych

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy)

nr	Lista publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego ¹	IF (punkty MNiSW)	Liczba niezależnych cytowań (liczba wszystkich cytowań)	Udział procentowy w pracy
[H1]	Cieřlik-Boczula Katarzyna* , Alpha-helix to beta-sheet transition in long-chain poly-L-lysine: formation of alpha-helical fibrils by poly-L-lysine. Biochimie, 2017, 137, 106-114.	3.118 (25)	5 (razem 9)	100%
[H2]	Cieřlik-Boczula Katarzyna* , The PPII-to- α -helix transition of poly-L-lysine in methanol/water solvent mixtures accompanied by fibrillar self-aggregation : an influence of fluphenazine molecules. Biophysical Chemistry, 2017, 227, 14-20.	1.870 (20)	1 (razem 3)	100%
[H3]	Cieřlik-Boczula Katarzyna* , Effect of phenothiazine compounds on the secondary structure and fibrillogenesis of poly-L-lysine. Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2019, 216, 15-24.	2.880 (30)	0 (razem 0)	100%
[H4]	Cieřlik-Boczula Katarzyna* , Trombik Paulina, Resveratrol modulates fibrillogenesis in a poly L lysine peptide. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 125, 630-641.	3.909 (35)	0 (razem 0)	95%
[H5]	Cieřlik-Boczula Katarzyna* , Influence of resveratrol on interactions between negatively charged DPPC/DPPG membranes and positively charged poly-L-lysine. Chemistry and Physics of Lipids, 2018, 214, 24-34.	2.766 (25)	0 (razem 0)	100%
[H6]	Cieřlik-Boczula Katarzyna* , Szwed Joanna, Jaszczyszyn Agata, Gąsiorowski Kazimierz, Koll Aleksander, Interactions of dihydrochloride fluphenazine with DPPC liposomes: ATR-IR and 31P NMR studies. Journal of Physical Chemistry B, 2009, 113, 15495-15502.	3.471 (24)	19 (razem 28)	60%
[H7]	Cieřlik-Boczula Katarzyna* , Rospenk Maria, Interaction of anesthetic molecules with α -helix and polyproline II extended helix of long-chain poly-L-lysine. Spectrochimica Acta Part A - Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2018, 189, 436-442.	2.880 (30)	0 (razem 2)	90%

[H8]	Kuć Marta, Cieřlik-Boczula Katarzyna* , Rospenk Maria, Influence of inhalation anesthetics on the chain-melting phase transition of DPPC liposomes. Near-infrared spectroscopy studies supported by PCA analysis. Vibrational Spectroscopy, 2016, 85, 55-61.	1.740 (25)	2 (razem 7)	60%
[H9]	Kuć Marta, Cieřlik-Boczula Katarzyna* , Rospenk Maria, Anesthetic-dependent changes in the chain-melting phase transition of DPPG liposomes studied using near-infrared spectroscopy supported by PCA. Spectrochimica Acta Part A - Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2017, 186, 37-43.	2.880 (30)	2 (razem 3)	60%
[H10]	Horochowska Martyna, Cieřlik-Boczula Katarzyna* , Rospenk Maria, Ethanol- and trifluoroethanol-induced changes in phase states of DPPC membranes. Prodan emission-excitation fluorescence spectroscopy supported by PARAFAC analysis. Spectrochimica Acta Part A - Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2018, 192, 16-22.	2.880 (30)	0 (razem 0)	70%
	Razem: Autor do korespondencji: wszystkie prace	28,394 (274)	29 (razem 52)	

Symbolem (*) oznaczono autora do korespondencji.

¹We wszystkich pracach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego jestem autorem do korespondencji, w 4 pracach jestem jedynym autorem pracy.

Impact factor (IF) oraz punkty MNiSW podano zgodnie z rokiem opublikowania dla publikacji H1, H2, H6, H8 i H9. Dla pozostałych publikacji przyjęto wartość IF i punkty MNiSW z roku 2017.

- c) omówienie celu naukowego i wyników w wyżej wymienionych pracach wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

WPROWADZENIE

Wiele związków chemicznych wykazuje aktywności biologiczne poprzez ich bezpośredni lub pośredni wpływ na struktury białkowe i błon komórkowych. Aktywności białek, a tym samym ich funkcje biologiczne, są włączane/wyłączane poprzez, indukowane obecnością cząsteczek chemicznych, modyfikacje strukturalne na różnym stopniu ich organizacji, tzn. począwszy od zmian struktur drugorzędowych po czwartorzędowe i agregacyjne formy białek. Należy również podkreślić rolę zmian strukturalnych błon lipidowych w pośrednim sposobie modyfikacji aktywności białek błonowych. Stan konformacyjny hydrofobowej części błony i stopień uwodnienia polarnego obszaru błony lipidowej, które podlegają najczęstszym modyfikacjom pod wpływem działania cząsteczek

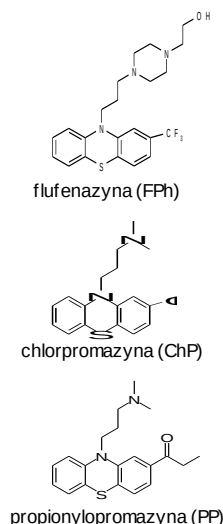
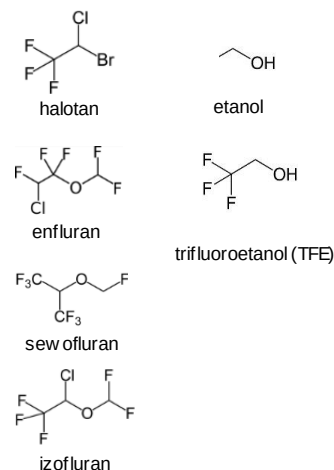
chemicznych, wpływają na płynność, przepuszczalność i stan fazowy struktur błonowych. Te z kolei indukują zmiany w strukturze drugorzędowej białek błonowych a następnie zmiany na wyższym stopniu ich organizacji prowadząc w efekcie końcowym do modyfikacji aktywności i funkcji biologicznej białka. Z tego powodu badania prowadzące do przybliżenia mechanizmów, poprzez które cząsteczki chemiczne wykazują swoje aktywności biologiczne, powinny uwzględniać badania nad układami białkowymi i błonowymi.

Często dla tej samej cząsteczki można zaobserwować nie jedną, ale kilka funkcji biologicznych jakie pełni w żywych komórkach, tkankach czy organizmach. Bywa, że mają one przeciwny charakter, np. dla tego samego związku obserwuje się jego pro- i anty-zdrowotne działanie. Mimo różnorodnych aktywności biologicznych danego związku, nawet ta sama modyfikacja strukturalna białka i/lub błony lipidowej może być ich przyczyną.

Przykładem cząsteczek o wielokierunkowej i różnorodnej funkcji biologicznej są polifenole o pochodzeniu roślinnym (np. stilbeny), wielopierścieniowe związki z grupy fenotiazyn czy związki o działaniu anestetycznym. Związki z tych grup łączy jedna wspólna cecha – uważa się, że wpływają (hamująco lub aktywująco) na rozwój chorób neurodegeneracyjnych [1-8]. Jednocześnie właściwość ta współistnieje z szeregiem innych aktywności biologicznych, jakie one wykazują, np. resweratrolowi (Res), który jest jednym z najbardziej znanych przedstawicieli stilbenów i wykazuje działanie anty-neurodegeneracyjne, przypisuje się również przeciwzapalne i antynowotworowe aktywności [1,2]. Res występuje w roślinach i jest częstym składnikiem naszego pożywienia. W dużych stężeniach znajduje się w skórkach czerwonych winogron i czerwonym winie. Uważa się, że jest odpowiedzialny za występowanie zjawiska paradoksu francuskiego, w myśl którego wśród Francuzów, charakteryzujących się wysokim spożyciem czerwonego wina, obserwuje się niski wskaźnik śmiertelności w wyniku schorzeń sercowo-naczyniowych; następuje obniżenie ryzyka występowania miażdżycy, choroby wieńcowej i zawału mięśnia sercowego [1,2]. Do kolejnych wspomnianych wyżej dwóch grup związków należą cząsteczki, które były lub są wykorzystywane jako leki w leczeniu schorzeń (np. fenotiazynowe leki psychotropowe) lub jako środki znieczulenia ogólnego (anestetyki wziewne). W 2009 roku flufenazyna (FPh) i chlorpromazyna (ChP), należące do grupy fenotiazyn, znalazły się na liście Światowej Organizacji Zdrowia jako najefektywniejsze leki w leczeniu schizofrenii i innych chorób psychicznych [9]. Dodatkowym ich atutem, budzącym coraz większe zainteresowanie badaczy, jest hamowanie oporności wielolekowej komórek nowotworowych na działanie cytostatyków (tzw. aktywność anty-chemoprewencyjna) [10]. Mimo wielu pożądanych właściwości tych związków, FPh została wycofana z użycia farmakologicznego a użycie ChP znacząco

ograniczono z powodu silnych działań ubocznych, jakie towarzyszą podczas zażywania tych leków. Częsteczki te mają tendencję do gromadzenia się w ośrodkowym układzie nerwowym w dużych stężeniach, co wywołuje powstanie zespołu zaburzeń pozapiramidowych, manifestującego się m.in. w występowaniu polekowego parkinsonizmu [11-13]. Indukowane związkami fenotiazynowymi objawy choroby Parkinsona przypisuje się ich pro-neurodegeneracyjnym właściwościom kojarzonym z formowaniem się fibrylarnych form białkowych, typowych dla schorzeń neurodegeneracyjnych. Również w przypadku halogenopochodnych krótkołańcuchowych eterów, alkanów czy alkoholi, wykazujących pożądane właściwości anestetyczne, doniesienia literaturowe coraz częściej zwracają uwagę na ich pro-neurodegeneracyjne działanie [7,8]. Powyższe przykłady pokazują, jak różnorodne strukturalnie mogą być cząsteczki chemiczne wykazujące zdolności hamowania lub promowania rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, oraz jak liczne i różnorodne dodatkowe właściwości biologiczne mogą im współtowarzyszyć. Uważa się, że komórkowe cele molekularne działania tych związków obejmują struktury białkowe jak również układy błon lipidowych. Mechanizmy poprzez które związki te wykazują anty- czy pro-neurodegeneracyjne właściwości, jak również anty-chemoprewencyjne i anestetyczne aktywności, nie są do końca poznane i wymagają dalszych badań. Z tego powodu wybrano do badań kilku przedstawicieli wymienionych wyżej grup związków, których wzory strukturalne przedstawia **Rysunek 1**, i zbadano ich wpływ na strukturę drugorzędową oraz zależną od niej fibrylogenezę homopolipeptydu, poli-L-lizyny (PLL), która posłużyła jako model polarnych układów białkowych, oraz na strukturę liposomowych błon lipidowych o różnym ładunku wypadkowym, które posłużyły jako modele błon biologicznych różniących się stopniem naładowania.

Można przypuszczać, że u podstaw anty- i pro-neurodegeneracyjnych właściwości wspomnianych wyżej związków leżą odpowiednio anty-i pro-fibrylarne ich aktywności, wynikające, m.in. z ich bezpośredniego oddziaływania na białkowe struktury fibrylarne. W chorobie Alzheimera, Parkinsona i w wielu innych schorzeniach neurodegeneracyjnych, komórkom objętym stanem chorobowym współtowarzyszy odkładanie się tzw. złogów amyloidowych. Są to struktury białkowe powstałe na skutek samoagregacji białek w fibrylarne formy włókniste [14]. Podjednostki białkowe tworzące włókna fibrylarne przyjmują drugorzędową strukturę bogatą w formy β -katek, które ulegają wzajemnym skrętom wzdłuż długiej osi fibryli.

Związki anty-neurodegeneracyjne**Związki pro-neurodegeneracyjne****Związki fenotiazynowe****Związki o aktywności anestetycznej**

Rysunek 1. Wzory strukturalne badanych związków o aktywności anty- i pro-neurodegeneracyjnej.

Uważa się, że w powstawaniu pełnych objawów chorób neurodegeneracyjnych również ważną rolę odgrywa obecność błon lipidowych. Dla wielu białek/peptydów fibrylarnych wykazano silny wpływ błon lipidowych na rozwój każdego z etapów ich fibrylogenezy [15,16]. W początkowym stadium formowania się fibryli, błony mogą modyfikować struktury drugorzędowe podjednostek białkowych, co determinuje następne kroki fibrylogenezy. Proces samoasocjacji podjednostek białkowych w formy fibrylarne jak i cytotoksyczność dojrzałych form fibrylarnych oraz stanów pośrednich towarzyszących powstawaniu końcowych struktur fibrylarnych mogą być również efektywnie regulowane obecnością błon lipidowych i zmianami w jej właściwościach. Mechanizmy wyjaśniające molekularne aspekty fibrylogenezy, która współtowarzyszy rozwojowi chorób neurodegeneracyjnych, powinny więc obejmować badania również z udziałem błon lipidowych. Równie ważne i pomocne w wyjaśnieniu procesu fibrylogenezy oraz w poszukiwaniu i projektowaniu czynników efektywnie regulujących ten proces jest poznanie mechanizmów, poprzez które związki o działaniu anty- jak i pro-neurodegeneracyjnym regulują ten proces.

W prezentowanym cyklu prac, obserwowane zmiany strukturalne PLL wywołane obecnością wybranych do badań związków będą dyskutowane głównie w kontekście anty- i pro-fibrylarnych aktywności jakie cząsteczki te wykazują względem form fibrylarnych

tworzonych z polarnych podjednostek peptydowych. Natomiast zmiany strukturalne w wybranych do badań błonach lipidowych i układach PLL/błona lipidowa będą dyskutowane szerzej, tzn. nie tylko w kontekście neurodegeneracyjnych aktywności badanych związków ale również anty-chemoprewencyjnych (dla związków fenotiazyn) czy anestetycznych (dla halogenopochodnych krótkołańcuchowych eterów, alkanów czy alkoholi) właściwości. Doniesienia literaturowe podkreślają rolę stopnia uporządkowania i upakowania błon lipidowych w anty-chemoprewencyjnych aktywnościach fenotiazyn [17-21]. W prezentowanym cyklu badań, wywołane obecnością związków fenotiazynowych zmiany w stanie konformacyjnym (*trans/gauche*) grup CH₂ węglowodorowych łańcuchów cząsteczek lipidowych budujących błony lipidowe będą dyskutowane w kontekście tych właściwości błon. Ponieważ w mechanizmie anestezji dodatkowo podkreśla się rolę zmian w stanie fazowym błon lipidowych [22-24], poprzez dobór odpowiednich metod eksperymentalnych (np. spektroskopii fluorescencyjnej Prodanu wspomaganej zaawansowaną analizą chemometryczną opartą na metodzie równoległej analizy czynnikowej) badane będzie współistnienie faz w błonach lipidowych domieszkowanych wybranymi cząsteczkami o aktywnościach anestetycznych.

