

Załącznik 3
do wniosku o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania
stopnia doktora habilitowanego

Autoreferat

Dr Zbigniew L. Pianowski

**Fotochromowe przełączniki molekularne: kontrola zachowania materiałów
i systemów biologicznych za pomocą światła widzialnego**

Dziedzina: Nauki Ścisłe i Przyrodnicze

Dyscyplina: Nauki chemiczne

Warszawa, 06.02.2026 r.

1. Dane osobowe habilitanta

Imię i nazwisko	Zbigniew Lech Pianowski	
Miejsce zatrudnienia	Institute of Biological and Chemical Sciences – Functional Molecular Sciences IBCS-FMS Karlsruhe Institute of Technology KIT Kaiserstraße 12, 76131 Karlsruhe, Niemcy Tel. +48 721 608 42297 e-mail: pianowski@kit.edu	
Wykształcenie	1997-2001	Katolickie Liceum Ogólnokształcące XX. Pijarów im. Ks. St. Konarskiego, Kraków, ul. Akacjowa 5
	2001-2004	Międzywydziałowe Indywidualne Studia Matematyczno-Przyrodnicze MISMaP , Uniwersytet Warszawski; Praca magisterska na Wydziale Chemii, kierunek chemia organiczna, wykonywana w Instytucie Chemii Organicznej IChO PAN

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

Tytuł magistra	21.06.2004 magister chemii <i>summa cum laude</i> Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego (Międzywydziałowe Interdyscyplinarne Studia Matematyczno Przyrodnicze MISMaP)
Praca dyplomowa	Reakcje rodnikowe liniowych prekursorów prowadzące do szkieletu norbornanu <i>Praca realizowana w zespole Prof. Dr hab. Mieczysława Mąkoszy, Instytut Chemii Organicznej PAN</i>
Promotor	Prof. Dr hab. Marianna Kańska (UW)
Stopień doktora	15.03.2008 Doktor nauk chemicznych w zakresie chemii (Doctorat de chimie) Institut de Science et d'Ingénierie Supramoléculaires (Instytut Nauk i Inżynierii Supramolekularnej) ISIS, Szkoła doktorska nauk chemicznych (Ecole Doctorale Sciences Chimiques ED 222), Université Louis Pasteur ULP (Strasbourg I), Strasbourg, Francja
Rozprawa doktorska	PNA as a Versatile Scaffold for Programmable Supramolecular Chemistry: Applications to Encode Combinatorial Libraries and Template Reactions (PNA comme échafaudage pour la chimie supramoléculaire: applications pour les chimiotéques encodés et réactions programmées)
Promotor	Prof. Dr. Nicolas Winssinger (ULP)
Recenzenci	Prof. Dr. Andrew Griffiths (ULP), Prof. Dr. Günter von Kiedrowski (Ruhr-Univ. Bochum, Niemcy) Prof. Dr. Kay Severin (EPFL Lausanne, Szwajcaria) Prof. Dr. Jean-Marie Lehn (<i>egzaminator</i> , ULP)

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

Jednostka naukowa	Data	Stanowisko
Institut de Science et d'Ingénierie Supramoléculaires (Instytut Nauk i Inżynierii Supramolekularnej) ISIS, Université Louis Pasteur, Strasbourg, Francja	1.11.2004-31.08.2008	Allocataire de recherché (doktorant)
Department of Chemistry and Applied Biosciences, Laboratory of Organic Chemistry Eidgenössische Technische Hochschule ETH Zürich, Szwajcaria	1.11.2008-31.03.2014	Wissenschaftlicher Mitarbeiter (postdoc)
Institut für Organische Chemie (IOC), Karlsruher Institut für Technologie KIT, Karlsruhe, Niemcy	01.04.2014-30.03.2017	Kierownik grupy badawczej
Organisch-Chemisches Institut, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Niemcy	01.04.2017-28.02.2019	Vertretungsprofessor („zastępca profesora“) w zakresie chemii organicznej
Institut für Organische Chemie (IOC)/ Institute of Biological and Chemical Systems- Functional Molecular Systems (IBCS-FMS), Karlsruher Institut für Technologie KIT, Karlsruhe, Niemcy	od 01.03.2019	Kierownik grupy badawczej (od 11.02.2022 „Privatdozent“)

4. **Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).**

Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej

- **Tytuł osiągnięcia naukowego**

Fotochromowe przełączniki molekularne: kontrola zachowania materiałów i systemów biologicznych za pomocą światła widzialnego

- **Streszczenie**

W prezentowanym cyklu publikacji zademonstrowałem kontrolę własności biokompatybilnych materiałów oraz systemów biologicznych o różnym stopniu skomplikowania za pomocą fotochromowych przełączników molekularnych. W oparciu o znany fotochromowy system azobenzenu (AB) opracowałem biokompatybilne hydrożele które ulegają odwracalnym zmianom (kontrakcja lub przemiana w ciecz o niskiej lepkości) pod wpływem światła. Szkielet azobenzenu posłużył także do konstrukcji fotoprzełączalnych receptorów i klatek molekularnych. W trakcie tych badań odkryłem i opisałem nowy fotochromowy przełącznik molekularny – hemipiperazynę (HPI) – oparty na strukturze cyklicznego dipeptydu (2,5-diketopiperazyny) podstawionego grupą aryldenową. Struktura HPI została użyta do kontroli dynamiki mikrotubul *in vitro* oraz wewnątrz organizmów żywych (Danio pręgowany), a także posłużyła do skonstruowania fotoprzełączalnych fluoroforów (aktywnych także wewnątrz żywych komórek ludzkich). Odkrycia te mają potencjał do zastosowań w fotofarmakologii, biologii molekularnej i komórkowej, oraz chemii supramolekularnej.

- Cykl powiązanych tematycznie artykułów stanowiących osiągnięcie naukowe

Lp.	Artykuł	IF wg roku pub.	IF wg 2021 r.	Pkt. MNiSW wg 2024r. (UIC)
(* autor korespondencyjny)				
H1	<p><u>Pianowski Z.*</u>, Karcher J., Schneider K.; “Photoresponsive self-healing supramolecular hydrogels for light-induced release of DNA and doxorubicin” <i>Chemical Communications</i>, 2016, 52, 3143-3146. https://doi.org/10.1039/C5CC09633B</p> <p><i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na:</i> – sformułowaniu celów badawczych, – syntezie związków omawianych w artykule – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – napisaniu manuskryptu wraz z rysunkami i tabelami, – zaprojektowaniu abstraktu graficznego – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji. <i>Mój udział procentowy szacuję na 80%.</i></p>	6.319	6.065	200 (ID:3467)
H2	<p>Karcher J., <u>Pianowski Z.*</u> “Photocontrol of Drug Release from Supramolecular Hydrogels with Green Light” <i>Chemistry - A European Journal</i>, 2018, 24, 11605-11610 https://doi.org/10.1002/chem.201802205</p> <p><i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na:</i> – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – napisaniu manuskryptu wraz z rysunkami i tabelami, – zaprojektowaniu abstraktu graficznego – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji. <i>Mój udział procentowy szacuję na 70%.</i></p>	5.160	5.020	140 (ID:3513)
H3	<p>Karcher J., Kirchner S., Leistner A.-L., Hald C., Geng P., Bantle T., Gödtel P., Pfeifer J., <u>Pianowski Z.*</u> “Selective release of a potent anticancer agent from a supramolecular hydrogel using green light” <i>RSC Advances</i>, 2021, 11, 8546-8551 https://doi.org/10.1039/D0RA08893E</p> <p><i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na:</i> – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – napisaniu manuskryptu wraz z rysunkami i tabelami,</p>	4.036	4.036	100 (ID:18024)

	<ul style="list-style-type: none"> – zaprojektowaniu abstraktu graficznego – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji. <p>Mój udział procentowy szacuję na 50%.</p>			
H4	<p>Leistner A.-L., Kirchner S., Karcher J., Bantle T., Schulte M. R., Gödtel P., Fengler C., <u>Pianowski Z.*</u> „Fluorinated Azobenzenes Switchable with Red Light” <i>Chemistry – A European Journal</i> 2021, 27(31), 8094-8099. https://doi.org/10.1002/chem.202005486</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na:</p> <ul style="list-style-type: none"> – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – napisaniu manuskryptu – wykonaniu większości rysunków i tabel, – zaprojektowaniu abstraktu graficznego – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji. <p>Mój udział procentowy szacuję na 60%.</p>	5.020	5.020	140 (ID:3513)
H5	<p>Leistner A.-L., Kistner D. G., Fengler C., Pianowski Z.* “Reversible photodissipation of composite photochromic azobenzene-alginate supramolecular hydrogels.” <i>RSC Advances</i>, 2022, 12, 4771-4776. https://doi.org/10.1039/D1RA09218A</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na:</p> <ul style="list-style-type: none"> – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – napisaniu manuskryptu – wykonaniu większości rysunków i tabel, – zaprojektowaniu abstraktu graficznego – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji. <p>Mój udział procentowy szacuję na 60%</p>	3.9	4.036	100 (ID:18024)
H6	<p>Kirchner S., Leistner A.-L., Gödtel P., Seliwujorstow A., Weber S., Karcher J., Nieger M., <u>Pianowski Z.*</u> „Hemipiperazines as peptide-derived molecular photoswitches with low-nanomolar cytotoxicity” <i>Nature Communications</i> 2022, 13, 6066 https://doi.org/10.1038/s41467-022-33750-7</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na:</p> <ul style="list-style-type: none"> – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – napisaniu manuskryptu – wykonaniu większości rysunków i tabel, – zaprojektowaniu abstraktu graficznego – redakcji artykułu 	16.6	17.694	200 (ID:14814)