CEL NAUKOWY PREZENTOWANEGO CYKLU BADAŃ

Głównym celem przeprowadzonych badań stanowiących osiągnięcie naukowe było określenie wpływu wybranych związków o aktywności anty- i pro-neurodegeneracyjnej na strukturę drugorzędową i zależną od niej fibrylogenezę polarnego homopolipeptydu, poli-L-lizyny (PLL), jak również podkreślenie roli wzajemnego oddziaływania w układzie PLL – błona lipidowa oraz znaczącego wpływu badanych związków na strukturę błon lipidowych. Wybranie do badań PLL, która wykazuje dużą różnorodność w strukturach drugorzędowych i fibrylarnych, pozwoliło na określenie wpływu badanych związków na fibrylogenezę tego polarnego homopolipeptydu, w zależności od rodzaju jego struktury drugorzędowej, obecności dodatniego ładunku czy oddziaływań hydrofobowych w łańcuchach bocznych Lys.

Prezentowane osiągnięcie naukowe będzie obejmować kolejno:

- przedstawienie pełnego opisu fibrylogenezy długołańcuchowej PLL z uwzględnieniem wpływu rodzaju struktury drugorzędowej PLL modyfikowanej zmianami temperatury, składu rozpuszczalnika czy pH;
- przedstawienie pełnego opisu wpływu cząsteczek Res na strukturę drugorzędową i zależną od niej fibrylogenezę PLL oraz odniesienie otrzymanych wyników do anty-fibrylarnego działania jakie Res wykazuje względem polarnych polipeptydów; określenie wpływu cząsteczek Res na

strukturę i wzajemne oddziaływania w układzie dodatnio naładowana PLL – ujemnie naładowana błona lipidowa;

- przedstawienie pełnego opisu wpływu wybranych cząsteczek fenotiazynowych na strukturę drugorzędową i zależną od niej fibrylogenezę PLL oraz odniesienie otrzymanych wyników do pro-fibrylarnego działania jakie związki te wykazują; określenie wpływu związków fenotiazynowych na strukturę błon lipidowych o zerowym ładunku wypadkowym oraz przypisanie tych zmian ich anty-chemoprewencyjnym aktywnościom;
- określenie wpływu wybranych cząsteczek o właściwościach anestetycznych na strukturę drugorzędową PLL o zjonizowanych i niezjonizowanych łańcuchach bocznych Lys i strukturę błon lipidowych o zerowym lub ujemnym ładunku wypadkowym; dyskusja otrzymanych wyników w kontekście pro-neurodegeneracyjnych i anestetycznych właściwości badanych związków.

Główne techniki badawcze na jakich została oparta realizacja wytyczonych wyżej celów:

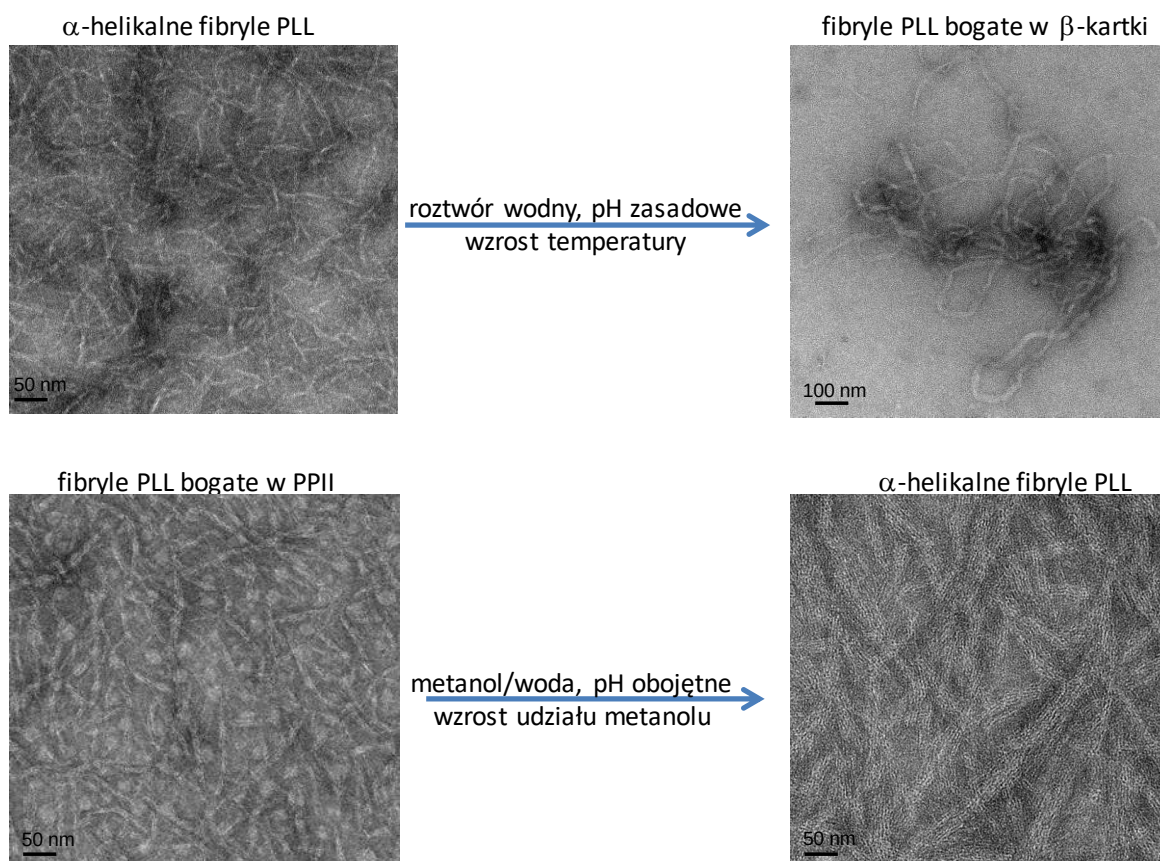
- spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fouriera (z ang. Fourier transform infrared, FTIR) w zakresie średniej (z ang. near-infrared, MIR) i bliskiej (z ang. mean-infrared, NIR) podczerwieni; przeważająca część otrzymanych serii widm została poddana analizie czynników głównych (z ang. principal component analysis, PCA); struktura drugorzędowa PLL była badana na podstawie położenia pasma amidowego I'; zmiany w stanie konformacyjnym (*trans/gauche*) grup CH₂ w węglowodorowych łańcuchach cząsteczek lipidów i w węglowodorowych łańcuchach bocznych Lys budującej łańcuch polipeptydowy PLL zostały określone na podstawie pasm νCH₂; charakterystyka stanu uwodnienia i oddziaływań w obszarze interfazy badanych błon lipidowych została oparta na analizie pasm νC=O;
- oscylacyjny dichroizm kołowy (z ang. vibrational circular spectroscopy, VCD); analizowane były sygnały w zakresie drgań amidowych I', które pozwoliły na jednoznaczne przypisanie otrzymanych w widmie FTIR pasm amidowych I' do danego rodzaju struktury II-rzędowej badanej PLL;
- transmisyjna mikroskopia elektronowa (z ang. transmission electron microscopy, TEM); metoda ta pozwoliła na wizualizację różnych form agregatów PLL;
- spektroskopia fluorescencyjna; wykorzystanie sondy fluorescencyjnej, Prodanu, oraz zastosowanie zaawansowanej analizy chemometrycznej opartej na metodzie równoległej analizy czynnikowej (z ang. parallel factor (PARAFAC) analysis,) pozwoliły na szczegółowe

zbadanie wpływu wybranych cząsteczek o działaniu anestetycznych na stan fazowy błon lipidowych.

NAJWAŻNIEJSZE WYNIKI PREZENTOWANEGO CYKLU BADAŃ

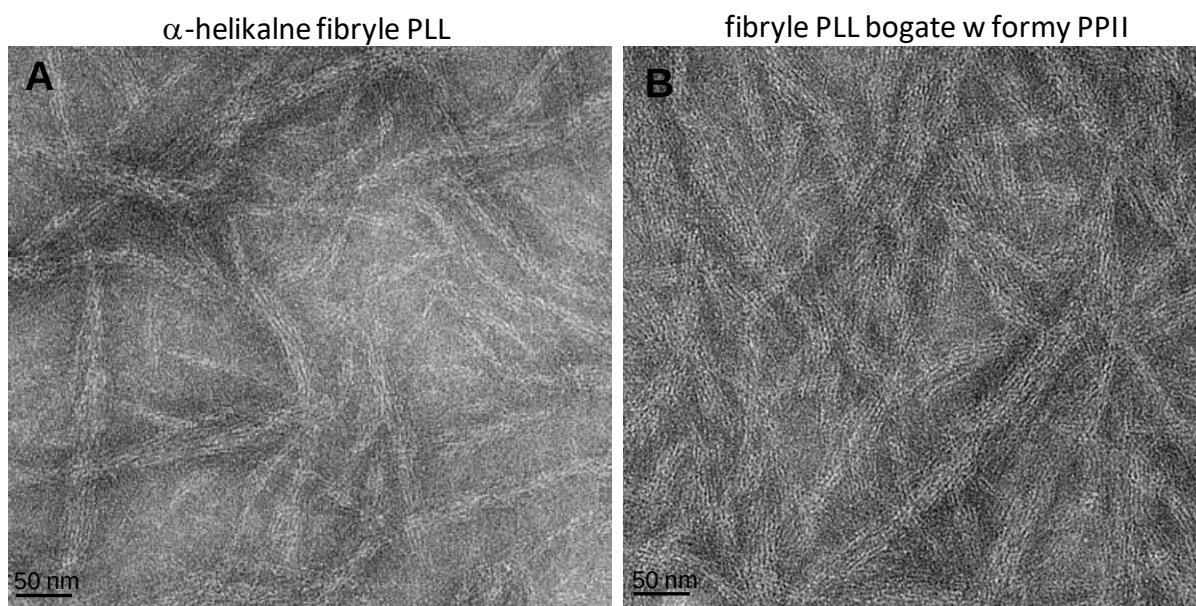
Poli-L-lizyna i jej przemiany strukturalne

PLL, zasadowy homopolipeptyd, cieszy się rosnącym zainteresowaniem w różnych dziedzinach przemysłu z uwagi na jej liczne aktywności biologiczne, którym towarzyszy biodegradowalność oraz nietoksyczność dla ludzi i środowiska. W świecie nauki uważana jest za doskonały model w badaniach struktur białek. Już od jakiegoś czasu w literaturze panuje przekonanie, że PLL wykazuje wysoki polimorfizm na poziomie struktur drugorzędowych [25,26], a cząsteczki PLL bogate w konformację β -kardk mają zdolność do samoagregacji w formy fibrylarne, które zdaniem autorów prac [27,28], przypominają struktury fibryli amyloidowych obecnych w żywych komórkach objętych stanem chorobowym. W pracach **H1**, **H2** dowiodłam, że PLL podlega reorganizacjom strukturalnym prowadzącym do powstania nie tylko β -kardkowych fibryli, ale również innych rodzajów agregatów fibrylarnych, które mogą powstawać nawet z łańcuchów polipeptydowych tworzonych przez dodatkowo naładowane aminokwasy Lys. Zmieniając pH roztworu powyżej lub poniżej wartości pK_a , która dla Lys wynosi 10,5 [29], otrzymywałam cząsteczki PLL o dominującym lub nie udziale dodatniego ładunku pojawiającego się na terminalnych grupach aminowych łańcuchów bocznych Lys, z których powstawały formy fibrylarne PLL. Wykazałam, że agregaty fibrylarne powstają dla każdej ze struktur drugorzędowych PLL: β -kardki, α -helisy i rozciągniętej helisy (formy PPII), **Rysunek 2** [**H1**, **H2**]. Jest to ciekawa i rzadko spotykana cecha fibrylogenezy, w której ten sam polipeptyd może tworzyć struktury fibrylarne z różnych form drugorzędowych. Poznane do tej pory struktury fibryli amyloidowych budowane są przede wszystkim ze struktur β -kardk [14]. Przykłady, w których naturalnie występujące formy fibrylarne tworzone są z podjednostek białkowych/peptydowych bogatych w konformację α -helikalne [30-32] czy PPII [33-35] nie są liczne. Z drugiej strony, fibryle reprezentowane przez nietypowe (inne niż β -kardkowe) struktury drugorzędowe budzą coraz większe zainteresowanie i uznanie badaczy [36]. Wykazałam, że agregaty fibrylarne zbudowane z PLL bogatej w struktury α -helisy lub PPII posiadają substrukturę reprezentowaną przez boczną (lateralną) agregację kilku nici widoczną na zdjęciach TEM (**Rysunek 3**) [**H1**, **H2**]. Bogate w β -kardki fibryle PLL takiej substruktury nie wykazywały. Obecność β -kardkowych fibryli PLL została potwierdzona badaniami UV-vis z wykorzystaniem sondy, czerwieni Kongo, powszechnie używanej do wykrywania obecności β -kardkowych fibryli różnych białek i peptydów [**H3**].



Rysunek 2. Fibryle PLL tworzone z różnych form struktur drugorzędowych PLL pod wpływem zmiany czynników zewnętrznych [H1,H2].

Równie ważnym osiągnięciem zaprezentowanym w pracach **H1** i **H2** było wykazanie, że jeden rodzaj form fibrylarnych PLL może pod wpływem zmiany czynnika zewnętrznego przechodzić w drugi rodzaj (**Rysunek 2**). Wykazałam, że wzrost temperatury indukuje reorganizację α -helikalnych form fibrylarnych PLL w β -kartkowe fibryle tworzone przez cząsteczki PLL umieszczone w roztworze wodnym o silnie zasadowym pH. Z kolei w mieszaninie woda/metanol o pH obojętnym, duży udział metanolu indukował powstawanie form fibrylarnych z dodatnio naładowanych α -helikalnych struktur PLL. Przy mniejszym udziale metanolu również tworzyły się fibryle, tym razem powstawały z dodatnio naładowanych łańcuchów polipeptydowych PLL bogatych w konformacje PPII. Zaprezentowane na przykładzie PLL bogactwo przemian strukturalnych pozwala spojrzeć na fibrylogenezę jako na proces zróżnicowany i wielokierunkowy.



Rysunek 3. Fibryle PLL tworzone z cząsteczek PLL o konformacji α -helikalnej (A) i konformacji PPII (B) z widoczną substrukturą reprezentowaną przez boczną agregację kilku nici [H1,H2].

W pracy **H1**, na podstawie analizy pasm $\nu_{as,s}CH_2$, udowodniłam, że formowanie β -strukturalnych form fibrylarnych PLL z α -helikalnych fibryli PLL wiąże się ze wzrostem udziału konformerów *trans* grup CH_2 węglowodorowych łańcuchów bocznych Lys, co dalej zostało zinterpretowane jako przyczyna wzrostu uporządkowania i upakowania łańcuchów bocznych aminokwasów w powstających β -kartkowych fibrylach PLL. Przyrost udziału konformerów *trans* w węglowodorowych łańcuchach bocznych PLL, zinterpretowałam jako czynnik warunkujący ścisły kontakt pomiędzy wyprostowanymi łańcuchami bocznymi w pojedynczych jak i w zagregowanych β -kartkach, który z kolei przyczynia się do wzrostu siły stabilizujących oddziaływań van der Waalsa. Pokazana w pracy **H1** ścisła korelacja procesu reorganizacji α -helikalnych struktur w formy β -kartek, której towarzyszyła samoagregacja PLL w formy fibrylarne, z procesem zmiany konformacji *gauche* (charakterystycznej dla luźno upakowanych łańcuchów bocznych Lys w mniej zwartych strukturach α -helikalnych) w konformację *trans* (charakterystyczną dla ściśle upakowanych łańcuchów bocznych Lys w zwartych i agregujących ze sobą strukturach β -kartek) dowodzi istotnej roli jaką pełnią oddziaływania hydrofobowe pomiędzy łańcuchami bocznymi Lys w formowaniu się struktur drugorzędowych badanego polipeptydu i w zależnej od struktury drugorzędowej fibrylogenezie PLL.

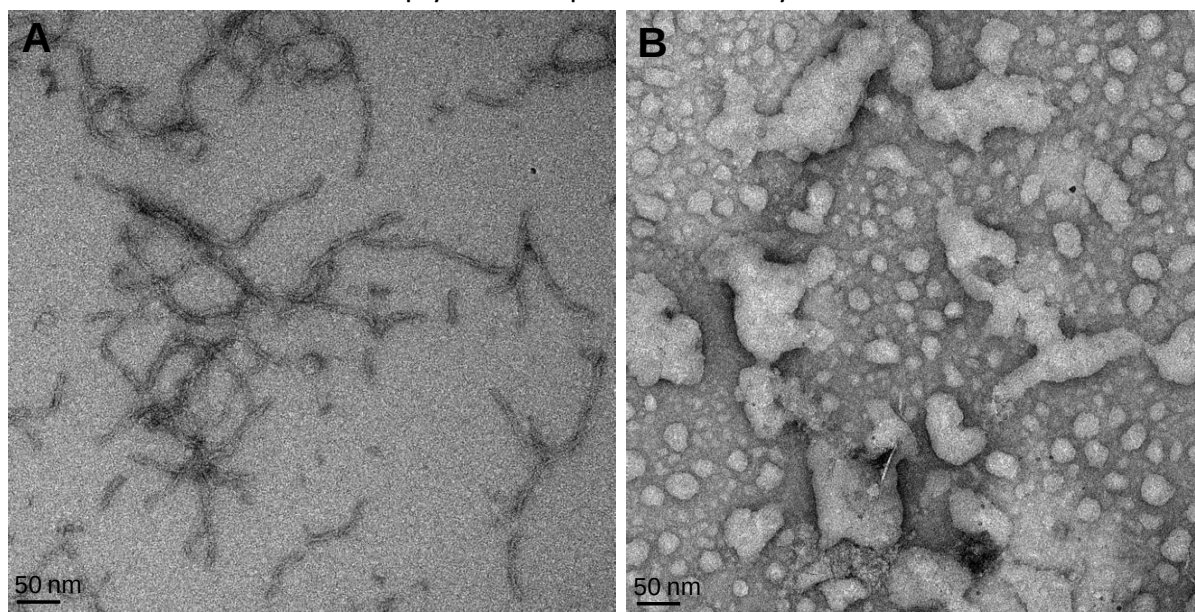
PLL wykazująca zróżnicowany proces fibrylogenezy posłużyła w kolejnej części badań jako model różnorodnych struktur fibrylarnych zbudowanych z polarnych polipeptydów. Na przykładzie PLL zbadano wpływ wymienionych wcześniej związków o aktywności anty- i pro-neurodegeneracyjnej na strukturę form fibrylarnych polarnego polipeptydu uwzględniając rolę typu struktur drugorzędowych, obecności dodatnich ładunków w łańcuchach bocznych aminokwasów czy hydrofobowych oddziaływań pomiędzy kontaktującymi się ze sobą węglowodorowymi łańcuchami bocznymi aminokwasów.

Resweratrol

Przykładem związku polifenolowego o działaniu anty-neurodegeneracyjnym, udokumentowanym m.in. dla choroby Alzheimera [1], jest Res (**Rysunek 1**). Jednym z proponowanych mechanizmów neuroprotekcynego działania Res jest bezpośrednie oddziaływanie tych cząsteczek na struktury fibryli amyloidowych. Dotychczasowe badania pokazały, że cząsteczki Res preferencyjnie oddziałują z niepolarnymi aminokwasami białek amyloidowych prowadząc do zahamowania tworzenia form fibrylarnych lub reorganizacji powstałych wcześniej fibryli w nietoksyczne amorficzne formy agregacyjne [37-40]. Badania prezentowane w pracy **H4** wykazały na przykładzie PLL, że Res może być inhibitorem fibrylogenezy również dla polarnych homopolipeptydów. Udowodniłam, że Res hamuje formowanie się dojrzałych β -strukturalnych fibryli PLL z powstałych wcześniej β -strukturalnych protofibryli PLL, oraz prowadzi do reorganizacji powstałych wcześniej β -kartkowych fibryli PLL w amorficzne formy tworzone przez samoagregację nieuporządkowanych struktur PLL (**Rysunek 4**) [**H4**]. β -Kartkowe fibryle i protofibryle, z którymi cząsteczki Res oddziaływały, powstawały z nienaładowanych cząsteczek PLL w roztworze wodnym o pH silnie zasadowym. Na podstawie charakterystyki stanu konformacyjnego (*gauche/trans*) łańcuchów bocznych Lys, który ma bezpośredni wpływ na oddziaływania hydrofobowe w strukturach peptydowych, wysunęłam wniosek, że warunkiem działania Res na struktury PLL jest obecność w nich oddziaływań hydrofobowych pomiędzy ściśle kontaktującymi się ze sobą węglowodorowymi łańcuchami bocznymi Lys. Oddziaływania te mogą być przyczyną wysokiej specyficzności Res, która przejawia się w silnej modyfikacji β -strukturalnych fibryli PLL i w braku oddziaływań Res na strukturę pozostałych typów fibryli PLL. W fibrylach PLL bogatych w formy PPII lub α -helikalne, należy się spodziewać słabszych oddziaływań hydrofobowych pomiędzy luźniej upakowanymi węglowodorowymi łańcuchami bocznymi Lys bogatymi w konformery *gauche*, co warunkuje osłabienie działania cząsteczek Res na te struktury. Dla fibryli tworzonych w roztworach

wodno-metanolowych o pH obojętnym z dodatnio naładowanych cząsteczek PLL o konformacji α -helikalnej lub PPII, obecność ładunku może być dodatkowym czynnikiem hamującym wpływ niepolarnych cząsteczek Res na te struktury. Przedstawione powyżej wnioski pozwalają rozpatrywać Res w kontekście efektywnego anty-fibrylarnego czynnika działającego selektywnie względem β -kartkowych fibryli zbudowanych z poli-lizynowych peptydów.

Wpływ Res na β -kartkowe fibryle PLL



Rysunek 4. β -Kartkowe fibryle PLL powstałe w roztworze wodnym o pH zasadowym pod wpływem wzrostu temperatury do wartości 60 °C (A), amorficzne formy tworzone przez samoagregację nieuporządkowanych struktur PLL, które powstały w wyniku działania cząsteczek Res na uformowane wcześniej β -kartkowe fibryle PLL w roztworze wodnym o pH zasadowym i w temperaturze 60 °C (B) [H4].

Oddziaływania elektrostatyczne pomiędzy naładowanymi cząsteczkami białek i lipidów tworzących błony są uważane w układach żywych komórek za przyczynę wzajemnego wpływu obu komponentów na swe struktury i na zależne od struktury ich aktywności biologiczne. Jak wspomniano wyżej, rodzaj struktury drugorzędowej PLL odgrywa ważną rolę w procesie fibrylogenezy PLL i może determinować wrażliwość form fibrylarnych PLL na działanie czynników anty-fibrylarnych (co pokazano na przykładzie cząsteczek Res). Dlatego w kolejnej pracy, H5, postawiłam sobie pytanie czy obecność błon lipidowych zbudowanych z równomolowej mieszaniny zwiterjonowego lipidu (dipalmitoilofosfatydylocholiny (DPPC)) i ujemnie naładowanego lipidu (dipalmitoilofosfatydyloglicerolu (DPPG)) wpływa na strukturę

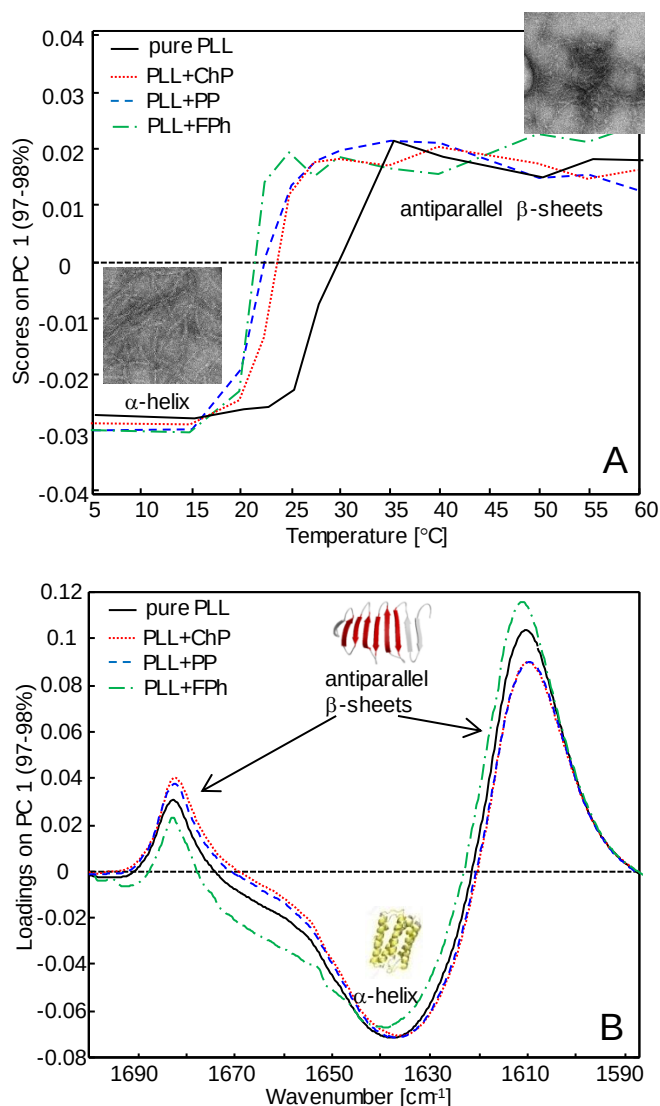
drugorzędowną dodatnio naładowanej PLL oraz jak obecność cząsteczek Res wpływa na oddziaływania w układzie błona DPPC/DPPG – PLL. W pracy **H5** wykazałam znaczące zmiany w strukturze drugorzędownej PLL oraz w stanie konformacyjnym (*gauche/trans*) węglowodorowych łańcuchów cząsteczek lipidowych i w stopniu uwodnienia interfazy błony lipidowej, zachodzące pod wpływem wzajemnych oddziaływań w układzie błona DPPC/DPPG (ujemnie naładowana) – PLL (dodatnio naładowana). Proces termicznej denaturacji PLL był hamowany w obecności błon DPPC/DPPG, przy których wzrost temperatury powodował reorganizację struktur α -helikalnych w formy PPII dodatnio naładowanych cząsteczek PLL. Warto zwrócić uwagę, że reorganizacja struktury drugorzędownej PLL biegła równolegle ze zmianą konformacji *trans/gauche* grup CH₂ łańcuchów lipidowych w układach błona-PLL jak i w układach błona-PLL modyfikowanych cząsteczkami Res, dla których oddziaływania błona-PLL nadal istniały. Obecność cząsteczek PLL wywoływała wzrost udziału konformerów *trans* grup CH₂ w węglowodorowych łańcuchach lipidowych błony. Podobny kierunek zmian (choć o mniejszej sile) w stanie konformacyjnym hydrofobowej części błony był obserwowany po wprowadzeniu cząsteczek Res w strukturę czystych (tzn. niezasocjowanych z PLL) błon lipidowych. Przedstawione w pracy **H5** badania wykazały, że Res, który nie był w stanie modyfikować struktury drugorzędownej samej (niezasocjowanej z błoną lipidową) PLL, zmieniał ją poprzez modyfikacje we wzajemnych oddziaływaniach błon lipidowa – PLL. Wykazałam, że wpływ cząsteczek Res na wzajemne oddziaływania pomiędzy lipidowymi i peptydowymi składnikami badanego układu zależał od stężenia i sposobu wprowadzenia cząsteczek Res w układ błona lipidowa – PLL. Res okazał się być najsilniejszym modulatorem wzajemnych oddziaływań błona – PLL, gdy poprzez fazę wodną w wyższym stężeniu został wprowadzony do badanego układu błonowo – peptydowego. W tym przypadku obserwowałam całkowite zniesienie wpływu obecności błon lipidowych na reorganizację struktury drugorzędownej PLL wywołaną wzrostem temperatury. Otrzymane wyniki pokazują, że struktury drugorzędowne PLL mogą być modyfikowane przez bezpośrednie [**H4**] lub pośrednie (z udziałem błon lipidowych) [**H5**] oddziaływania z cząsteczkami Res, co pozwala przypuszczać, że zależny od struktury drugorzędownej proces fibrylogenezy PLL również może być modyfikowany poprzez bezpośredni jak i pośredni (błonowo - zależny) wpływ Res. Przyczynę innych niż anty-fibrylarne właściwości biologicznych cząsteczek Res również upatruje się w oddziaływaniu tych cząsteczek na struktury białek i błon lipidowych. Znane są przykłady polarnych białek zasadowych: cytochrom 3A i histony [41,42], których aktywność jest regulowana cząsteczkami Res. W literaturze nadal prowadzi się dyskusję, czy niepolane cząsteczki Res mogą bezpośrednio oddziaływać ze strukturami polarnych białek/peptydów. Na

przykładzie PLL, wykazałam, że cząsteczki Res mogą bezpośrednio oddziaływać ze strukturami zasadowego polipeptydu, pod warunkiem, że nienaładowane łańcuchy PLL przyjmują konformację β -krotek, które poprzez samoagregację warunkują wzrost siły oddziaływań hydrofobowych pomiędzy węglowodorowymi łańcuchami bocznymi Lys [H4]. Na α -helikalne i PPII konformacje naładowanych łańcuchów polipeptydowych, cząsteczki Res nie mają bezpośredniego wpływu [H4, H5], jednak struktury te mogą być pośrednio modyfikowane w obecności ujemnie naładowanych błon lipidowych [H5].