	<p>– korespondencji z edytorem czasopisma i współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 60%</p>			
H7	<p>Leistner A.-L., Most M. M., and <u>Pianowski Z.*</u> “Molecular syringe for cargo photorelease - red-light-triggered supramolecular hydrogel” <i>Chemistry – A European Journal</i> 2023, e202302295 https://doi.org/10.1002/chem.202302295</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – napisaniu manuskryptu – wykonaniu części rysunków i tabel, – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 70%</p>	3.9	5.020	140 (ID:3513)
H8	<p>Hoffmann F., Leistner A.-L., Kirchner S., Luy B., Muhle-Goll C.*, and <u>Pianowski Z.*</u> “Cargo Encapsulation in Photochromic Supramolecular Hydrogels Depends on Specific Guest-Gelator Supramolecular Interactions” <i>European Journal of Organic Chemistry</i> 2023, e202300227 https://doi.org/10.1002/ejoc.202300227</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – napisaniu manuskryptu – wykonaniu części rysunków i tabel, – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 50%</p>	2.5	3.261	70 (ID:6231)
H9	<p>Gödtel P., Starrett J., <u>Pianowski Z.*</u> “Heterocyclic Hemipiperazines: Water-Compatible Peptide-Derived Photoswitches” <i>Chemistry – A European Journal</i> 2023, chem.202204009 https://doi.org/10.1002/chem.202204009</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – wykonaniu części rysunków i tabel, – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 60%</p>	3.9	5.020	140 (ID:3513)
H10	<p>Schäfer V., <u>Pianowski Z.*</u> “Heterocyclic Hemipiperazines: Multistimuli-responsive Switches and Sensors for Zinc or Cadmium Ions” <i>Chemistry –</i></p>	3.7	5.020	140 (ID:3513)

	<p><i>A European Journal</i> 2024, e202402005 https://doi.org/10.1002/chem.202402005</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – wykonaniu części rysunków i tabel, – zaprojektowaniu abstraktu graficznego – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji.</p> <p>Mój udział procentowy szacuję na 70%</p>			
H11	<p>Seliwgorstow A., Bach M., Kirchner S., Palloks S., Pianowski Z.L.* “Visible Light-Triggered Supramolecular Hydrogel Based on Cyclic Dipeptides Stabilized with Coulomb Interactions” <i>Macromolecular Materials and Engineering</i> 2024, vol. 309 (5), 2400007 https://doi.org/10.1002/mame.202400007</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – wykonaniu części rysunków i tabel, – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji.</p> <p>Mój udział procentowy szacuję na 60%</p>	4.6	4.402	70 (ID:13801)
H12	<p>Seliwgorstow A., Takamiya M., Rastegar S. *, Pianowski Z.* “Reversible Influence of Hemipiperazine Photochromism on the Early Development of Zebrafish Embryo” <i>ChemBioChem</i> 2024, e202400143 https://doi.org/10.1002/cbic.202400143</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – wykonaniu części rysunków i tabel, – współpracy z pozostałymi autorami tekstu na etapie redakcji manuskryptu i recenzji – korespondencji z edytorem czasopisma i współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji.</p> <p>Mój udział procentowy szacuję na 50%</p>	2.8	3.461	70 (ID:3457)
H13	<p>Most M.M., Boll L.B., Gödtel P., Pianowski Z.L. *, Lewandowski B.* “Glucose-derived receptors for photocontrolled binding of amino acid esters in water” <i>Communications Chemistry</i> 2025, 8, 50, https://doi.org/10.1038/s42004-025-01445-x</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: – współpracy przy sformułowaniu celów badawczych, – interpretacji wyników,</p>	6.2	6.5	20 ID:4077

	<p>– współpracy z pozostałymi autorami tekstu na etapie redakcji manuskryptu i recenzji</p> <p>– współpracy przy korekcie manuskryptu wg recenzji.</p> <p>Mój udział procentowy szacuję na 40%</p>			
H14	<p>Gödtel P., Rösch A., Kirchner S., Elbuga-Ilica R., Seliwjorstow A., Fuhr O., Schepers U.*, and Pianowski Z.* “Photoswitchable Fluorescence of Peptide-Based Hemipiperazines Inside of Living Cells” <i>Journal of the American Chemical Society</i> 2025 147(30), 26652-26662 https://doi.org/10.1021/jacs.5c07013</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na:</p> <ul style="list-style-type: none"> – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i korekcie manuskryptu wg recenzji. <p>Mój udział procentowy szacuję na 60%</p>	15.6	16.383	200 (ID:12814)
H15	<p>Schäfer V., Seliwjorstow A., Fuhr O., Pianowski Z.* “Dynamically Assembled Photochromic Cages Operational in Water that Forerun Biocompatible Molecular Machines Propelled with Light” <i>Nature Communications</i> 2026, 17, 2488 https://doi.org/10.1038/s41467-026-70406-2</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na:</p> <ul style="list-style-type: none"> – sformułowaniu celów badawczych, – analizie otrzymanych wyników, – interpretacji wyników, – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i korekcie manuskryptu wg recenzji. <p>Mój udział procentowy szacuję na 60%</p>	15.7	17.694	200 (ID:14814)
Prace przeglądowe				
H16	<p>Pianowski Z.* “Recent implementations of molecular photoswitches into smart materials and biological systems” <i>Chemistry - A European Journal</i>, 2019, 25, 5128-5144. https://doi.org/10.1002/chem.201805814</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na:</p> <ul style="list-style-type: none"> – sformułowaniu koncepcji artykułu – wyborze materiału dotyczącego własności i zastosowań fotochromowych przełączników molekularnych – napisaniu manuskryptu wraz z rysunkami i tabelami – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i korekcie manuskryptu wg recenzji. <p>Mój udział procentowy wynosi 100%</p>	4.859	5.020	140 (ID:3513)
H17	<p>Leistner A.-L., Pianowski Z.* “Smart photochromic materials triggered with visible light” <i>European</i></p>	2.8	3.261	70 (ID:6231)

	<p><i>Journal of Organic Chemistry</i>, 2022, <i>19</i>, e202101271 https://doi.org/10.1002/ejoc.202101271</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: – sformułowaniu koncepcji artykułu – wyborze materiału dotyczącego własności i zastosowań fotochromowych przełączników molekularnych – wykonaniu części rysunków i tabel – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i korekcie manuskryptu wg recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 80%</p>			
H18	<p>Kirchner S., <u>Pianowski Z.</u>* „Photopharmacology of Antimitotic Agents” <i>International Journal of Molecular Sciences</i> 2022, <i>23(10)</i>, 5657; https://doi.org/10.3390/ijms23105657</p> <p>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: – sformułowaniu koncepcji artykułu – wyborze materiału dotyczącego fotofarmakologii – redakcji artykułu – korespondencji z edytorem czasopisma i korekcie manuskryptu wg recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 70%</p>	5.6	6.208	140 (ID:9159)

Informacje naukometryczne dla prac z cyklu habilitacyjnego [H1–H18]

Liczba publikacji, w tym	18
– prace oryginalne	15
– prace przeglądowe	3
– jako pierwszy autor	2
– jako autor korespondencyjny	18
Sumaryczny IF zgodnie z rokiem publikacji	113.194
Sumaryczny IF zgodnie z rokiem 2021	123.121
Liczba punktów MNiSW*	2280
Średni IF na publikację zgodnie z rokiem publikacji	6.289
Średni IF na publikację zgodnie z rokiem 2021	6.840
Średnia liczba punktów MNiSW na publikację*	126.667