Związki fenotiazynowe

W dyskusjach naukowych indukowane związkami fenotiazynowymi objawy polekowego parkinsonizmu kojarzone są z powstawaniem białkowych form fibrylarnych typowych dla schorzeń neurodegeneracyjnych. Mimo to, w literaturze naukowej można znaleźć zaledwie kilka prac [43,44] mówiących o bezpośrednim wpływie wybranych do badań związków fenotiazynowych na struktury fibrylarne. Cząsteczki FPh uważa się za aktywatory tworzenia fibryli peptydu $A\beta_{1-42}$ czy białka ludzkiej apolipoproteiny C-II, które biorą udział w powstawaniu odpowiednio choroby Alzheimera i aterosklerozy [43]. Nadal bez odpowiedzi pozostają pytania, czy pro-fibrylarne aktywności związków fenotiazynowych zależą od sekwencji aminokwasowej, polarności lub struktury drugorzędowej białek/peptydów tworzących fibryle. W pracy H3 przedstawiłam wpływ wybranych cząsteczek fenotiazynowych (FPh, ChP i PP, **Rysunek 1**) na strukturę drugorzędową i morfologię powstających fibryli polarnego homopolipeptydu, PLL. Na podstawie przeprowadzonych badań TEM, FTIR, VCD, oraz analizy PCA otrzymanych serii widm w zakresie drań amidowych I', wykazałam brak wyraźnego wpływu FPh, ChP i PP na morfologię i strukturę drugorzędową agregatów fibrylarnych zbudowanych z naładowanych i nienaładowanych łańcuchów polipeptydowych cząsteczek PLL. W obecności badanych związków fenotiazynowych nadal powstawały fibryle o charakterystycznej nitkowej substrukturze, reprezentowane przez α -helikalne lub PPII konformacje bogate w konformery *gauche* grup CH_2 w węglowodorowych łańcuchach bocznych Lys. β -Strukturalne protofibryle oraz, powstające z nich pod wpływem wzrostu temperatury w zasadowym roztworze wodnym, formy dojrzałe β -karkowych fibryli, z węglowodorowymi bocznymi łańcuchami bogatymi w konformacje *trans*, powstawały również w obecności związków fenotiazynowych. Mimo braku wpływu badanych fenotiazyn na struktury różnych form fibrylarnych PLL, w pracy H3 wykazałam znaczne obniżenie (rosnące w szeregu FPh>PP>ChP) temperatury koniecznej do zainicjowania formowania się β -strukturalnych fibryli z α -helikalnych fibryli PLL w roztworze wodnym o odczynie zasadowym

(Rysunek 5). Efekt ten zinterpretowałem jako pro-fibrylarne aktywności związków fenotiazynowych względem β -strukturalnych fibryli PLL, manifestujące się w obniżeniu energii termicznej, jaką należy dostarczyć do układu w celu zainicjowania formowania się β -karkowych fibryli z α -helikalnych fibryli PLL. Zlatić i współpracownicy [43] również odnotowali niewielki efekt cząsteczek FPh na strukturę β -karkowych fibryli peptydu $A\beta_{1-42}$ i ludzkiej apolipoproteiny C-II. Z drugiej strony wykazali wyraźne przyspieszenie procesu formowania się tych fibryli, które zinterpretowali jako pro-fibrylarne właściwości FPh.



Rysunek 5. Wpływ badanych związków fenotiazynowych na temperaturę, w której zachodzi skokowa reorganizacja α -helikalnych struktur PLL w formy β -kark antyrównoległych i której towarzyszy reorganizacja α -helikalnych fibryli w β -karkowe fibryle PLL. Analiza PCA pokazująca charakter ewolucji zmian struktury drugorzędowej PLL modyfikowanej fenotiazynami w roztworze wodnym o pH zasadowym w funkcji wzrastającej temperatury w przedziale od 10 do 60 °C [H3]. Zależności wartości czynnikowych (A) i ładunków czynnikowych (B) otrzymane podczas analizy PCA.

Wykazałem również, że wywołana zmianą składu rozpuszczalnika (zmianą stosunku udziału metanolu do wody) reorganizacja bogatych w PPII fibryli w α -helikalne fibryle formowane przez dodatkowo naładowane łańcuchy PLL, w znacznie mniejszym stopniu była modyfikowana obecnością cząsteczek FPh

[H2, H3] i praktycznie wcale przy obecności ChP i PP [H3]. Przedstawione w pracach H2 i H3 badania pozwalają rozpatrywać badane cząsteczki fenotiazynowe jako potencjalne modulatory fibrylogenezy polarnych peptydów, jednak aktywność ta może zależeć od rodzaju struktury drugorzędowej naładowanych lub nienaładowanych podjednostek polipeptydowych budujących agregaty fibrylarne. Porównując dane uzyskane w pracy H3 z dostępnymi obecnie danymi literaturowymi [43], można przypuszczać, że pro-fibrylarne właściwości związków

fenotiazynowych nie są specyficzne dla jednego rodzaju białka/peptydu; na przykładzie FPh, właściwości te obserwuje się względem β -kartkowych fibryli zbudowanych z polarnego homopolipeptydu (PLL) jak i z peptydu A β ₁₋₄₂ czy białka ludzkiej apolipoproteiny C-II o odmiennych sekwencjach aminokwasowych.

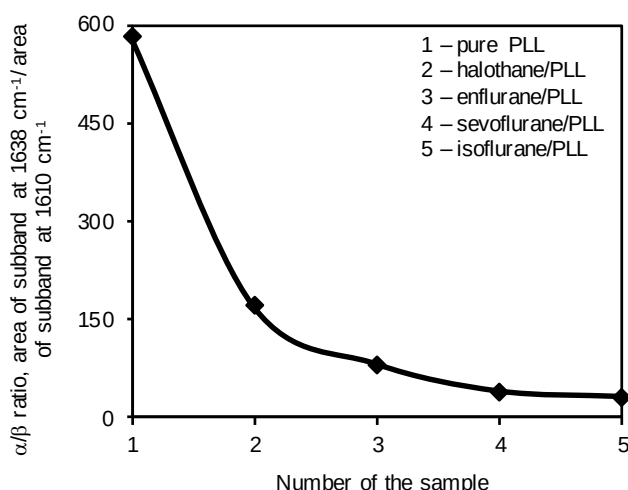
W przypadku związków fenotiazynowych molekularnym celem ich działania oprócz białek są również błony lipidowe. W literaturze naukowej rola oddziaływań błonowych jest dyskutowana w kontekście wielu różnych aktywności biologicznych jakie związki fenotiazynowe wykazują w układach biologicznych [9,10,45]. Przedstawione w pracy **H6** badania FTIR dowiodły istnienia bezpośrednich oddziaływań pomiędzy FPh a cząsteczkami DPPC błon lipidowych oraz wykazały wpływ FPh na stan konformacyjny lipidowych łańcuchów węglowodorowych. Na podstawie analizy położenia maksimum pasm $\nu_{as} PO_2^-$ i $\nu C=O$, w układach suchych (nieuwodnionych) błon DPPC stwierdzono tworzenie wiązań wodorowych pomiędzy protono-akceptorowymi grupami PO_2^- i $C=O$ cząsteczek DPPC a protono-donorowymi grupami OH cząsteczek FPh. Przesunięcie maksimum pasma νOH w kierunku niższych częstotliwości dla układu DPPC/FPh w stosunku do położenia maksimum pasma νOH obserwowanego w układzie samych cząsteczek FPh świadczy o wzroście siły wiązań wodorowych tworzonych pomiędzy cząsteczkami DPPC i FPh w stosunku do siły wiązań wodorowych tworzonych pomiędzy grupami OH cząsteczek FPh. Tak korzystnych oddziaływań DPPC-FPh należy się spodziewać również w uwodnionych błonach DPPC domieszkowanych cząsteczkami FPh. Oprócz bezpośrednich oddziaływań FPh z polarnym rejonem błony, w pracy **H6** wykazano również zmiany w stanie konformacyjnym hydrofobowego obszaru uwodnionych błon DPPC wywołane obecnością cząsteczek FPh. Temperatura głównego przejścia fazowego, przy której następuje skokowy wzrost udziału konformerów *gauche* grup CH_2 lipidowych łańcuchów węglowodorowych, ulegała wyraźnemu obniżeniu w obecności cząsteczek FPh. Wraz ze wzrostem stężenia FPh zaobserwowano przyrost udziału konformerów *gauche* warunkujący konformacyjne rozluźnienie w hydrofobowych obszarach agregatów lipidowych domieszkowanych FPh. W konformacyjnym rozluźnieniu struktury błon lipidowych oraz w indukowanych wyższymi stężeniami FPh reorganizacjach struktur błonowych w nie błonowe agregaty lipidowe, charakteryzujące się wąskim sygnałem ^{31}P NMR [**H6**], upatruje się przyczynę anty-chemoprewencyjnego (zależnego od aktywności glikoproteiny P (Pgp)) działania cząsteczek FPh. Wpływ cząsteczek FPh na aktywność białka Pgp zastał wykazany w pracach [46,47] na przykładzie kultur ludzkich limfocytów. W późnej anty-chemoprewencji, uwrażliwienie komórek nowotworowych na

działanie cytostatyków często odbywa się poprzez nadekspresję transbłonowego białka, Pgp, które w stanie aktywnym zmniejsza wewnątrzkomórkowe stężenie cytostatyków efektywnie wypompowując je na zewnątrz komórki. Aktywność Pgp jest regulowana zmianami w strukturze i właściwościach fizykochemicznych otaczających ją błon lipidowych. Obecność Pgp w zwartych i sztywnych strukturach raft sfingomielinowych [17-20] oraz wzrost zawartości cholesterolu w błonach lipidowych [17-20], zwiększa aktywność transportową Pgp w wyniku usztywnienia struktury błon lipidowych. Z drugiej strony wiadomo, że fluidyzacja błony wywołana obecnością np. detergentów, surfaktantów czy anestetyków obniża aktywność Pgp [48,49]. Na tej podstawie można przypuszczać, że cząsteczki FPh w sposób pośredni, tzn. poprzez indukowanie przyrostu udziału konformerów *gauche* w części hydrofobowej błon fosfatydylocholinowych, hamując aktywność Pgp w konformacyjnie rozluźnionych błonach, obniżają efektywność usuwania cytostatyków z wnętrza komórek nowotworowych i w ten sposób wykazują anty-chemoprewencyjne aktywności. W indukowanych przez cząsteczki FPh modyfikacjach strukturalnych błon lipidowych można upatrywać przyczynę innych niż anty-chemoprewencyjne aktywności FPh. Pokazany w pracy **H6** na przykładzie błon DPPC silny wpływ FPh na strukturę błon lipidowych, a w pracach **H2**, **H3** i [43] wpływ cząsteczek fenotiazynowych na formowanie się β -strukturalnych fibryli, wskazuje na powinowactwo fenotiazyn względem struktur peptydowych jak i błonowych i tym samym sugeruje białkowo-błonowo - zależny mechanizm pro-neurodegeneracyjnych aktywności tych cząsteczek.

Związki o działaniu anestetycznym

Ostatnią grupą związków, które przebadalam pod kątem ich wpływu na strukturę PLL i modelowych błon lipidowych były halogenopochodne krótkołańcuchowych eterów, alkanów i alkoholi (**Rysunek 1**). Wpływ halotanu (reprezentującego halogenopochodne alkanów o właściwościach anestetycznych) jak również enfluranu, sewofluranu i izofluranu (będących przykładem halogenopochodnych eterów o właściwościach anestetycznych) na strukturę drugorzędową PLL został opisany w pracy **H7** z wykorzystaniem badań FTIR i VCD. Na podstawie wartości stosunku pola powierzchni składowej pasma amidowego I' z maksimum przy 1638 cm^{-1} , charakteryzującego udział struktur α -helikalnych, do wartości pola powierzchni składowej pasma amidowego I' z maksimum przy 1610 cm^{-1} , charakteryzującego udział struktur β -katek antyrównoległych PLL, przedstawionego na **Rysunku 6** jako współczynnik α/β , został określony wpływ wymienionych wyżej anestetyków na zmiany w udziale obu typów struktur drugorzędowych PLL badanej w warunkach promujących powstawanie α -helikalnych struktur z nienaładowanych łańcuchów PLL, tzn. w roztworze

wodnym o pH silnie zasadowym i w temperaturze 10 °C. Wszystkie z przebadanych anestetyków indukowały częściową reorganizację α -helikalnych struktur w formy β -katek PLL. Najsilniejszym modulatorem okazał się być izofluran i sewofluran, nieco słabszym enfluran a najsłabszym halotan (**Rysunek 6**). Wyznaczone w pracy **H7** wartości współczynnika α/β korelowały z wyznaczonymi w pracy [50] wartościami minimalnego stężenia pęcherzykowego określanego jako parametr MAC (z ang. *minimum alveolar concentration*) i charakteryzującego stężenie anestetyku wziewnego konieczne do powstrzymania reakcji ruchowych w odpowiedzi na zewnętrzny bodziec u 50% populacji ludzi dorosłych. Najwyższą wartość współczynnika α/β otrzymano dla halotanu, który z pośród badanych anestetyków wykazywał najsilniejsze działanie anestetyczne, tzn. posiadał najniższą wartości MAC równą 0,75 [50]. Badanym halogenopochodnym eterów, wykazującym w przybliżeniu o połowę większą wartość MAC (1,17 (izofluran), 1,63 (enfluran), 1,80 (sewofluran) [50]), czyli słabsze działanie anestetyczne, towarzyszył około dwu- lub trzykrotny spadek wartości współczynnika α/β . Jednym z ważniejszych osiągnięć pracy **H7** było więc wykazanie, że każdy z wybranych do badań anestetyków modyfikował α -helikalne struktury PLL, jednak z różną siłą. Związki o silniejszym działaniu anestetycznym słabiej reorganizowały α -helikalne struktury zasadowego homopolipeptydu w formy β -katek antyrównoległych. Za jeden z możliwych mechanizmów anestezji uważa się zdolność anestetyków do modyfikacji α -helikalnych struktur białkowych [51-53], a zaprezentowane w pracy **H7** wyniki również temu dowodzą.



Rysunek 6. Reorganizacja α -helikalnych struktur PLL w formy β -katek antyrównoległych zachodząca w roztworze wodnym o pH zasadowym w temperaturze 10 °C pod wpływem działania związkami anestetyków wziewnych [**H7**].