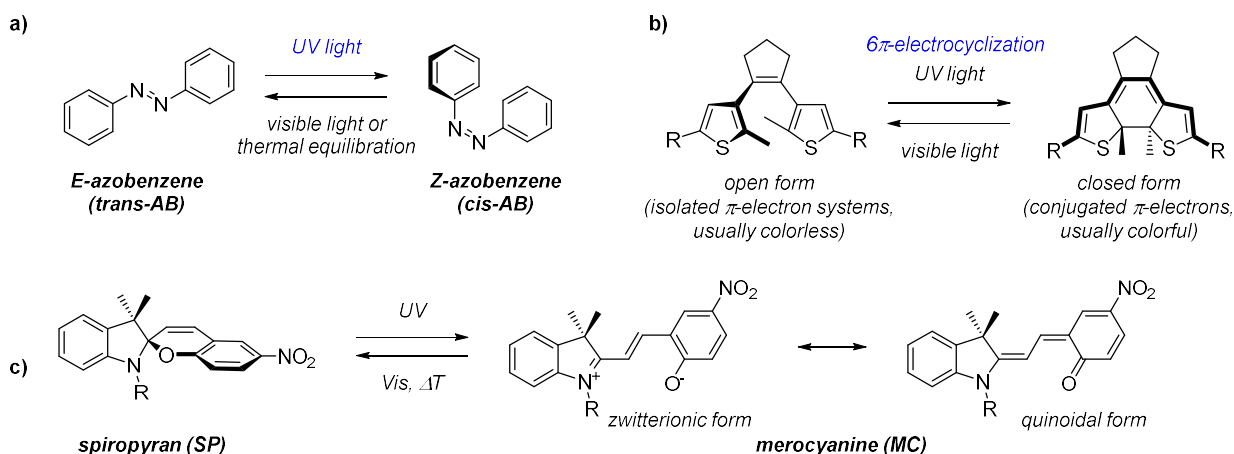
* wg Komunikatu Ministra Nauki z dnia 5. stycznia 2024 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych.

- **Omówienie osiągnięcia naukowego**

Wprowadzenie

Układy biologiczne w czasie milionów lat ewolucji wytworzyły zróżnicowane typy maszyn molekularnych o różnym stopniu złożoności, które wykonują precyzyjne czynności, jak synteza ATP, replikacja DNA, czy ruch quasi-mechaniczny (kinezy, wici bakteryjne), w odpowiedzi na bodźce zewnętrzne.[1] Badanie tych systemów zainspirowało badaczy do stworzenia układów molekularnych które w nanoskali naśladują funkcje znane na poziomie makroskopowym.[2] W 2016 roku wysiłki te docenił Komitet Noblowski – Nagrodę Nobla z Chemii otrzymali Jean-Pierre Sauvage, Sir J Fraser Stoddart i Bernard (Ben) L Feringa.[3] Spośród wielu maszyn molekularnych – szczypiec, receptorów, a nawet nanosamochodu [4] – przełączniki (zmiana geometrii) oraz motory molekularne (rotacja) stanowią podstawowe „cegiełki” z których składać można bardziej zaawansowane systemy. Reagują one na różnorodne bodźce, jak np. jony, rozpuszczalniki, zmiany pH, czy procesy redoks. Jednak pomiędzy nimi jednym z najbardziej użytecznych bodźców jest światło, ponieważ można dawkować je precyzyjnie w czasie i przestrzeni, a także nie powoduje trwałego zanieczyszczenia próbki. Częsteczki, które pod wpływem światła ulegają odwracalnym zmianom własności molekularnych (jak geometria cząsteczki, jej polarność lub elastyczność) to fotochromowe przełączniki molekularne (w skrócie fotoprzełączniki molekularne).[5] Związki te zasadniczo nie wykonują makroskopowo użytecznej pracy, jednak mogą zostać wkomponowane w systemy, w których energia świetlna może zostać przekształcona w użyteczny efekt makroskopowy, lub zmianę aktywności biologicznej.[6] Zastosowanie istniejących fotoprzełączników lub odkrywanie nowych substancji o takich własnościach przybliży nas do stworzenia napędzanych światłem nanostruktur, takich jak sztuczne wirusy lub nanoroboty aktywne we krwi człowieka, które swoją funkcjonalnością, szybkością, czy precyzją mogą dorównać lub nawet przewyższyć biologiczne maszyny molekularne.[7]

Fotochromowe przełączniki molekularne reprezentowane przez struktury azobenzenu, diaryloetenu, oraz spiropiranu, to molekularne „anten” które zamieniają energię świetlną w zmiany widma elektronowego, geometrii molekularnej, elastyczności, lub polarności. W zorganizowanych systemach (supra)molekularnych synergia fotoizomeryzacji wielu cząsteczek może powodować zmiany własności makroskopowych. Światło jako odczynnik stosowany z wysoką rozdzielczością czasoprzestrzenną bez permanentnej kontaminacji próbki umożliwia konstrukcję metamorficznych materiałów inteligentnych,[8] lub bioaktywnych cząsteczek aktywowanych *in vivo*, potencjalnie także wewnątrz organizmu ludzkiego.[9] W tym ostatnim obszarze przydatne są przełączniki reagujące na światło widzialne [10] (idealnie czerwone lub podczerwone w zakresie 630-900 nm, które efektywnie penetruje wszystkie ludzkie tkanki miękkie [11,12]). Można to osiągnąć poprzez modyfikację oryginalnych struktur (np. azobenzenu) wrażliwych na światło UV,[13] lub przez opracowanie nowych fotoprzełączników inherentnie wrażliwych na światło widzialne (indygoidy, DASA).[14]



Rysunek 1. Przykłady fotochromowych przełączników molekularnych: **a)** azobenzen, **b)** diarylethen, and **c)** spiropiran. Pierwszy system oparty jest na izomeryzacji E-Z, dwa pozostałe – na elektrocyklizacji.

Fotofarmakologia to eksperymentalna technologia medyczna, w której fotochromowe przełączniki molekularne związane z farmakoforami powodują odwracalne zmiany aktywności biologicznej podczas fotoizomeryzacji (z powodu zmiany kształtu lub polarności cząsteczki). Ponieważ światło może być precyzyjnie dozowane, można lokalnie zwiększać stężenie aktywnego składnika, jednocześnie utrzymując jego poziom w pozostałych częściach organizmu na niskim poziomie, co redukuje poważne efekty uboczne.[10] Kontrolę aktywności za pomocą światła zademonstrowano (używając głównie pochodnych azobenzenu) dla: antybiotyków,[15] inhibitorów DHFR (reduktaza dihydrofolianowa),[16] inhibitorów HDAC (deacetylazy histonów),[17] czy inhibitorów mitozy[18] takich jak analogi kombretastatyny.[19] Związki te zastosowano m.in. w badaniach faz rozwoju embrionalnego.[20] Jednakże metaboliczna niestabilność pochodnych azobenzenu [21] połączona z ogólnym spadkiem aktywności spowodowanym modyfikacją farmakoforów i często koniecznością użycia światła ultrafioletowego które bardzo nieefektywnie penetruje organizmy żywe, powodują że poszukiwanie alternatywnych systemów fotochromowych które byłyby wolne od tych ograniczeń jest niezbędne aby efektywnie zastosować substancje fotofarmakologiczne w terapii.

Hydrożele fotochromowe. Hydrożele stosowane są powszechnie w biotechnologii jako media w kulturach komórkowych (szczególnie dla komórek wrażliwych na bodźce mechaniczne),[22] oraz w medycynie regeneracyjnej (np. alginian z jonami wapnia wspomaga regenerację kości).[23,28] Enkapsulacji w hydrożelach (np. w celach terapeutycznych) mogą ulegać białka [24] lub całe komórki.[25] Poważnym problemem jest obecnie kształtowanie hydrożeli zawierających tego typu labilne ładunki w precyzyjnie zdefiniowane kształty,[26] lub formowanie biodegradowalnych mikrokanalów.[27]

Fotoprzełączalne hydrożele, zwykle polimeryczne i oparte na pochodnych azobenzenu, spiropiranu, czy kumarynu, używane są do uwalniania związków bioaktywnych indukowanego światłem, oraz w kulturach komórkowych.[29-31]

Cel pracy

W przedstawionym osiągnięciu, na które składa się cykl osiemnastu publikacji [H1-H18] o wspólnym tytule „*Fotochromowe przełączniki molekularne: kontrola zachowania materiałów i systemów biologicznych za pomocą światła widzialnego*” wykorzystałem wyniki osiągnięte w badaniach interdyscyplinarnych z obszaru chemii organicznej, supramolekularnej, medycznej, fotochemii, oraz nauk biologicznych.

Fotochromowe przełączniki molekularne były odkryte i eksplorowane głównie w kontekście fotoreaktywnych materiałów, w związku z czym podstawowe struktury wykazywały się często znaczną hydrofobowością. Przełączniki te aktywowane były w przeważającej mierze za pomocą światła ultrafioletowego. W ostatnich dekadach dostrzeżony został potencjał użycia światła w złożonych układach biologicznych lub organizmach żywych (jak np. „photouncaging” – fotodegradacja wiązań kowalencyjnych prowadząca do lokalnego wzrostu określonej aktywności biologicznej, lub też terapie fotodynamiczne, w których fotogeneracja wolnych rodników wykorzystywana jest w terapii nowotworów i chorób zwyrodnieniowych). Fotoprzełączniki molekularne oferują unikalny zestaw cech, który mógłby znacznie poszerzyć wykorzystanie światła w układach biologicznych oraz terapii (odwracalność efektu, często wielokrotna, niewrażliwość efektywności na nasycenie tkanek tlenem ważne w przypadku terapii fotodynamicznych). Jednak ich szersze użycie wymaga dopasowania własności fizycznych do kontekstu biologicznego – w szczególności opracowania systemów kompatybilnych ze środowiskiem wodnym, oraz izomeryzacja bez użycia światła widzialnego, z użyciem częstotliwości które mogą efektywnie penetrować komórki, skórę, oraz tkanki miękkie zwierząt lub organizmu ludzkiego.

W poniższej pracy przedstawiłem uwieńczone powodzeniem wysiłki stworzenia biokompatybilnych systemów fotochromowych, które mogą spełniać użyteczne funkcje w kontekście badawczym oraz terapeutycznym. W pracy początkowo skupiłem się na optymalizacji znanego fotochromowego motywu azobenzenu do zastosowań biologicznych – w szczególności biokompatybilnych hydrożeli [H1-H3,H5,H7,H11], a także przesunięciu częstotliwości aktywacji tego przełącznika z oryginalnego zakresu światła UV w obszar światła czerwonego (>660 nm), które może efektywnie penetrować ludzkie tkanki miękkie na głębokość kilku centymetrów.[H4,H7,H13,H15]. Fotoprzełączniki te zostały także zastosowane w konstrukcji fotochromowych klatek molekularnych [H15] oraz fotoprzełączalnych receptorów pochodnych aminokwasów.[H13]

W trakcie tych badań odkryłem [H6] nową klasę fotochromowych przełączników molekularnych – tzw. hemipiperazyny (HPI) – opartych na odwracalnej fotoizomeryzacji *E/Z* grupy arylidenowej przyłączonej do pierścienia 2,5-diketopiperazyny, będącej niczym innym jak szkieletem cyklicznego dipeptydu, który można otrzymać np. przez dimeryzację i dehydratację glicyny. Jako że cykliczne dipeptydy to popularne metabolity wtórne, wiele związków tego typu wykazuje się znaczną aktywnością biologiczną. Dodatkowo, liczne wiązania wodorowe zwiększają polarność tego typu struktur, a co za tym idzie ich rozpuszczalność w środowisku wodnym. Razem z moją grupą badam obecnie podstawowe własności fotofizyczne hemipiperazyn,[H6,H9] jak również ich zastosowania w fotofarmakologii,[H6] także *in vivo*,[H12] jako fluorescencyjnych sensorów metali ciężkich,[H10] oraz fotoprzełączalnych fluoroforów aktywnych także wewnątrz żywych komórek.[H14]

Wyniki

Fotochromowe hydrożele supramolekularne [H1-H3,H5,H7,H11]

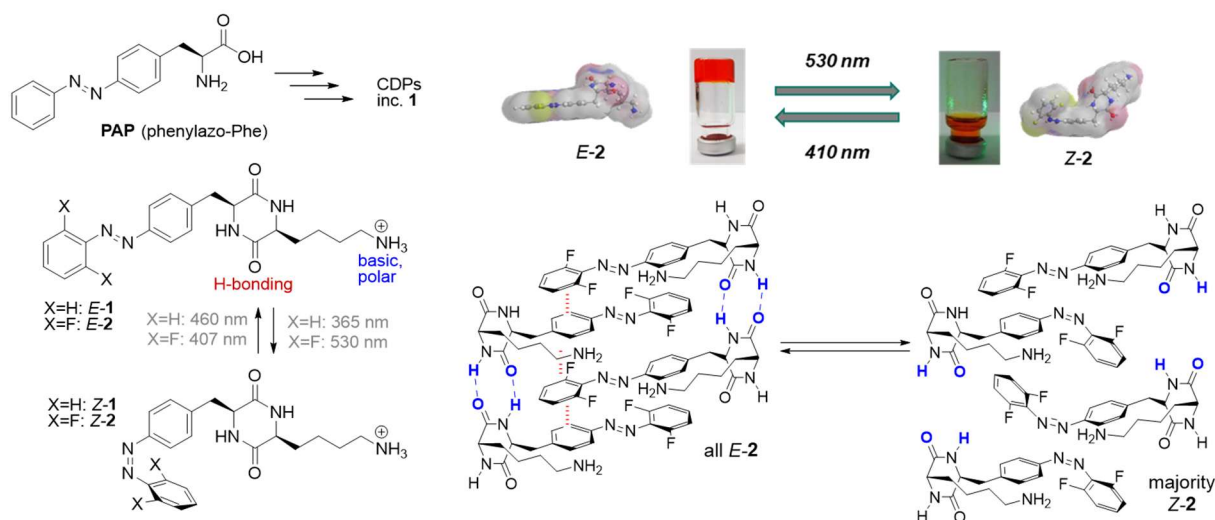
W pierwszej części cyklu habilitacyjnego, obejmującego prace [H1-H3, H5, H7] oraz [H11], zademonstrowałem użyteczność fotochromowych cyklicznych dipeptydów podstawionych pochodnymi azobenzenu do tworzenia supramolekularnych hydrożeli w środowisku wodnym. Zmieniają one odwracalnie swoje własności makroskopowe pod wpływem światła i mogą posłużyć w przyszłości jako materiały do kontrolowanego uwalniania leków lub inteligentne materiały do hodowli kultur komórkowych.

Fotochromowe hydrożele supramolekularne oparte na peptydach były wcześniej obecne w literaturze. Liniowe struktury zawierające azobenzen i pojedynczy aminokwas nie posiadały oddziaływań supramolekularnych w ilości wystarczającej do uformowania hydrożelu. Jednak już liniowe di- oraz tripeptydy z motywem fotochromowym (kreatywnie rozwijające klasyczny hydrożelator Fmoc-Phe-Phe-OH), których amfifilowa struktura umożliwiała utworzenie struktur supramolekularnych (np. włókna) stabilizowanych oddziaływaniami hydrofobowymi oraz wiązaniami wodorowymi (struktury zbliżone do beta-harmonijki) w całej objętości materiału, okazały się dobrymi hydrożelatorami. [32] Razem z moją grupą osiągnęliśmy ten sam efekt, łącząc jeden polarny aminokwas białkowy z fotochromową pochodną fenyloalaniny w formie cyklicznego dipeptydu. Jedną z zalet naszego podejścia jest synteza hydrożelatora w roztworze, bez użycia stałych nośników preferowanych w syntezach liniowych oligopeptydów. W rezultacie mogliśmy łatwo otrzymać nasze hydrożelatory w ilościach gramowych, a synteza (składająca się z kilku nieskomplikowanych etapów) w razie potrzeby jest także skalowalna do większych ilości.

Podstawą mojego pomysłu była obserwacja, że cykliczne amfifilowe dipeptydy, takie jak cyclo(Phe-Lys) czy cyclo(Phe-Glu) tworzą hydrożele w środowisku wodnym.[33] Hydrofobowa reszta fenyloalaniny, stabilizująca włókna supramolekularne, została przeze mnie zastąpiona resztą azobenzenu, który znany jest ze znacznych, odwracalnych zmian polarności podczas fotoizomerizacji - trwały izomer *E* jest niepolarny, jak grupa fenyłowa fenyloalaniny, natomiast termodynamicznie nietrwały izomer *Z* jest znacznie bardziej polarny ($\mu_D > 3D$). Postawiłem hipotezę, że zmiana polarności na poziomie molekularnym może zdestabilizować strukturę włókien hydrożelu w stopniu wystarczającym do zaobserwowania efektów makroskopowych, które powinny – ze względu na supramolekularną naturę materiału – być także odwracalne. Aby zweryfikować tę hipotezę, zsyntetyzowałem według procedur literaturowych fotochromową pochodną (*S*)-fenyloalaniny, w której grupa fenyłowa została zastąpiona azobenzenem (**PAP**, (*S*)-4-fenyloazo-fenyloalanina). Związek ten posłużył mi następnie do syntezy kilku cyklicznych dipeptydów które zawierały także polarny aminokwas białkowy (Ser, Glu, Cys, His, Lys). Związki te wykazywały zróżnicowaną rozpuszczalność w wodzie – niektóre tworzyły roztwory homogeniczne (Cys, His), inne wykazywały minimalną rozpuszczalność w neutralnym pH (Ser, Glu) – i nie tworzyły oczekiwanych hydrożeli. Jednak związek **1**, powstały z kondensacji fotochromowego aminokwasu **PAP** z (*S*)-lizyną okazał się efektywnym hydrożelatorem. W roztworach wodnych związek ten tworzył (po krótkim ogrzaniu do temperatury wrzenia i ochłodzeniu do temperatury pokojowej) przezroczyste, homogeniczne hydrożele w zakresie stężeń 15-30 g/L (1.5-3.0 %wag) (w dalszej części pracy stężenia podawane będą w procentach wagowych, jeśli nie zaznaczono inaczej). Limit rozpuszczalności **1** w wodzie wynosił 30 g/L (hydrożele tworzone z większych ilości nie były