Ponieważ coraz częściej podkreśla się rolę anestezji w rozwoju chorób

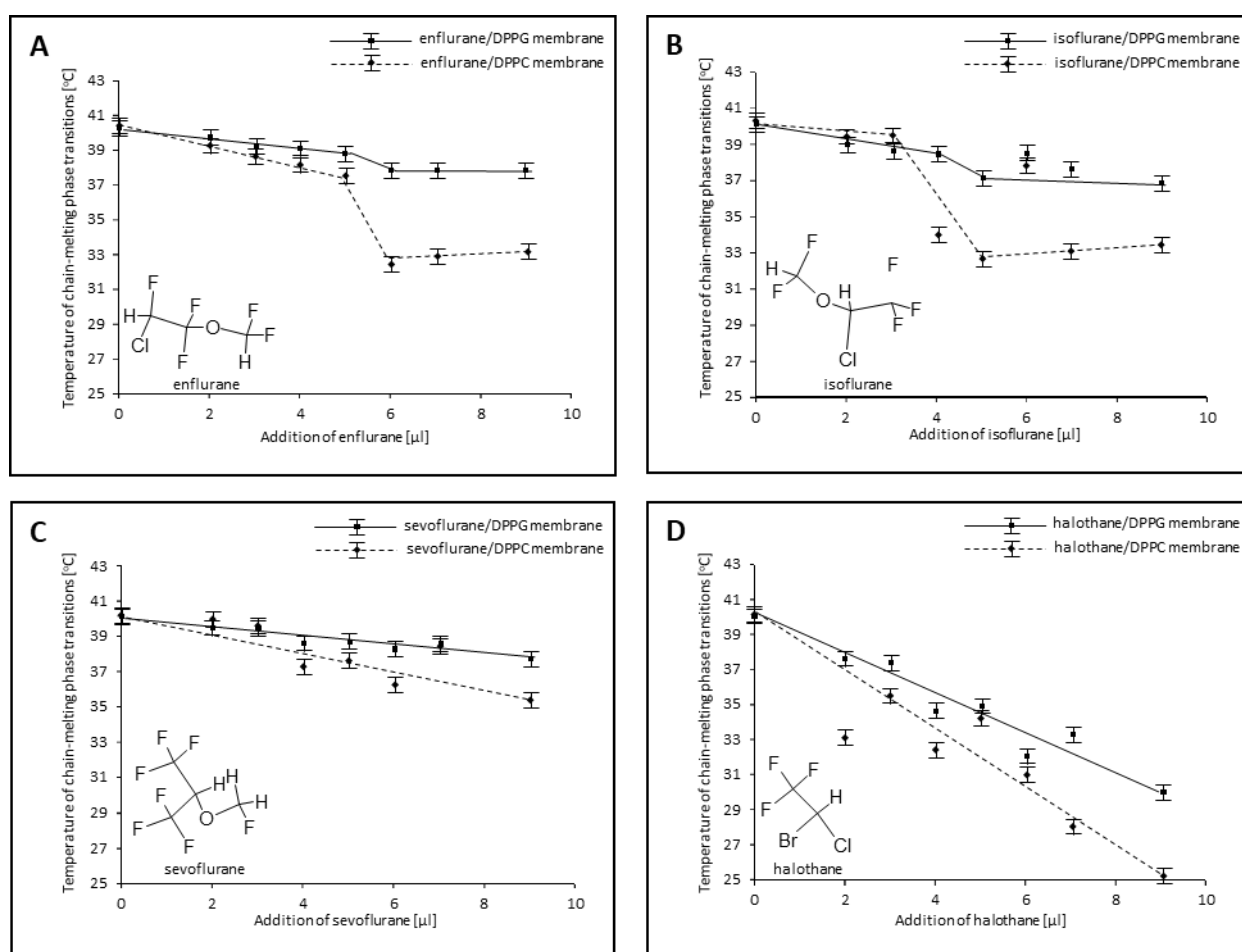
neurodegeneracyjnych, głównie choroby Alzheimera [7,8], indukowana cząsteczkami halotanu, izofluranu, enfluranu i sewofluranu reorganizacja α -helikalnych struktur w formy β -katek, które w naturalnie występujących fibrylach amyloidowych uważa się za podstawową

ich strukturę drugorzędową, została w pracy **H7** zinterpretowana również w kontekście profibrylarnych aktywności badanych anestetyków.

Równie ważnym osiągnięciem przedstawionym w pracy **H7**, było wykazanie, że badane anestetyki modyfikują struktury α -helikalne tworzone tylko przez nienaładowane łańcuchy PLL. Konformacje α -helikalne wraz z formami PPII, które powstawały z dodatnio naładowanych łańcuchów PLL w mieszaninie metanol-woda o pH obojętnym, nie były wrażliwe na działanie anestetyków [**H7**].

Molekularne cele działania cząsteczek anestetyków to białka jak również błony lipidowe. W pracach **H8** i **H9** wykazałam, że podobnie jak dla PLL [**H7**], oddziaływanie anestetyków na strukturę błon lipidowych zależy od obecności ładunku na jej powierzchni. W pracy **H8** pokazano wpływ halotanu, izofluranu, enfluranu i sewofluranu na temperaturę przejścia fazowego, w której następowała skokowa reorganizacja konformerów *trans* grup CH₂ węglowodorowych łańcuchów cząsteczek lipidowych w konformery *gauche*, dla błon lipidowych o wypadkowym ładunku zerowym, zbudowanych z zwiterjonowych cząsteczek DPPC. W pracy **H9** przedstawiono te same badania, ale dla błon lipidowych o ujemnym ładunku wypadkowym, zbudowanych z cząsteczek DPPG. Należy podkreślić, że w pracy **H8** po raz pierwszy pokazano możliwość wykorzystania techniki spektroskopii FTIR w zakresie NIR, wspomaganej analizą PCA, do badań stanu konformacyjnego (*trans/gauche*) hydrofobowej części uwodnionych systemów błon lipidowych. Analiza sygnałów pochodzących od pierwszych nadtonów drgań rozciągających asymetrycznych i symetrycznych grup CH₂ lipidowych łańcuchów węglowodorowych ($2\nu_{as,s}CH_2$) pozwala z taką samą dokładnością jak dla powszechnie analizowanych sygnałów pochodzących od drgań podstawowych $\nu_{as,s}CH_2$ określić zmiany w stanie konformacyjnym lipidowych łańcuchów w hydrofobowej części błony [**H8**, **H9**]. Przedstawione w pracach **H8** i **H9** wyniki badań FTIR w zakresie NIR pozwoliły wykazać, że niezależnie od rodzaju badanych błon lipidowych, cząsteczki badanych anestetyków (halotanu, sewofluranu, enfluranu i izofluranu) obniżały temperaturę przejścia fazowego błon wraz ze wzrostem ich stężenia, **Rysunek 7**. Efekt ten był silniejszy dla błon DPPC o zerowym ładunku wypadkowym niż dla ujemnie naładowanych błon DPPG, ale charakter (kierunek) zmian dla obu błon lipidowych był podobny. W błonach DPPC i DPPG, cząsteczki halotanu najsilniej obniżały temperaturę przejścia fazowego. Dla halogenopochodnych eterów (sewofluranu, enfluranu i izofluranu) efekt ten był nieco słabszy. Dodatkowo, dla obu typów błon modyfikowanych enfluranem i izofluranem, w środkowym zakresie stężeń anestetyków następował ostrzejszy spadek wartości temperatury przejścia fazowego, po którym nie obserwowano dalszego spadku temperatury mimo wzrostu stężeń obu

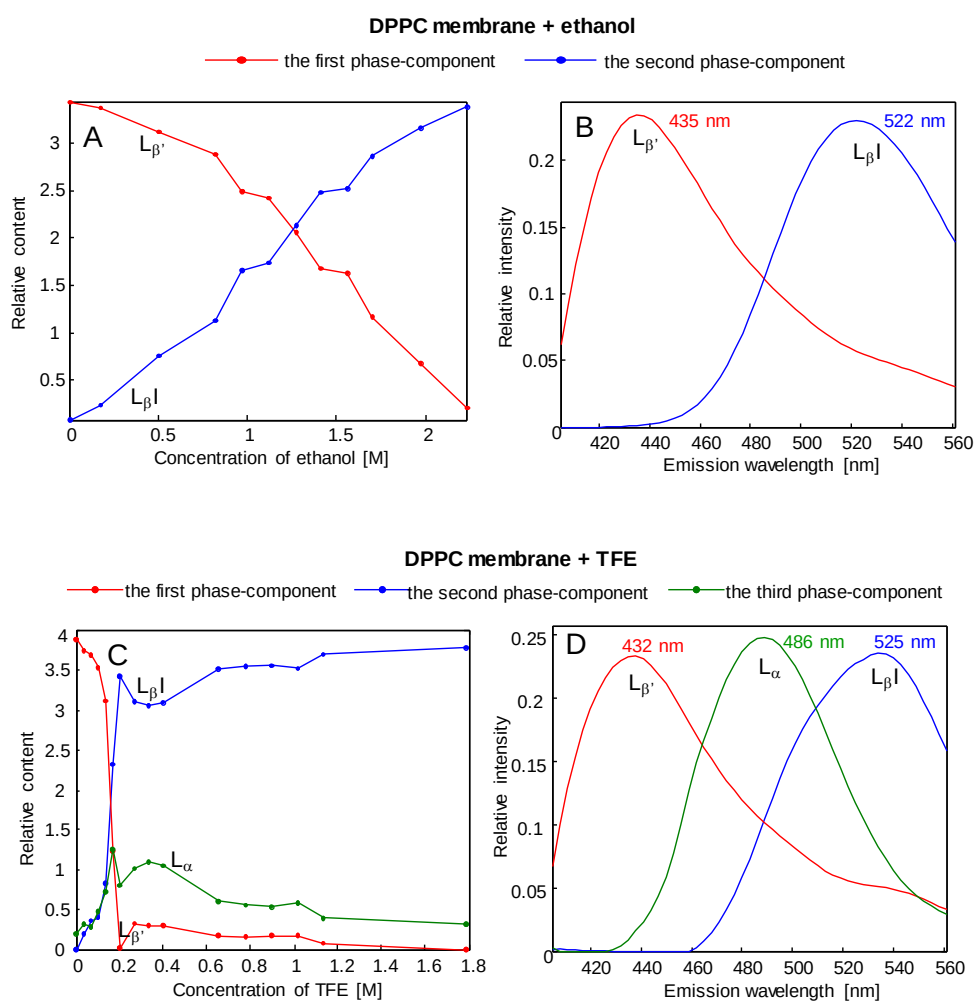
anestetyków. Zahamowanie spadku wartości temperatury przejřcia fazowego błon lipidowych domieszkowanych wzrastającym stężeniem anestetyków, w literaturze naukowej [22,54], interpretowany jest jako pojawienie się fazy naprzemiennej (z ang. *interdigitated phase*, $L_{\beta I}$). Występowaniu fazy $L_{\beta I}$ często towarzyszy nie tylko zahamowanie spadku temperatury przejřcia fazowego wywołanego wzrostem stężenia anestetyku, ale nawet ponowny wzrost jej wartości, obserwowany przy najwyższych stężeniach anestetyków [22,54]. Pojawienie się fazy $L_{\beta I}$, w której lipidy z jednej monowarstwy wchodzą pomiędzy lipidy z drugiej monowarstwy, jest charakterystyczne dla wielu cząsteczek o działaniu anestetycznym [22,54].



Rysunek 7. Temperatura przejřcia fazowego dla błon DPPC (linia przerywana) i DPPG (linia ciągła) modyfikowanych związkami anestetyków w funkcji wzrastającego ich stężenia [H8,H9].

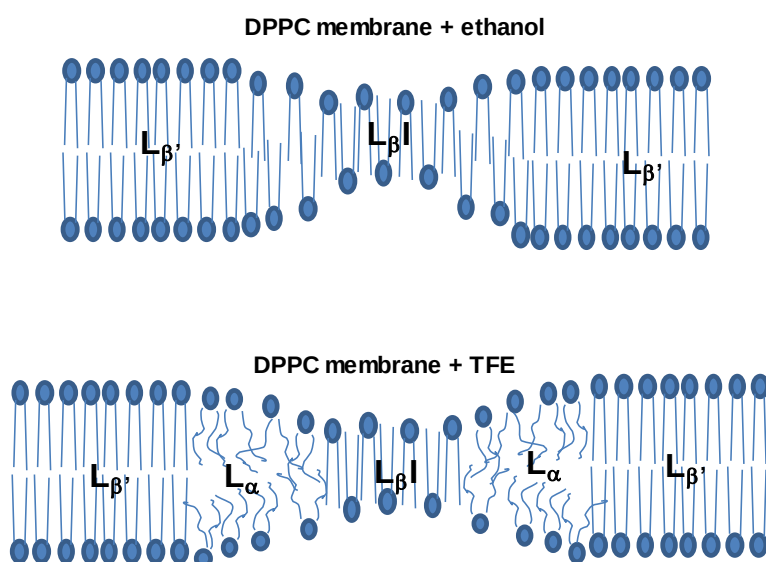
Jedną z nielicznych metod pozwalających na wykrycie fazy $L_{\beta I}$ w układach lipidowych jest spektroskopia fluorescencyjna z wykorzystaniem sondy Prodan [55]. W fazie $L_{\beta I}$ cząsteczki Prodanu wypychane są z wewnętrznych części błony na jej powierzchnię. Towarzyszący temu wzrost polarności otoczenia sondy przesuwając maksimum jej fluorescencji

w kierunku wyższych długości fali (520-525 nm). Na przykładzie etanolu oraz trifluoroetanolu (TFE), cząsteczek, które również wykazują działanie anestetyczne, w pracy **H10** dzięki zastosowaniu zaawansowanej analizy chemometrycznej opartej na metodzie PARAFAC dla serii widm emisyjno-wzbudzeniowych fluorescencji Prodanu, udało się udowodnić obecność fazy $L_{\beta}I$ indukowanej w błonie DPPC obecnością badanych alkoholi, **Rysunek 8**. Znaczącym osiągnięciem pracy **H10** było wykazanie współistnienia różnych faz w błonach DPPC modyfikowanych związkami alkoholi oraz przedstawienie profili stężeniowych charakteryzujących zmiany wzajemnych udziałów fazy żelowej (L_{β}'), ciekło-krystalicznej (L_{α}) i fazy $L_{\beta}I$, zachodzące w funkcji wzrastającego stężenia cząsteczek etanolu i TFE, **Rysunek 8**. Zastosowanie analizy PARAFAC pozwoliło pokazać, że faza $L_{\beta}I$ już dla niskich stężeń etanolu jest obecna w błonach DPPC i współistnieje z fazą żelową (L_{β}'). W literaturze, z powodu niewystarczająco czułych metod badawczych, panowało do tej pory przekonanie, że faza $L_{\beta}I$ pojawia się dopiero przy wyższych stężeniach etanolu odpowiadających krytycznemu stężeniu etanolu (rzędu 1 M) warunkującemu przejście fazy L_{β}' w fazę $L_{\beta}I$ [56-58].



Rysunek 8. Analiza PARAFAC dla serii widm emisyjno-wzbudzeniowych fluorescencji Prodanu otrzymanych dla błon DPPC modyfikowanych wzrastającym stężeniem etanolu (A,B) i TFE (C,D). Profile stężeniowe przedstawiono na rysunkach A i C, profile spektralne przedstawiono na rysunkach B i D [H10].