homogeniczne). Z powodu swojej supramolekularnej struktury, materiały te są samonaprawiające (self-healing) – po odkształceniu mechanicznym powracają do początkowych parametrów elastyczności – mierzonych wartościami modułów zachowawczego (storage modulus) G' i stratności (loss modulus) G'' - w czasie krótszym niż minuta. Wytrzymałość mechaniczna żelu zwiększała się po dodaniu chlorku sodu, a także oligomerycznego DNA (>2kbp), które (będąc chemicznie polikwasem fosforowym, ujemnie zjonizowanym w neutralnym pH) oddziaływało z zasadowymi łańcuchami bocznymi lizyny. Najważniejszą obserwacją było jednak zachowanie hydrożeli zawierających żelator **1** wystawionych na działanie światła. Po oświetleniu próbki żelu o objętości 1 ml światłem ultrafioletowym (365 nm), w ciągu 30 minut przeszła ona całkowicie w ciecz o niskiej lepkości. Ciecz ta po naświetleniu światłem niebieskim (460 nm) przez 30 minut oraz inkubacji w ciemności przez dalsze 4-6 godzin tworzyła z powrotem żel o parametrach mechanicznych identycznych ze stanem wyjściowym. Ten sam efekt (ponowna koagulacja) można było zaobserwować po odstawieniu wyżej opisanej cieczy o niskiej lepkości w ciemności na okres 10-14 dni, co odpowiada szybkości termicznej izomeryzacji metatrwałego izomeru *Z*-azobenzenu do termodynamicznie trwałej formy *E*. W ciemności, nanowłókna hydrożelu które można zwizualizować za pomocą mikroskopii elektronowej stabilizowane są głównie poprzez wzajemne oddziaływania hydrofobowe (π -stacking) płaskich niepolarnych reszt *E*-azobenzenu, tworzące prawdopodobnie rdzeń nanowłókien, wspomagane przez gęstą sieć wiązań wodorowych pomiędzy grupami amidowymi pierścieni 2,5-diketopiperazyny. Naświetlanie światłem UV powoduje fotoizomeryzację większości cząsteczek azobenzenu do zgiętej i bardziej polarnej formy *Z*, co destabilizuje włókna, powodując ich – przynajmniej częściowy – rozpad, a w rezultacie destabilizację trójwymiarowego usieciowania materiału, który w rezultacie przekształca się w ciecz o niskiej lepkości w badanym zakresie stężeń. Izomeryzacja $Z \rightarrow E$ (indukowana światłem niebieskim lub termicznie) odtwarza praktycznie ilościowo (>95%) amfifilowy izomer *E*, który szybko ulega powtórnemu uporządkowaniu w supramolekularne włókna, co z kolei wywołuje ponowną koagulację materiału. Materiał ten zastosowałem następnie, aby zademonstrować enkapsulację i kontrolowane światłem ultrafioletowym (365 nm) uwalnianie znanego leku przeciwnowotworowego (doksorubicyny) oraz makrocząsteczek (w tym przypadku dwuniciowego DNA). Proces ten przebiegał bardzo selektywnie (szybkie uwalnianie po oświetleniu, bardzo dobra retencja w ciemności - prawdopodobnie wspomagana przez oddziaływania elektrostatyczne) dla dwuniciowego DNA. Selektywność była zauważalnie mniejsza dla doksorubicyny (obserwowaliśmy zauważalne uwalnianie z hydrożelu także w ciemności).[H1] Ten obiecujący wynik zmotywował mnie do dalszej optymalizacji systemu, której celem było zwiększenie selektywności uwalniania związków niskocząsteczkowych (przez ograniczenie lub zapobieżenie niekontrolowanemu uwalnianiu substancji aktywnych do otoczenia przez nieoświetlone próbki), oraz dostosowanie pierwotnego materiału do użycia wewnątrz organizmów żywych poprzez optymalizację użytych długości fali światła - eliminację fal ultrafioletowych (które ulegają silnemu pochłanianiu i rozpraszaniu w komórkach i tkankach żywych organizmów) na rzecz częstotliwości światła widzialnego, które penetruje złożone systemy biologiczne, w tym tkanki ludzkie, ze znacznie większą efektywnością.[H17] Zamiar ten zrealizowałem poprzez modyfikację oryginalnego szkieletu azobenzenu podstawnikami halogenowymi w pozycjach *orto* względem grupy azowej. Początkowo były to atomy fluoru. Związki te opisano wcześniej jako fotochromowe przełączniki molekularne ulegające izomeryzacji ($E \rightarrow Z$) pod wpływem światła zielonego (500-530 nm). Powstały izomer *Z* może zostać przekształcony z powrotem w formę *E* za pomocą światła fioletowego (410 nm). W

ciemności jednak wykazuje dużo większą stabilność termiczną (czas życia w temperaturze pokojowej przekracza kilka miesięcy), niż jego niehalogenowany analog. W związku z tym, jest to system zasadniczo bistabilny.[34]



Rysunek 2. Fotochromowy aminokwas **PAP** (analog *S*-fenyloalaniny) został włączony w struktury cyklicznych dipeptydów (CDP). Związek **1** (PAP+S-lizyna) tworzy w środowisku wodnym hydrożele, które odwracalnie zmieniają swoje własności mechaniczne pod wpływem światła UV (365 nm). Analogiczny związek **2** posiadający azobenzen z dwoma atomami fluoru tworzy hydrożele wrażliwe na światło widzialne (lewa strona); hydrożele utworzone ze związków **1** i **2** ulegają odwracalnej dysypacji do cieczy o niskiej lepkości po naświetleniu (prawa strona, góra); powodem tego zachowania jest odwracalna destabilizacja struktury włókien supramolekularnych, spowodowana izomeryzacją hydrofobowego *E*-azobenzenu do jego bardziej polarnego izomeru *Z* (który nie tworzy silnych oddziaływań hydrofobowych stabilizujących wewnątrz włókna) (prawa strona, dół).

Najpierw zsyntetyzowany został analog (*S*)-fenyloalaniny posiadający di-*orto*-fluoroazobenzen, który następnie włączyłem w strukturę cyklicznego dipeptydu razem z (*S*)-lizyną. Powstały fotochromowy związek **2** tworzy hydrożele supramolekularne w środowisku wodnym (n.p. solanka buforowana fosforanem, tzw. „bufor PBS” o pH 7.4, standardowo używany w eksperymentach biologii komórkowej) przy stężeniach 40-70 g/L (4.0-7.0 %). Tak jak poprzednio opisany materiał oparty na CDP **1**, te hydrożele także ulegają szybkiej autoregeneracji po wystawieniu na bodźce mechaniczne. Jednak w tym przypadku hydrożele ulegają przekształceniu w ciecz o niskiej lepkości po naświetleniu światłem zielonym (523 nm) (**Rysunek 2**, prawa strona), co – w połączeniu z niską toksycznością - znacząco zwiększa biokompatybilność materiału i zakres jego zastosowań w układach biologicznych.

Hydrożel oparty na **2** został użyty do enkapsulacji zróżnicowanych ładunków niskocząsteczkowych (leki przeciwzapalne, przeciwrakowe, antybiotyki) oraz makromolekularnych (cytochrom C reprezentujący białka), które uwolniono następnie w kontrolowany sposób za pomocą światła zielonego. Jako demonstrację skuteczności i selektywności uwalniania leku, przygotowany został hydrożel wypełniony antybiotykiem ciprofloksacyną. W ciemności materiał ten nie wpływał na tempo wzrostu otaczającej go kultury bakteryjnej (*E.coli*). Jednakże po naświetleniu światłem zielonym antybiotyk uwolniony w aktywnej formie zapobiegł dalszemu wzrostowi bakterii.[H2]

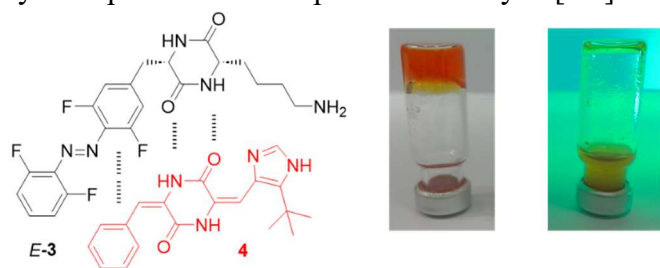
W przypadku związku **2**, z powodzeniem zwiększyliśmy biokompatybilność powstałego hydrożelu pod względem użytej częstotliwości światła. Jednak problem niekontrolowanej dyfuzji związków bioaktywnych w ciemności z hydrożelu do otoczenia wciąż pozostawał

znaczący, choć bardziej dla związków o charakterze zasadowym niż kwasowym (w tym ostatnim przypadku, prawdopodobnie stabilizacja elektrostatyczna spowalniała uwalnianie substancji bez obecności światła).[H8]

W celu dalszej optymalizacji systemu, przygotowano hydrożelator **3** – cykliczny dipeptyd zawierający lizynę oraz aminokwas z tetra-*orto*-fluoroazobenzenem. Związek ten wykazywał wyższą fotokonwersję niż difluorowany związek **2**, a także niższe krytyczne stężenie koagulacji (critical gelator concentration, CGC) (>15 g/L). Hydrożele powstające z **3** w środowisku wodnym (bufor PBS, pH 7.4) ulegały dyssypacji do cieczy o niskiej lepkości po naświetleniu światłem zielonym (523 nm przez 30 minut), a także powtórnej koagulacji – gdy ciecz ta wystawiona została na działanie światła fioletowego (410 nm przez 60 minut, żel tworzył się w ciemności w ciągu następnych kilku godzin, z reguły pozostawiany przez noc) (**Rysunek 3**).

W tym przypadku postanowiłem także zoptymalizować strukturę bioaktywnego ładunku. W oparciu o wcześniejsze obserwacje, założyłem że zwiększenie ilości oddziaływań supramolekularnych ładunku z żelatorem powinno spowolnić niekontrolowaną dyfuzję tego pierwszego. Przeszukałem więc dostępną literaturę w celu znalezienia bioaktywnego związku, którego struktura zbliżona byłaby do hydrożelatora **3**. Znaleziony związek – plinabulina (**4**) – jest silnym (<15 nM) inhibitorem dynamiki mikrotubul w komórkach ludzkich i obiecującym związkiem przeciwrakowym, testowanym obecnie (trzecia faza prób klinicznych FDA) jako lek przeciw nowotworom takim jak NSCLC (odmiana raka płuc). Związek ten (**Rysunek 3**) został zsyntetyzowany według procedur literaturowych (bis-*N*-acetylo-2,5-diktetopiperazyna ulegająca podwójnej kondensacji z aldehydami aromatycznymi w środowisku zasadowym).[35]

Rzeczywiście, hydrożele wytworzone z żelatora **3** i zawierające **4** uwalniały efektywnie ładunek po naświetleniu światłem zielonym (523 nm). Jednakże inkubacja z roztworami wodnymi w ciemności, także w czasie dłuższym niż 24 h, nie powodowała uwolnienia **4** do roztworu. Dodatkową interesującą obserwacją był fakt, że związek **4** mógł zostać wprowadzony – przy zachowaniu homogeniczności materiału - do hydrożelu w stężeniach 40-krotnie przekraczających jego limit rozpuszczalności w wodzie. Najprawdopodobniej, związek **4** z powodu struktury zbliżonej do żelatora **3** wbudowuje się jako domieszka w strukturę włókien supramolekularnych (co wyjaśniałoby brak obserwowalnej dyfuzji do otoczenia w ciemności). A uwalniany jest dopiero podczas oświetlenia materiału światłem zielonym i następującego po tym rozpadu struktur supramolekularnych.[H3]



Rysunek 3. Przeciwnowotworowy związek plinabulina **4** jest optymalnym bioaktywnym ładunkiem supramolekularnych hydrożeli opartych na strukturach fotochromowych cyklicznych dipeptydów, takich jak **3**. Z powodu licznych oddziaływań supramolekularnych z żelatorem, **4** nie ulega pasywnej dyfuzji do otoczenia w ciemności. Jednak może być efektywnie uwolniony po naświetleniu hydrożelu światłem zielonym.

Kolejną interesującą obserwacją w powyższych eksperymentach był fakt dodatkowej stabilizacji (własności mechaniczne oraz „temperatura topnienia” T_m , czyli temperatura przejścia ze stanu żelu w stan cieczy) hydrożeli w obecności znaczących ilości dwuniciowego

DNA,[H1] spowodowana najprawdopodobniej oddziaływaniem elektrostatycznym anionów fosforanowych szkieletu DNA z dodatnio naładowanymi (w pH fizjologicznym) resztami alkiloaminowymi łańcuchów bocznych lizyny z żelatora **1**.

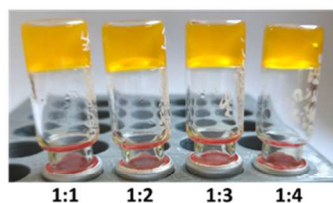
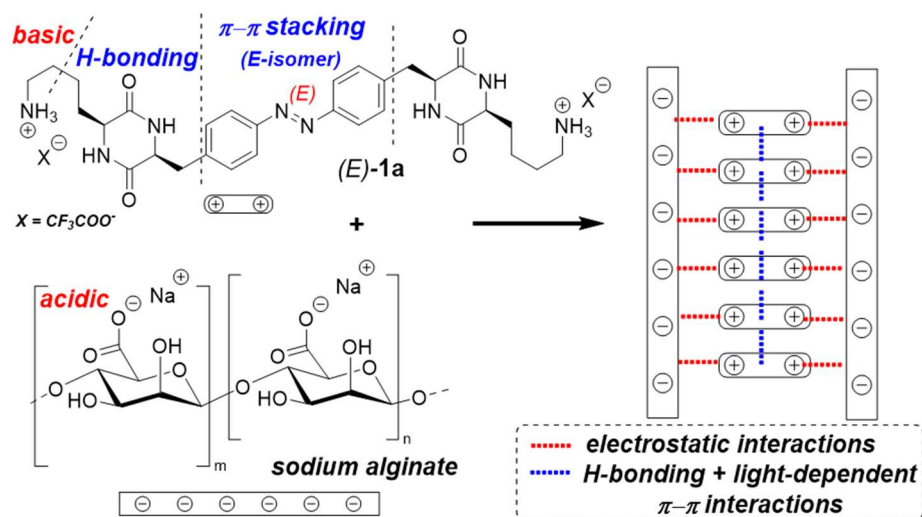
Postawiłem więc hipotezę, że inne anionowe polimery, jak alginian sodu, mogą znacząco zwiększyć stabilność naszych hydrożeli, a także zmniejszyć stężenie (CGC) fotochromowego komponentu koniecznego do otrzymania trwałego hydrożelu. W tym celu zmodyfikowałem strukturę hydrożelu **1** poprzez syntezę dimeru **1a**, wychodząc z założenia że związek ten będzie „sieciował” łańcuchy niefotochromowego alginianu, a fotoizomeryzacja będzie znacząco zmieniać siłę tego oddziaływania. Związek **1a** okazał się dobrym samodzielnym hydrożelotorem – tworzył hydrożele w stężeniach (CGC) powyżej 10 g/L (1%) w roztworach wodnych (bufor PBS, pH 7,4). Jednakże w obecności alginianu sodu (o masie równej masie hydrożelatora lub większej – aż do dwukrotności), wartość CGC spadła poniżej 4 g/L (0.4 %), potwierdzając wcześniejszą hipotezę o elektrostatycznej stabilizacji układu (**Rysunek 4, lewa strona**). Tak utworzony “kompozytowy” hydrożel ulegał zamianie w ciecz o niskiej lepkości po naświetleniu światłem UV (365 nm), oraz powtórnej koagulacji po wystawieniu na działanie światła niebieskiego (460 nm), co jest zgodne z naturą użytego układu fotochromowego. Odwracalna koagulacja po naświetlaniu, jak opisano wyżej, powodowała nieznaczny wzrost stabilności mechanicznej materiału oraz jego wartości T_m , co spowodowane jest prawdopodobnie bardziej równomiernym wymieszaniem składników lub też wolniejszym i bardziej efektywnym usieciowaniem mieszanki. W materiale poddanym fotorównowagowaniu w opisany sposób, wartość CGC wyniosła 3 g/L (0.3 %) **1a** oraz 3 g/L (0.3 %) alginianu sodu (przy $T_m = 80\text{ }^\circ\text{C}$).