Kolejnym, ważnym osiągnięciem pracy **H10** było wykazanie, że podstawienie atomów wodoru w cząsteczce etanolu atomami fluoru znacząco obniża zakres stężeń alkoholu, przy którym faza $L_{\beta I}$ staje się dominującą strukturą. Liniowy przyrost udziału fazy $L_{\beta I}$ obserwowany wraz ze wzrostem stężenia etanolu, dla cząsteczek TFE przyjął charakter skokowego wzrostu obserwowanego już przy niskich zakresach stężeń TFE, po którym wysoki udział fazy $L_{\beta I}$ był utrzymywany na stałym poziomie. W pracy **H10** wykazano współlistnienie trzech faz w układzie błona DPPC-TFE; faza $L_{\beta I}$ (charakteryzowana przez Prodan z maksimum fluorescencji przy 525 nm) współlistniała z fazą $L_{\beta'}$ (charakteryzującą się Prodanem z maksimum fluorescencji przy 432 nm) i fazą L_{α} (charakteryzującą się Prodanem z maksimum fluorescencji przy 486 nm). Tę ostatnią nie obserwowano w błonach DPPC domieszkowanych etanolem, **Rysunek 8**. Przypuszcza się, że rola fazy L_{α} obecnej w domieszkowanych TFE błonach DPPC jest taka jak rola struktur ciekło-krystalicznych, które pojawiają się w fazie żelowej pomarszczonej błon lipidowych. W modelu asymetrycznym zaproponowanym w pracach [59-61], pofałdowanie struktury błony lipidowej w fazie żelowej pomarszczonej odbywa się poprzez współlistnienie struktury dwuwarstwy lipidowej i struktury naprzemiennej. Granice obu tych struktur różniących się szerokością błony połączone są ze sobą błoną o strukturze ciekło-krystalicznej. Na **Rysunku 9** przedstawiono schemat modelu pokazującego jak obserwowana w układzie DPPC-TFE faza L_{α} , występująca na granicy faz $L_{\beta'}$ i $L_{\beta I}$, łączy obie te struktury.



Rysunek 9. Model współlistnienia faz w błonach DPPC domieszkowanych etanolem i TFE [H10].

POSUMOWANIE

Do najważniejszych osiągnięć uzyskanych w zaprezentowanym cyklu badań zaliczam:

- wykazanie zróżnicowanego procesu fibrylogenezy polarnej PLL, warunkowanego zmianą struktury drugorzędowej polipeptydu;
- wykazanie anty- i pro-fibrylarnych właściwości, odpowiednio dla Res i cząsteczek fenotiazynowych, względem fibryli polarneho homopolipeptydu, PLL; wykazanie, że od rodzaju fibryli PLL zależy sposób oddziaływania na nie badanych cząsteczek; fibryle PLL bogate w struktury β -kardk, α -helisy czy formy PPII, powstające w roztworach o różnym składzie chemicznym, pH i temperaturze, różnią się między sobą stopniem zjonizowania łańcuchów bocznych Lys i siłą oddziaływań hydrofobowych pomiędzy kontaktującymi się ze sobą węglowodorowymi łańcuchami bocznymi Lys, co może być przyczyną różnic w oddziaływaniu ich z badanymi związkami;
- wykazanie, że na strukturę drugorzędową dodatnio naładowanej PLL wpływ ma obecność ujemnie naładowanych błon lipidowych (DPPC/DPPG) a cząsteczki Res poprzez zmianę we wzajemnych oddziaływaniach w układzie PLL/błona lipidowa, modyfikują strukturę dodatnio naładowanej PLL;
- wykazanie, że cząsteczki FPh oddziałują poprzez wiązanie wodorowe z cząsteczkami DPPC błon lipidowych i wpływają na ich stan konformacyjny w hydrofobowej części błony, co może być przyczyną ich anty-chemoprewencyjnych aktywności;
- wykazanie, że badane halogenopochodne krótkołańcuchowych eterów i alkanów zmieniają stan konformacyjny błon lipidowych poprzez modyfikacje temperatury, w której zachodzi skokowa reorganizacja konformerów *trans* grup CH₂ węglowodorowych łańcuchów cząsteczek lipidowych w konformery *gauche*; wywołane obecnością cząsteczek anestetyków modyfikacje w stanie konformacyjnym błon lipidowych były słabsze dla naładowanych struktur błonowych; struktury drugorzędowe dodatnio naładowanej PLL nie podlegały modyfikacjom pod wpływem badanych cząsteczek anestetyków a nienaładowane łańcuchy PLL w konformacji α -helikalnej ulegały częściowej reorganizacji w β -kardkowe struktury;
- wykazanie istnienia fazy naprzemiennej w błonach DPPC domieszkowanych cząsteczkami etanolu i TFE, którą uważa się za jedną z przyczyn wykazywania przez związki chemiczne aktywności anestetycznych; w układach DPPC/etanol wykazano współistnienie fazy naprzemiennej z fazą żelową a w układach DPPC/TFE współistnienie fazy naprzemiennej z fazą żelową i ciekło-krystaliczną, oraz przedstawiono profile stężeniowe charakteryzujące zmiany we wzajemnych udziałach współistniejących faz w funkcji wzrastającego stężenia badanego alkoholu.

WYKORZYSTANIE OTRZYMANYCH WYNIKÓW

Prezentowane wyżej badania wpasowują się w nurt badań podstawowych, które w myśl ich definicji mają za zadanie „zdobycie nowej wiedzy o podstawach zjawisk i obserwowalnych faktów bez nastawienia na bezpośrednie zastosowanie praktyczne”. Celem badań nie było praktyczne rozwiązanie danego problemu ale wykonanie badań podstawowych, dzięki którym w następnym kroku będzie można myśleć o rozpoczęciu badań aplikacyjnych. Otrzymane wyniki pozwalają przybliżyć białkowo- i błonowo - zależne mechanizmy, które rządzą procesem fibrylogenezy, anty-chemoprewencji czy anestezji. Uzyskana wiedza, w moim przekonaniu, stanowi część wiedzy fundamentalnej i jest „pojedynczą cegłą w ścianie” na drodze poszukiwania sposobów walki z jednymi z największych problemów obecnych czasów, jakim są choroby neurodegeneracyjne czy nowotworowe.

OMÓWIENIE PLANÓW BADAWCZYCH

W najbliższej przyszłości planuję podjąć się realizacji kolejnych tematów badawczych, które z jednej strony będą stanowiły kontynuację dotychczasowych badań, co pozwoli mi na korzystanie z nabytej już wiedzy i umiejętności, a z drugiej strony będą zawierały element nowatorski, który pozwoli mi na dalszy rozwój. Chciałabym więc podjąć badania nad mechanizmem zmiany oraz sposobu regulacji supramolekularnej choralności, którą można zaobserwować w strukturach fibrylarnych białek amyloidowych pod wpływem nawet niewielkich zmian w warunkach zewnętrznych. Jest to relatywnie nowy temat, który pokazuje jak ważną rolę w toksyczności i funkcjach biologicznych może odgrywać zmiana kierunku zwinięcia filamentów fibryli amyloidowych. Badania te będą możliwe m.in. dzięki zastosowaniu spektroskopii VCD. Obecnie nadzoruję i odpowiadam za działanie zespołowego laboratorium VCD funkcjonującego na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Kolejny temat, którym chciałabym się zająć, będzie dotyczył badań określających wpływ różnych klas związków o aktywności biologicznej na strukturę błon żywych komórek. Prowadzone przeze mnie do tej pory badania dotyczyły modelowych systemów błon lipidowych. Zastąpienie łatwiejszych w analizie układów modelowych systemami naturalnych błon komórkowych o dużo bardziej skomplikowanej i różnorodnej budowie, będzie wymagało ode mnie zastosowania specyficznych rozwiązań pomiarowych w badaniach FTIR czy NMR.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych i dydaktycznych

Podsumowanie całego dorobku naukowego

Obecnie jestem autorką lub współautorką 32 prac z Listy Filadelfijskiej o sumarycznym IF równym 69,346, które uzyskały 411 wszystkich cytowań, w tym 330 cytowań niezależnych (wg Web of Science, dane z dnia 26.04.2019). Mój indeks Hirsha wynosi 12. Przed uzyskaniem tytułu doktora byłam współautorką w 4 pracach a po uzyskaniu stopnia doktora w 28 pracach z Listy Filadelfijskiej. Ponadto jestem współautorką 4 publikacji naukowych opublikowanych w czasopismach poza Listą Filadelfijską i 6 rozdziałów w opracowaniach zbiorowych.

W całym dorobku naukowym byłam autorem do korespondencji w 24 pracach naukowych. Szczegółową charakterystykę danych bibliometrycznych mojego pełnego dorobku naukowego zamieściłam w załączniku nr 2.

Podsumowanie działalności naukowej nie wchodzącej w skład prezentowanego osiągnięcia naukowego

Pracę naukową rozpoczęłam w Zakładzie lipidów i liposomów na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego kierowanym wówczas przez prof. Arkadiusza Kozubka. Tam obroniłam w roku 2007 pracę magisterską, której wyniki weszły w skład opublikowanej pracy naukowej [62]. Podczas realizacji pracy magisterskiej miałam możliwość zapoznania się z fizykochemicznymi metodami (głównie fluorescencyjnymi) badania modyfikacji strukturalnych błon erytrocytów oraz opanowania warsztatu przygotowania struktur liposomowych służących jako ogólnie przyjęty model błon biologicznych. Kolejne techniki badawcze, np. FTIR-ATR, ³¹P NMR, DSC oraz metody obliczeniowe, pozwalające określić różnorodne właściwości strukturalne modelowych błon lipidowych modyfikowanych długołańcuchowymi związkami amfifilowymi, miałam możliwość poznać w trakcie realizacji studiów doktoranckich na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego pod opieką naukową prof. Aleksandra Kolla oraz na odbytych w tym okresie zagranicznych stażach naukowych realizowanych w ramach współpracy i projektów międzynarodowych (prof. Gottfried Köhler z Uniwersytetu w Wiedniu w Austrii oraz prof. Grdadolnik Jože z Uniwersytetu w Ljublanie w Słowenii). W tym samym czasie uczestniczyłam w programie Marie Curie Training Side. Program ten umożliwił mi prowadzenie wspólnych badań z prof. Wybrenem Bumą na Uniwersytecie w Amsterdamie w Holandii, dzięki którym poznałam zaawansowane metody

czasowo-rozdzielczej spektroskopii fluorescencyjnej i absorpcyjnej opisujące zjawiska zachodzące w stanie zbudzonym w zasadach Shiffa z wewnątrzcząsteczkowym wiązaniem wodorowym. Zdobytą wiedzę podczas wspomnianych wyżej wyjazdów zagranicznych wykorzystywałam do stworzenia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego warsztatu badawczego błon lipidowych opartego na metodach spektroskopii FTIR, fluorescencyjnej (z wykorzystaniem błonowych sond fluorescencyjnych) i NMR. Metody te do dziś wykorzystuję i rozwijam poszerzając zakres badanych układów i stosując coraz to nowe rozwiązania warsztatowe. Na ich podstawie określam zmiany strukturalne, stany fazowe błon lipidowych czy sposoby bezpośrednich oddziaływań pomiędzy cząsteczkami związków aktywnych biologicznie a lipidami tworzącymi błony.

Po uzyskaniu stopnia doktora nawiązałam szereg nowych współprac, dzięki którym zdobyłam nowe doświadczenia naukowe i podjęłam się realizacji nowych tematów badawczych. Współpraca z dr Agatą Jaszczyszyn, prof. Kazimierzem Gąsiorowskim oraz dr Piotrem Świątkiem i prof. Wiesławem Malinką z Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu umożliwiła mi współuczestniczenie w badaniach mających na celu poszukiwanie nowych struktur pochodnych flufenazyny o zredukowanej sile działania ubocznego na ośrodkowy układ nerwowy przy jednoczesnym zachowaniu lub wzmocnieniu ich psychotycznego i anty-chemoprewencyjnego działania [10,63,64].

We współpracy z prof. Andrzejem Hendrichem z Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu powstała wspólna publikacja [65] na temat wpływu wybranych flawonoidów na strukturę modelowych błon lipidowych.

Współpraca z prof. Bogusławą Czarnik-Matusewicz z Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego pozwoliła mi na podwyższenie jakości i strukturalnej rozdzielczości zmierzonych widm FTIR dla modyfikowanych błon lipidowych poprzez zastosowanie zaawansowanych analiz chemometrycznych opartych na dwuwymiarowej analizie korelacyjnej [66,67].

Podczas współpracy realizowanej w roku 2018 z prof. Noel Boens'em z Katolickiego Uniwersytetu w Leuven w Belgii, w ramach międzynarodowego projektu współpracy naukowej i technologicznej Polsko-Belgijskiej, prowadziłam szereg badań fluorescencyjnych mających na celu określenie fotofizycznych i chemicznych właściwości nowosyntezowanych pochodnych sondy BODIPY [68,69]. Prowadzone badania miały na celu zaproponowanie nowych struktur pochodnych sondy BODIPY, które wykazując nowe właściwości fizyko-chemiczne pozwolą rozszerzyć zakres układów w jakich sondy te będzie można użyć i rodzaj procesów jakie będą mogły one śledzić.

Realizowane projekty badawcze:

Po uzyskaniu tytułu doktora brałam (lub nadal biorę) czynny udział w 7 projektach badawczych, w tym w 6 krajowych i w 1 międzynarodowym (współpraca Polsko-Austriacka). W 5 z nich pełniłam (lub nadal pełnię) funkcję kierownika projektu a w 2 pozostałych pełniłam rolę głównego wykonawcy lub wykonawcy. Prace od **H1** do **H5**, które stanowią znaczący wkład w prezentowane osiągnięcie naukowe, powstały w ramach realizacji projektu OPUS-9, NCN i projektu KNOW 12, w których pełniłam lub nadal pełnię funkcję kierownika.

Pełną listę oraz szczegółową charakterystykę wszystkich projektów badawczych, w których brałam czynny udział o różnym charakterze w takcie całej mojej kariery naukowej zamieściłam z załączniku nr 2.

Staż w zagranicznych ośrodkach naukowych:

1. Wydział Chemii, Uniwersytet w Amsterdamie, Holandia, Amsterdam, program Marie Curie Research Training, stypendystka, badania naukowe na temat badań spektroskopowych przeniesienia protonu w zasadach Shiffa, 2003-2005 (10 miesięcy).
2. Instytut Chemii Teoretycznej i Biologii Strukturalnej, Uniwersytet w Wiedniu, Austria, Wiedeń, badania naukowe w ramach umowy międzynarodowej o współpracy naukowej i naukowo – technicznej z zagranicą. Temat: Badania fluorescencyjne i mikrokalorymetryczne struktur liposomowych domieszkowanych lipidami fenolowymi, 2003-2007 (4,5 miesiąca).
3. Wydział Chemii, Katolicki Uniwersytet w Lueven, Belgia, Leuven, badania naukowe w ramach programu bilateralnej współpracy naukowej i technologicznej, nr BIL05/16. Temat: Synteza i właściwości fotofizyczne nowych pochodnych BODIPY, 2008 (3 miesiące).
4. Narodowy Instytut Chemii w Lublaniu, Słowenia, Lubljana, badania naukowe w ramach umowy międzynarodowej o współpracy naukowej i naukowo – technicznej z zagranicą. Temat: Badania spektroskopowe wpływu pochodnych 3-pentadecylofenolu na strukturę modelowych błon lipidowych, 2003-2004 (ok. 1 miesiąc)

Udział w krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych:

Po uzyskaniu tytułu doktora wygłosiłam 2 wykłady na zaproszenie:

1. Na konferencji międzynarodowej: Central European School on Physical Organic Chemistry, "Molecular interactions in chemistry and biology", 29.05 - 02.06.2017,

Czeszów, Polska, tytuł wystąpienia (45 min): “TEM and spectroscopic studies of structural changes in poly-L-lysine”

2. Na konferencji krajowej: II Konferencja Naukowa Kosmetologia – wczoraj, dziś i jutro, 20-21 październik 2012, Wrocław, Polska, tytuł wystąpienia (45 min): „Pochodne fenotiazyny jako związki rozluźniające strukturę dwuwarstw lipidowych - regulacja procesu przenikania przez skórę.”