Poza pozytywną weryfikacją hipotezy o elektrostatycznej stabilizacji naszych hydrożeli supramolekularnych, opracowany został w tym przypadku protokół przygotowania żelu niewymagający ogrzewania na etapie koagulacji. Homogeniczny roztwór **1a** poniżej jego indywidualnej wartości CGC, naświetlony światłem UV (izomeryzacja $E \rightarrow Z$), mieszany jest następnie z roztworem alginianu (także sporządzonym poniżej jego indywidualnego CGC). Na tym etapie, mieszankę można domieszkować związkami bioaktywnymi, także wrażliwymi na temperaturę. Koagulacja do stabilnego hydrożelu następuje poprzez ekspozycję na światło niebieskie (460 nm, izomeryzacja $Z \rightarrow E$) i kilkugodzinną inkubację w ciemności w temperaturze pokojowej.

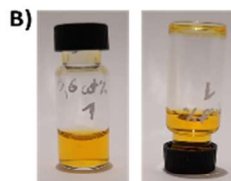
Dodatkowo, z powodu dynamicznej, supramolekularnej natury naszego materiału możliwe jest dokonanie procesu wymiany w obecności wodnych roztworów soli wapnia. Powszechnie znana jest skłonność alginianów do silnego wiązania jonów wapnia w postaci kompleksów - tzw. struktur „Egg-box”. Kompozytowy hydrożel opisany powyżej po kilku godzinach inkubacji z 10% wodnym roztworem CaCl_2 ulega kompletnej wymianie jonów – słabo związany składnik fotochromowy koloru żółtego wypychany jest do roztworu wodnego, zaś pozostały alginian wapnia tworzy bezbarwny hydrożel. Oświetlenie próbki światłem UV przyspiesza proces wymiany około 4-krotnie (prawdopodobnie poprzez osłabienie usieciowania materiału i tym samym zwiększoną penetrację jonów wapnia).[H5]

Niedawno koncepcja kompozytowych hydrożeli została przez nas rozszerzona na materiały reagujące na światło widzialne. Cykliczny dipeptyd **3a** (**Rysunek 4 prawa strona**) zawierający (*S*)-argininę oraz aminokwas z grupą tetra-*orto*-fluoroazobenzenu (także w konfiguracji (*S*)) także tworzy kompozytowe hydrożele z alginianem sodu (typowy skład: 0.6 % hydrożelatora **3a** oraz 1.2 % alginianu sodu). Powstały kompozytowy hydrożel może być odwracalnie przekształcany w ciecz o niskiej lepkości za pomocą światła zielonego (523 nm) oraz

koagulowany za pomocą światła fioletowego (410 nm). W tym wypadku, usieciowanie alginianu następuje najprawdopodobniej poprzez dimery żelatora *E-3a*, które ulegają odwracalnemu rozpadowi podczas fotoizomeryzacji. W tym przypadku pokazałem, że fotochromowe hydrożele (także kompozytowe) mogą powstawać z amfifilowych CDP z resztami zasadowych aminokwasów innych niż lizyna (w tym przypadku - arginina). Pokazałem także, że materiał ten może efektywnie uwalniać lek przeciwrakowy – doksorubicynę – po naświetleniu światłem zielonym.[H11]



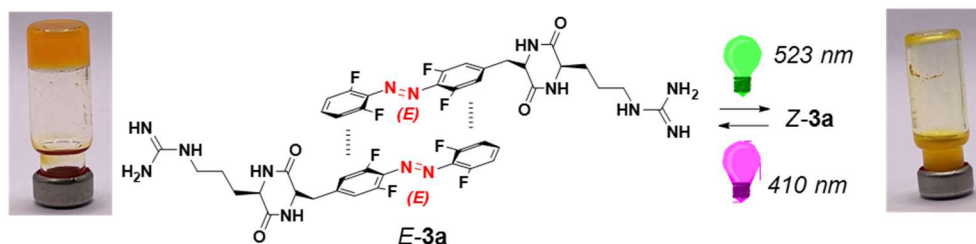
0,6% **1a** + alginate (0.6-2.4%)



0,6 % **1a**



1,2 % alginate



Rysunek 4. Kompozytowe supramolekularne hydrożele fotochromowe stabilizowane oddziaływaniami elektrostatycznymi. Dodatkowo naładowane fotochromowe niskocząsteczkowe cykliczne dipeptydy oddziałują z ujemnie naładowanymi łańcuchami polimerycznego alginianu. Wynikająca z tego stabilizacja i tworzenie włókien supramolekularnych silnie zależy od stanu izomeryzacji azobenzenu.

Fotochromowe przełączniki molekularne aktywowane światłem czerwonym [H4,H7,H13,H15]

Światło czerwone (>630 nm) oraz podczerwone (NIR <900 nm) to najlepszy zakres długości fali światła do użycia w systemach biologicznych. W zakresie tym gwałtownie spada absorpcja hemoglobiny, a woda oraz inne biopolimery nie wykazują znaczącej absorpcji ani silnego rozpraszania. Z tego powodu światło w zakresie 630-900 nm może efektywnie penetrować

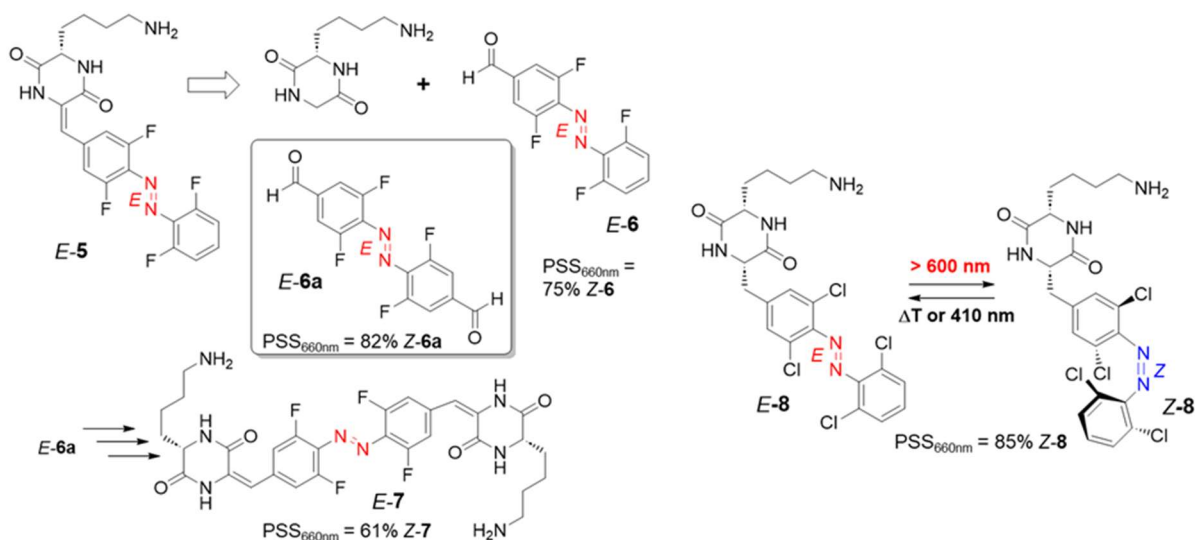
miękkie tkanki złożonych organizmów, w tym ludzkie. Materiały reagujące na fale emitowane w tym zakresie mogą znaleźć szerokie zastosowania *in vivo*, w tym także terapeutyczne.[11,12] W oczywisty sposób interesująca była perspektywa aby stworzyć hydrożele, które mogą uwalniać substancje bioaktywne po naświetleniu światłem czerwonym, ponieważ mogłyby one znaleźć bezpośrednie zastosowanie terapeutyczne w organizmie ludzkim. W tym celu podjąłem wysiłki, aby zintegrować szkielet hydrożelatora znanego ze związków **1-3** z układem fotochromowym reagującym na światło czerwone, opisanym w literaturze[36] – tetra-*orto*-chloroazobenzenem. Związek ten (**8**) stanowi wyzwanie syntetyczne z powodu niskiej gęstości elektronowej w pobliżu grupy azowej, połączonej ze zwiększoną zawadą steryczną powodowaną w tym obszarze przez atomy chloru. W związku z tym, wszystkie strategie syntetyczne użyte w przypadku związków **1-3** zawiodły. Dopiero później, zastosowanie specyficznych strategii syntetycznych [37] wynalezionych dla układu *orto*-chlorowanych azobenzenów w 2016 roku oraz intensywna optymalizacja użytych grup ochronnych pozwoliły odnieść sukces po ponad 7 latach prób (*vide infra*).[H7]

W tym czasie moje laboratorium, poszukując bardziej efektywnych sposobów syntezy, natrafiło także na inne systemy fotochromowe reagujące na światło czerwone, opisane zwięźle poniżej, które znalazły interesujące zastosowania, choć – prawdopodobnie z powodów sterycznych – nie ulegały oczekiwanej samoorganizacji do hydrożeli w środowisku wodnym.