Ponadto wygłosiłam 5 ustnych wystąpień na 4 międzynarodowych i 1 krajowej konferencji naukowej; 3 z nich wygłosiłam po uzyskaniu tytułu doktora a 2 w trakcie trwania studiów doktoranckich. Jestem również współautorka w 7 wystąpieniach ustnych wygłoszonych przez moich współpracowników na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych. Jestem autorką lub współautorką 31 posterów prezentowanych na międzynarodowych konferencjach naukowych (30 po doktoracie i 1 przed uzyskaniem stopnia doktora) oraz 12 posterów prezentowanych na krajowych konferencjach naukowych (11 po doktoracie i 1 przed uzyskaniem stopnia doktora).

Uzyskane nagrody za działalność naukową i dydaktyczną:

1. *Stypendium naukowe* dla młodego doktora Uniwersytetu Wrocławskiego w ramach projektu „Rozwój potencjału i oferty edukacyjnej Uniwersytetu Wrocławskiego szansą zwiększenia konkurencyjności Uczelni”, okres realizacji: od 01-04-2011 do 30-09-2011.
2. *Stypendium naukowe* dla młodego doktora Uniwersytetu Wrocławskiego w ramach projektu „Rozwój potencjału i oferty edukacyjnej Uniwersytetu Wrocławskiego szansą zwiększenia konkurencyjności Uczelni”, okres realizacji: od 01-10-2011 do 31-03-2012.
3. *List gratulacyjny od Rektora* Uniwersytetu Wrocławskiego z okazji otrzymania grantu POMOST, FNP, październik 2012.
4. *Nagroda Rektora* Uniwersytetu Wrocławskiego za osiągnięcia dydaktyczne uzyskane w roku 2013, listopad 2014.
5. *Nagroda Rektora* Uniwersytetu Wrocławskiego za osiągnięcia dydaktyczne uzyskane w roku 2014, listopad 2015.
6. *Nagroda Rektora* Uniwersytetu Wrocławskiego za osiągnięcia naukowe uzyskane w roku 2017, listopad 2018.

7. *Wyróżnienie za wystąpienie ustne* (10 min.) zaprezentowane podczas VIII Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej – Młodzi Naukowcy w Polsce – Badania i Rozwój, listopad 2018r., Wrocław, Polska, temat: „Porównanie wpływu flufenazyny i propionylopromazyny na układ błony lipidowej DPPC/DPPG i poli-L-lizyny” Paulina Trombik, Katarzyna Cieřlik-Boczula, osoba wygłaszająca wystąpienie: Paulina Trombik.
8. *Wyróżniony poster* prezentowany na międzynarodowej konferencji The Fifth International Symposium on Two-Dimensional Correlation Spectroscopy, 05-07 sierpień 2009, Wrocław, Polska, tytuł: “The moving- window correlation analysis in studies of fluphenazine - DPPC interaction” Joanna Szwed, Katarzyna Cieřlik-Boczula, Bogusława Czarnik-Matusiewicz, osoba prezentująca: Joanna Szwed
9. *Wyróżniony poster* prezentowany na konferencji National Scientific Conference for PhD Students – 2nd edition, 2 marzec 2019 r., Kraków, tytuł: „How does cholesterol affect the DPPC/DPPG/PLL system?”, Paulina Trombik, Katarzyna Cieřlik-Boczula, osoba prezentująca: Paulina Trombik

Osiągnięcia dydaktyczne i opieka naukowa nad doktorantami i magistrantami:

Promotor pomocniczy w pracach doktorskich realizowanych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego:

1. dr Adriana Litwińczuk-Mammadova, od 22 styczeń 2013 do 24 styczeń 2017 r.
2. mgr Marta Kuć, od 14 marzec 2017 r. – nadal.

Promotor pomocniczy w pracach doktorskich realizowanych na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego:

1. mgr Patrycja Zawilska, doktorantka Wydziału Biotechnologii, Uniwersytetu Wrocławskiego, od 24 czerwiec 2014 – nadal.

W latach 2007 – 2018 byłem promotorem w 13 pracach magisterskich realizowanych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. W latach 2010 – 2017 pełniłem funkcje opiekuna naukowego w 8 pracach magisterskich realizowanych na Wydziale Chemii Uniwersytetu wrocławskiego oraz w 2 pracach magisterskich realizowanych na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego. Obecnie jestem promotorem w 3 pracach magisterskich realizowanych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.

W pracy dydaktycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego prowadzę szereg wykładów oraz zajęć laboratoryjnych i seminaryjnych dla studentów Wydziału Chemii i Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego w języku polskim jak również angielskim. Pełnię funkcję koordynatora 3 przedmiotów (Błony biologiczne i agregaty lipidowe, Inżynieria bioprosowa, Bioprocess engineering), które opracowałam od podstaw i uruchomiłam dla studentów Wydziału Chemii lub Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego w języku polskim lub angielskim. W roku 2015 opracowałam materiały dydaktyczne do wykładów i zajęć laboratoryjnych z przedmiotu Bioprocess engineering realizowanych w ramach nowego kierunku studiów Biotechnologia w języku angielskim w projekcie „Akademia Rozwoju - kluczem wzmocnienia kadr polskiej gospodarki.”. Moje zaangażowanie w pracę dydaktyczną zostało docenione dwoma nagrodami Rektora Uniwersytetu Wrocławskiego w 2015 i 2014 roku.

Prowadzone wykłady:

1. „*Błony biologiczne i agregaty lipidowe*” (15h) - koordynator przedmiotu, przedmiot do wyboru dla studentów III roku I st. Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Przedmiot opracowany i uruchomiony przeze mnie w roku akademickim 2012/2013.
2. „*Biospektroskopia oscylacyjna*” (30h) - koordynator przedmiotu, przedmiot do wyboru dla studentów II roku II st. Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Przedmiot prowadzę od roku akademickiego 2014/2015.
3. „*Inżynieria bioprosowa*” (30h) - koordynator przedmiotu, wykład kursowy dla studentów III roku I st. Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego, Przedmiot opracowany i uruchomiony przeze mnie w roku akademickim 2013/2014.
4. „*Bioprocess engineering*” (30h, w języku angielskim) - koordynator przedmiotu, wykład kursowy dla studentów III roku I st. Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego. Przedmiot opracowany i uruchomiony przeze mnie w roku akademickim 2016/2017.
5. „*Metody fizyko-chemiczne w chemii leków*” (4h), studenci I roku II st. Wydziału Chemii, UW.

Prowadzone zajęcia laboratoryjne i seminaryjne:

Biospektroskopia oscylacyjna, Metody fizyko-chemiczne w chemii leków, Physicochemical methods in biology (w języku angielskim), Inżynieria bioprosesowa, Bioprocess engineering (w języku angielskim), Modelowanie molekularne, Chemia kwantowa.

Zrealizowałam 2 projekty dydaktyczne:

1. Program: LLP-Erasmus Programme, Individual Teaching Programme for Teaching Staff Mobility, Academic Year 2012-2013, Uniwersytet w Wiedniu, Austria, 03-07 wrzesień 2013, wygłoszenie cyklu referatów oraz zajęć laboratoryjnych.
2. Uczestnictwo w specjalistycznych zajęciach z języka angielskiego w ramach realizowanego przez Uniwersytet Wrocławski projektu „Rozwój potencjału i oferty edukacyjnej Uniwersytetu Wrocławskiego szansą zwiększenia konkurencyjności Uczelni” współfinansowanego z Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, okres realizacji: 2013-2014.

Inne aktywności:

1. Członek Rady Naukowej czasopisma „Kosmetologia estetyczna”, od 2014 roku.
2. Członek Polskiego Towarzystwa Chemicznego (PTChem) od 2010 roku.
3. Członek Komisji Chemii i Fizyki w Biologii i Medycynie Oddziału PAN we Wrocławiu, od marca 2019 roku.
4. Sekretarz Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej Wydziału Chemii UWr., 2016 r.
5. Opiekun studentów I roku I st. Chemii Biologicznej Wydziału Chemii UWr. w latach 2011/2012
6. Opiekun studentów II roku I st. Chemii Biologicznej Wydziału Chemii UWr. w latach 2012-2016
7. Opiekun studentów I roku I st. Chemii Ogólnej Wydziału Chemii UWr. w latach 2018/2019

Recenzje:

1. Zrecenzowałam 27 publikacji naukowych w czasopismach międzynarodowych i krajowych, np. dla Nutrients (IF₂₀₁₇=4,196), Journal of Proteome Research (IF₂₀₁₇=3,950), Langmuir (IF₂₀₁₇=3,789), Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes (IF₂₀₁₇=3,438), Arabian Journal of Chemistry (IF₂₀₁₇=2,969),

Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy (IF₂₀₁₇=2,880), Journal of Physical Chemistry (IF₂₀₁₇=2,836), Chemistry and Physics of Lipids (IF₂₀₁₇=2,766), Phytochemical Analysis (IF₂₀₁₇=2,337), Physica Medica: European Journal of Medical Physics (IF₂₀₁₇=2,240), Neuropsychiatric Disease and Treatment (IF₂₀₁₇=2,195), itd.

2. Recenzja projektu OPUS 15, NCN, w roku 2018.
3. Recenzje prac magisterskich (1 w roku 2015) i licencjackich (1 w 2015 r., 2 w 2017 r., 1 w 2018 r.) na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.

Spis publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe

- [H1] Cieřlik-Boczula Katarzyna*, Alpha-helix to beta-sheet transition in long-chain poly-L-lysine: formation of alpha-helical fibrils by poly-L-lysine., *Biochimie*, 2017, 137, 106-114.
- [H2] Cieřlik-Boczula Katarzyna*, The PPII-to- α -helix transition of poly-L-lysine in methanol/water solvent mixtures accompanied by fibrillar self-aggregation: an influence of fluphenazine molecules., *Biophysical Chemistry*, 2017, 227, 14-20.
- [H3] Cieřlik-Boczula Katarzyna*, Effect of phenothiazine compounds on the secondary structure and fibrillogenesis of poly-L-lysine., *Spectrochimica Acta Part A - Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, 216, 15-24.
- [H4] Cieřlik-Boczula Katarzyna*, Trombik Paulina, Resveratrol modulates fibrillogenesis in a poly L lysine peptide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 125, 630-641.
- [H5] Cieřlik-Boczula Katarzyna*, Influence of resveratrol on interactions between negatively charged DPPC/DPPG membranes and positively charged poly-L-lysine., *Chemistry and Physics of Lipids*, 2018, 214, 24-34.
- [H6] Cieřlik-Boczula Katarzyna*, Szwed Joanna, Jaszczyszyn Agata, Gąsiorowski Kazimierz, Koll Aleksander Interactions of dihydrochloride fluphenazine with DPPC liposomes: ATR-IR and 31P NMR studies., *Journal of Physical Chemistry B*, 2009, 113, 15495-15502.
- [H7] Cieřlik-Boczula Katarzyna*, Rospenk Maria, Interaction of anesthetic molecules with α -helix and polyproline II extended helix of long-chain poly-L-lysine. *Spectrochimica Acta Part A - Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 189, 436-442.
- [H8] Kuć Marta, Cieřlik-Boczula Katarzyna*, Rospenk Maria Influence of inhalation anesthetics on the chain-melting phase transition of DPPC liposomes. Near-infrared spectroscopy studies supported by PCA analysis., *Vibrational Spectroscopy*, 2016, 85, 55-61.
- [H9] Kuć Marta, Cieřlik-Boczula Katarzyna*, Rospenk Maria, Anesthetic-dependent changes in the chain-melting phase transition of DPPG liposomes studied using near-infrared spectroscopy supported by PCA., *Spectrochimica Acta Part A - Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2017, 186, 37-43.
- [H10] Horochowska Martyna, Cieřlik-Boczula Katarzyna*, Rospenk Maria, Ethanol- and trifluoroethanol-induced changes in phase states of DPPC membranes. Prodan emission-excitation fluorescence spectroscopy supported by PARAFAC analysis., *Spectrochimica Acta Part A - Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 192, 16-22.

Literatura uzupełniająca:

- [1] B. Catalgol, S. Batirel, Y. Taga, N.K. Ozer, Resveratrol: French paradox revisited, *Front. Pharmacol.* 3 (2012) 1–18.
- [2] A. Kopeć, E. Piątkowska, T. Leszczyńska, R. Biezanowska-Kopeć, Prozdrowotne właściwości resweratrolu, *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 5 (2011) 5-15.
- [3] R.M. Hill, M.M. Desmond, J.L. Kay, Extrapyramidal dysfunction in an infant of a schizophrenic mother, *J. Pediatr.* 69 (1966) 589-595.
- [4] N.C. Myrianthopoulos, A.A. Kurland, L.T. Kurland, Hereditary predisposition in drug-induced parkinsonism, *Arch. Neurol.* 6 (1962) 5-9.
- [5] B.D. Brewer, M.T. Hines, J.T. Stewart, Fluphenazine induced Parkinson-like syndrome in a horse, *Equine Vet. J.* 22 (1990) 136–137.
- [6] D.F. Levinson, G.F. Simpson, H. Singh, K. Yadalam, A. Jain, M.J. Stephanos, P. Silver, Fluphenazine dose, clinical response, and extrapyramidal symptoms during acute treatment. *Arch. Gen. Psychiatry* 47 (1990) 761–768.
- [7] E. Buřill, A. Bartes, A. Moral, T. Casadevall, M. Codinachs, E. Zapater, et al., Genetic and environmental factors that may influence in the senile form of Alzheimer's disease: nested case control studies, *Neurologia* 24 (2009) 108–112.
- [8] T.A. Lee, B. Wolozin, K.B. Weiss, M.M. Bednar, Assessment of the emergence of Alzheimer's disease following coronary artery bypass graft surgery or percutaneous transluminal coronary angioplasty, *J. Alzheimers Dis.* 7 (2005) 19–24.
- [9] M.J. Ohlow, B. Moosmann, Phenothiazine: the seven lives of pharmacology's first lead structure, *Drug Discov. Today* 16 (2011) 119–131.
- [10] A. Jaszczyszyn, K. Gąsiorowski, P. Świątek, W. Malinka, K. Cieřlik-Boczula, J. Petrus, B. Czarnik-Matusiewicz, Chemical structure of phenothiazines and their biological activity. *Pharmacol. Reports*, 64 (2012) 16-23.
- [11] D.S. Dwyer, X.-H. Lu, R.J. Bradley, Cytotoxicity of conventional and atypical antipsychotic drugs in relation to glucose metabolism. *Brain Res.* 971 (2003) 31–39.

- [12] R. Miller, Dose-response relationships for the antipsychotic effects and Parkinsonian side-effects of typical neuroleptic drugs: practical and theoretical implications. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 21 (1997) 1059–1094.
- [13] D.F. Levinson, G.M. Simpson, E.S. Lo, T.B. Cooper, H. Singh, K. Yadalam, M.J. Stephanos, Fluphenazine plasma levels, dosage, efficacy, and side effects. *Am. J. Psychiatry* 152 (1995) 765–771.
- [14] F. Chiti, C.M. Dobson, Protein misfolding, functional amyloid, and Human disease, *Annu. Rev. Biochem.* 75 (2006) 333–366.
- [15] G.Pl. Gorbenko, P.K.J. Kinnunen, The role of lipid-protein interactions in amyloid-type protein fibril formation, *Chem. Phys. Lipids*, 141 (2006) 72–82.
- [16] K. Berthelot, Ch. Cullin, S. Lecomte, What does make an amyloid toxic: Morphology, strycture or interaction with membrane?, *Biochim*, 95 (2013) 12–19.
- [17] R.J. Ferreira, D.J. dos Santos, M.J. Ferreira, P-glycoprotein and membrane roles in multidrug resistance. *Future Med. Chem.* 7 (2015) 929–946.
- [18] S. Modok, C. Heyward, R. Callaghan, P-glycoprotein retains function when reconstituted into a sphingolipid- and cholesterol-rich environment. *J. Lipid Res.* 45 (2004) 1910–1918.
- [19] A. Rothnie, D. Theron, L. Soceneantu, C. Martin, M. Traikia, G.B.C.F. Higgins, P.F. Devaux, R. Callaghan, The importance of cholesterol in maintenance of P-glycoprotein activity and its membrane perturbing influence. *Europ. Biophys. J.* 30 (2001) 430–442.
- [20] T. Róg, M. Pasenkiewicz-Gierula, Cholesterol-Sphingomyelin Interactions: A Molecular Dynamics Simulation Study. *Biophys. J.* 91 (2006) 3756–3767.
- [21] Y. Lavie, G. Fiucci, M. Liscovitch, Up-regulation of Caveolae and Caveolar Constituents in Multidrug-resistant Cancer Cells. *J. Biol. Chem.* 273 (1998) 32380–32383.
- [22] N. Hauet, F. Artzner, F. Boucher, C. Grabielle-Madelmont, I. Cloutier, G. Keller, P. Lesieur, D. Durand, M. Paternostre, Interaction between artificial membranes and enflurane, a general volatile anesthetic: DPPC-enflurane interaction, *Biophys. J.* 84 (2003) 3123–3137.
- [23] S. Gaillard, J.P. Renou, M. Bonnet, X. Vignon, E.J. Dufourc, Eur. Halothane-induced membrane reorganization monitored by DSC, freeze fracture electron microscopy and ³¹P-NMR techniques, *Biophys. J.* 19 (1991) 265–274.
- [24] K.A. Koehler, M.K. Jain, E.E. Stone, E.T. Fossel, L.S. Koehler, Interaction of fluorinated ether anesthetics with artificial membranes *Biochim. Biophys. Acta* 510 (1978) 177–185.
- [25] S.C. Yasui, T.A. Keiderling, Vibrational Circular Dichroism of Polypeptides. 8., Poly(lysine) conformations as a function of pH in aqueous solution, *JACS* 108, (1986) 5576–5581.
- [26] M.G. Paterlini, T.B. Freedman, L.A. Nafie, Vibrational circular dichroism spectra of three conformationally distinct states and an unordered state of poly-Llysine in deuterated aqueous solution, *Biopolymers* 25 (1986) 1751–1765.
- [27] M. Fäandrich, C.M. Dobson, The behavior of polyamino acids reveals an inverse side chain effect in amyloid structure formation, *EMBO J.* 21 (2002) 5682–5690.
- [28] J. Lai, C. Zheng, D. Liang, Y. Huang, Amyloid-like fibrils formed by ε-Poly-Llysine, *Biomacromolecules* 14 (2013) 4515–4519.
- [29] D. Whitford, *Proteins Structure and Functions*, John Wiley and Sons Ltd., England, 2005.
- [30] M. Sadqi, F. Hernández, U.-M. Pan, M. Pérez, M.D. Schaeberle, J. Avila, V. Muñoz, α-Helix structure in Alzheimer's disease aggregates of tau-protein, *Biochemistry* 41 (2002) 7150–7155.
- [31] L. Bousset, F. Briki, J. Doucet, R. Melki, The native-like conformation of Ure2p in fibrils assembled under physiologically relevant conditions switches to an amyloid-like conformation upon heat-treatment of the fibrils, *J. Struct. Biol.* 141 (2003) 132–142.
- [32] E. Laurine, C. Grégoire, M. Fäandrich, S. Engemann, S. Marchal, L. Thion, M. Mohr, B. Monsarrat, B. Michel, C.M. Dobson, et al., Lithostathine quadruplehelical filaments from proteinase K-resistant deposits in Creutzfeldt-Jakob disease, *J. Biol. Chem.* 278 (2003) 51770–51778.
- [33] M.D. Shoulders, R.T. Raines, Collagen structure and stability, *Annu. Rev. Biochem.* 78 (2009) 929–958.
- [34] E.W. Blanch, A.C. Gill, A.G. Rhie, J. Hope, L. Hecht, K. Nielsen, L.D. Barron, Raman optical activity demonstrates poly(L-proline) II helix in the N-terminal region of the ovine prion protein: implications for function and misfunction, *J. Mol. Biol.* 343 (2004) 467–476.
- [35] E.W. Blanch, L.A. Morozova-Roche, D.A. Cochran, A.J. Doig, L. Hecht, L.D. Barron, Is polyproline II helix the killer conformation? A Raman optical activity study of the amyloidogenic prefibrillar intermediate of human lysozyme, *J. Mol. Biol.* 301 (2000) 553–563.
- [36] M. Landau, Mimicking cross-α amyloids, *Nature Chemical Biology*, 2018, 14, 833–834
- [37] Y. Feng, X.P. Wanga, S.G. Yang, Y.J. Wang, X. Zhang, X.T. Du, X.X. Sun, M. Zhao, L. Huang, R.T. Liu, Resveratrol inhibits beta-amyloid oligomeric cytotoxicity but does not prevent oligomer formation, *Neuro. Toxicol.* 30 (2009) 986–995.

- [38] A.R.A. Ladiwala, J.C. Lin, S.S. Bale, A. Marie, Marcelino-Cruz, M. Bhattacharya, J.S. Dordick, P.M. Tessier, Resveratrol selectively remodels soluble oligomers and fibrils of amyloid A β into off-pathway conformers, *J. Biol. Chem.* 285 (2010) 24228–24237.
- [39] Y. Wang, D.C. Latschaw, C.K. Hall, Aggregation of A β (17–36) in the presence of naturally occurring phenolic inhibitors using coarse-grained simulations, *J. Mol. Biol.* 429 (2017) 3893–3908.
- [40] Y. Porat, Y. Mazar, S. Efrat, E. Gazit, Inhibition of islet amyloid polypeptide fibril formation: a potential role for heteroaromatic interactions, *Biochemist* 43 (2004) 14454–14462.
- [41] H.Y. Tsai, C.T. Ho, Y.K. Chen, Biological actions and molecular effects of resveratrol, pterostilbene, and 3'-hydroxypterostilbene, *J. Food Drug Anal.* 25 (2017) 134–147.
- [42] Yang S-Y, Tsai S-Y, Hou Y-C, Chao P-DL. Inductive modulation on P-glycoprotein and cytochrome 3A by resveratrol, a constituent of grapes. *Food Chem.* 2012;133(3):683–688.
- [43] C.O. Zlatić, Y. Mao, T.M. Ryan, Y.-F. Mok, B.R. Roberts, G.J. Howlett, M.D.W. Griffin, Fluphenazine·HCl and Epigallocatechin Gallate Modulate the Rate of Formation and Structural Properties of Apolipoprotein C- II Amyloid Fibrils, *Biochem.* 54 (2015) 3831–3838.
- [44] M. Necula, L. Breydo, S. Milton, R. Kaye, W.E. van der Veer, P. Tone, Ch. G. Glabe, Methylene Blue Inhibits Amyloid A β Oligomerization by Promoting Fibrillization, *Biochem.* 46 (2007) 8850–8860.
- [45] G. Sudeshna, K. Parimal, Multiple non-psychiatric effects of phenothiazines: A review., *Eur. J. Pharm.*, 648 (2010) 6–14.
- [46] X.-W. Dong, Y. Jia, S. X. Lu, X. Zhou, M. Cohen-Williams, R. Hodgson, H. Li, T. Priestley, The antipsychotic drug, fluphenazine, effectively reverses mechanical allodynia in rat models of neuropathic pain., *Psychopharmacol.*, 195 (2008) 559–568.
- [47] Jaszczyszyn, A.; Gasiorowski, K. Limitations of the MTT Assay in Cell Viability Testing, *Adv. Clin. Exp. Med.* 2008, 17 (5), 525–529.
- [48] D.M. Woodcock, M.E. Linsenmeyer, G. Chojnowski, Reversal of multidrug resistance by surfactants. *Br. J. Cancer* 66 (1992) 62–68.
- [49] R. Regev, Y.G. Assaraf, G.D. Eytan, Membrane fluidization by ether, other anesthetics, and certain agents abolishes P-glycoprotein ATPase activity and modulates efflux from multidrug-resistant cells. *Eur. J. Biochem.* 259 (1999) 18–24.
- [50] J.P. Rathmell, S. Shafer, R. Stoelting, P. Flood, Stoelting's Handbook of Pharmacology and Physiology in Anesthetic Practice, third ed. Wolters Kluwer Health, 2014.
- [51] H.R. Arias, Role of local anesthetics on both cholinergic and serotonergic ionotropic receptors, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 23 (1999) 817–843.
- [52] H.A. Fozzard, P.J. Lee, G.M. Lipkind, Mechanism of local anesthetic drug action on voltage-gated sodium channels, *Curr. Pharm. Des.* 11 (2005) 2671–2686.
- [53] N.P. Franks, W.R. Lieb, Inhibitory synapses: anaesthetics set their sites on ion channels, *Nature* 389 (1997) 334–335.
- [54] P. Nambi, E.S. Rowe, T.J. McIntosh, Studies of the ethanol-induced interdigitated gel phase in phosphatidylcholines using the fluorophore 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene., *Biochem.* 27 (1988) 9175–9182.
- [55] M. Kusube, N. Tamai, H. Matsuki, S. Kaneshina, Pressure-induced phase transitions of lipid bilayers observed by fluorescent probes Prodan and Laurdan., *Biophys. Chem.* 117 (2005) 199–206.
- [56] K. Ohki, K. Tamura, I. Hatta, Ethanol induces interdigitated gel phase (L β I) between lamellar gel phase (L β ') and ripple phase (P β ') in phosphatidylcholine membranes: a scanning density meter study, *Biochim. Biophys. Acta* 1028 (1990) 215–222.
- [57] P. Nambi, E.S. Rowe, T.J. McIntosh, Studies of the ethanol-induced interdigitated gel phase in phosphatidylcholines using the fluorophore 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene, *Biochem.* 27 (1988) 9175–9182.
- [58] J. Zeng, P. Lee-Gau Chong, Interactions between pressure and ethanol on the formation of interdigitated DPPC liposomes: a study with Prodan fluorescence, *Biochem.*, 30 (1991) 9485–9491.
- [59] O. Lenz, F. Schmid, Structure of symmetric and asymmetric “ripple” phases in lipid bilayers, *Phys. Rev. Lett.* 98 (2007) 058104.
- [60] A.H. de Vries, S. Yefimov, A.E. Mark, S.J. Marrink, Molecular structure of the lecithin ripple phase, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102 (2005) 5392–5396.
- [61] K. Sengupta, V.A. Raghunathan, J. Katsaras, Structure of the ripple phase of phospholipid multibilayers, *Phys. Rev. E* 68 (2003) 031710,
- [62] M. Stasiuk, D. Bartosiewicz, J. Gubernator, K. Cieřlik-Boczula, M. Hof, A. Kozubek, A semisynthetic 5-n-alkylresorcinol derivative and its effect upon biomembrane properties. *Zeitschrift für Naturforschung Section C: A Journal of Biosciences*, 62c (2007) 881–888.
- [63] K. Cieřlik-Boczula, P. Świątek, A. Jaszczyszyn, P. Zawilska, K. Gasiorowski, W. Malinka, G. Köhler, Phase separation in phosphatidylcholine membrane caused by the presence of a pyrimidine analogue of fluphenazine with high anti-multidrug-resistance activity., *J. Phys. Chem. B*, 118 (2014) 3605–3615.

- [64] A. Jaszczyszyn, K. Gąsiorowski, P. Świątek, W. Malinka, K. Cieřlik-Boczula, J. Szwed, B. Czarnik-Matusewicz, Newly synthesized fluphenazine analogues as inhibitors of P-glycoprotein transport function. *Współczesna Onkologia*, 15 (2011) 113-114.
- [65] K. Cieřlik-Boczula, J. Maniewska, G. Gryniewicz, W. Szeja, A. Koll, A.B. Hendrich, Interaction of quercetin, genistein and its derivatives with lipid bilayers - An ATR IR-spectroscopic study. *Vibr. Spectrosc.*, 62 (2012) 64-69.
- [66] A. Murawska, K. Cieřlik-Boczula, B. Czarnik-Matusewicz, Interactions in two-component liposomes studied by 2D correlation spectroscopy. *J. Mol. Struct.*, 974 (2010) 183-191.
- [67] J. Szwed, K. Cieřlik-Boczula, B. Czarnik-Matusewicz, A. Jaszczyszyn, K. Gąsiorowski, P. Świątek, W. Malinka, Moving-window 2D correlation spectroscopy in studies of fluphenazine-DPPC dehydrated film as a function of temperature. *J. Mol. Struct.*, 974 (2010) 192-202.
- [68] K. Cieřlik-Boczula, B. Czarnik-Matusewicz, M.G. Perevozkina, A. Filarowski, N. Boens, W.M. De Borggraeve, A. Koll, ATR-IR spectroscopic study of the structural changes in the hydrophobic region of ICPAN/DPPC bilayers. *J. Mol. Struct.*, 878 (2008) 162-168.
- [69] K. Cieřlik-Boczula, K. Burgess, L. Li, B. Nguyen, L. Pandey, W.M. De Borggraeve, M. Van der Auweraer, N. Boens, Photophysics and stability of cyano-substituted boradiazaindacene dyes. *Photochem. Photobiol. Sciences*, 8 (2009) 1006-1015.