Jednym z ograniczeń syntetycznych, na jakie napotkałem w syntezie hydrożelatorów **3** oraz **3a** reagujących na światło widzialne była konieczność użycia stereoselektywnego sprzężenia Negishi (która w naszym wypadku charakteryzowała się niezbyt wysoką wydajnością i dużą wrażliwością na warunki reakcji) w celu otrzymania polihalogenowanego azobenzenu wbudowanej w pochodną fenyloalaniny o naturalnie występującej konfiguracji *S*. Problem ten nie występował w przypadku żelatorów **1** i **2** – tam wystarczyła kilkustopniowa modyfikacja (*S*)-fenyloalaniny niewymagająca transformacji stereoselektywnych. W związku z tym postanowiłem usunąć centrum stereogeniczne w analogach związku **3** w celu uproszczenia syntezy fotochromowych CDP. Kluczowym krokiem syntetycznym było sprzężenie w środowisku zasadowym pochodnej naturalnego cyklicznego dipeptydu cyklo(Lys-Gly) z pochodną benzaldehydu zawierającą *orto*-fluorowany azobenzen, w celu syntezy żelatora **5**. Przygotowałem dwa związki – jeden z grupą aldehydową w pozycji *para* do wiązania azowego (**6**), a drugi z grupą aldehydową w pozycji *meta*. Ku mojemu zaskoczeniu, związek *E*-**6** wykazywał znaczne batochromowe przesunięcie pasma absorpcji w świetle widzialnym, które umożliwiło fotoizomeryzację za pomocą światła czerwonego (660 nm, z filtrem odcinającym długości fali poniżej 630 nm, 75% *Z*-**6**). Co ciekawe, izomer z aldehydem w położeniu *meta* praktycznie nie reagował na światło czerwone, ulegając izomeryzacji (>85% izomeru *Z*) po naświetleniu światłem zielonym (tak jak niepodstawiony system macierzysty, lub hydrożelator **3**). Efekt ten stał się jeszcze bardziej wyraźny (fotokonwersja do 82% *Z*-**6a**) dla związku **6a** z dwiema grupami aldehydowymi w pozycjach *para* względem wiązania azowego. Co ważne, zaobserwowany efekt przesunięcia batochromowego utrzymał się dla innych systemów zawierających wiązania podwójne w pozycji *para*, sprzężone z grupą azową, także po sprzężeniu *bis*-aldehydu **6a** z cyklicznym dipeptydem cyklo(Lys-Gly) prowadzącym do związku **7** (fotokonwersja 61% *Z*-**7** po naświetleniu światłem 660 nm). Można więc uogólnić obserwację, że wydłużenie sprzężonego systemu π -elektronowego w układzie tetra-*orto*-fluoroazobenzenu prowadzi do przesunięcia batochromowego wystarczającego dla indukcji fotochromizmu w pełni biokompatybilnym światłem czerwonym (>630 nm).

Niestety, związki **5** oraz **7** nie tworzą hydrożeli w roztworach wodnym – zaobserwowaliśmy tylko struktury polikrystaliczne w niehomogenicznym materiale. Wskazuje to, że w tym – dość

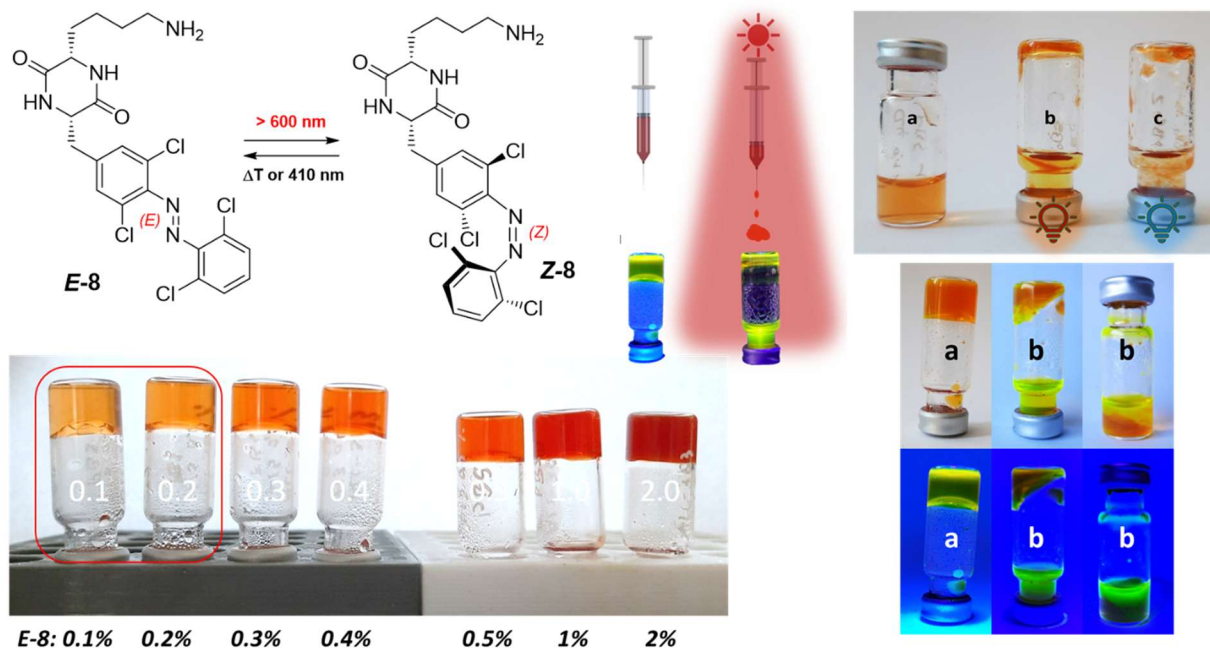
sztynym – systemie supramolekularnym swobodna rotacja wokół wiązań pojedynczych centrum stereogenicznego jest kluczowa dla efektywnego samouporządkowania w włókna supramolekularne i wytworzenia wewnętrznej struktury hydrożelu. Jednakże motyw fluorowanego azobenzenu izomeryzującego pod wpływem światła czerwonego został z sukcesem wykorzystany w interesujących układach supramolekularnych (receptory, klatki molekularne) opisanych poniżej (**Rysunek 7,8**).[H13,H15]



Rysunek 5. Cykliczne dipeptydy fotochromowe izomeryzujące pod wpływem światła czerwonego. Próby syntezy hydrożelatora **5** pozbawionego jednego z centrów stereogenicznych doprowadziły do odkrycia faktu, że orto-fluorowane pochodne azobenzenu z powiększonym sprzężonym układem wiązań nienasyconych mogą ulegać efektywnej fotoizomeryzacji pod wpływem światła czerwonego, a w związku z tym mogą być potencjalnie stosowane wewnątrz tkanek miękkich organizmu ludzkiego (które wykazują dobrą przenikalność dla fal o długości >630 nm). Odpowiednie cykliczne dipeptydy - związki **5** i **7** - nie tworzyły niestety hydrożeli w środowisku wodnym, co spowodowało zmianę fragmentu fotochromowego na chlorowaną pochodną azobenzenu znaną z literatury. Związek **8** tworzy hydrożele w roztworach wodnych i efektywnie fotoizomeryzuje pod wpływem światła czerwonego.

Niepowodzenie w tworzeniu hydrożeli przez związki **5** i **7** zmotywowało mnie do dalszych poszukiwań efektywnych sposobów syntezy związku **8**. Jak wspomniano, w 2016 roku grupa D. Traunera wprowadziła [37] metodę (late-stage chlorination) z użyciem elektrofilowego źródła chloru oraz katalitycznych ilości soli palladu, która umożliwiła syntezę zróżnicowanych pochodnych tetra-orto-chloroazobenzenu z substratów zawierających niechlorowany azobenzen. Nasze początkowe próby zastosowania tej metody z pochodną związku **PAP** ((*S*)-4-(fenyloazo)-fenyloalanina, **Rysunek 2**), z grupą aminową zabezpieczoną grupą Boc, oraz grupą karboksylową zabezpieczoną jako ester metylowy, skutkowały otrzymaniem niedającej się rozdzielić mieszaniny produktów ubocznych. Jednak po optymalizacji układu grup zabezpieczających (grupę Boc zastąpiono grupą acetylową, a grupę karboksylową pozostawiono bez zabezpieczenia) otrzymaliśmy czystą pochodną fenyloalaniny zawierającą fragment tetra-orto-chloroazobenzenu z dobrą wydajnością. Związek **8** został zsyntetyzowany z dobrą wydajnością, ulegał efektywnej izomeryzacji po oświetleniu światłem czerwonym (660 nm) i okazał się bardzo dobrym hydrożelatorem – w buforze PBS o pH 7.4 tworzył hydrożele już przy stężeniach powyżej 1 g/L lub 0.1% (gdy wartość ta jest mniejsza od 1%, substancję można zaklasyfikować jako tzw. „superhydrożelator”). Żele te – w przeciwieństwie do materiałów opartych na związkach **1-3** – podczas fotoizomeryzacji nie ulegają całkowitemu

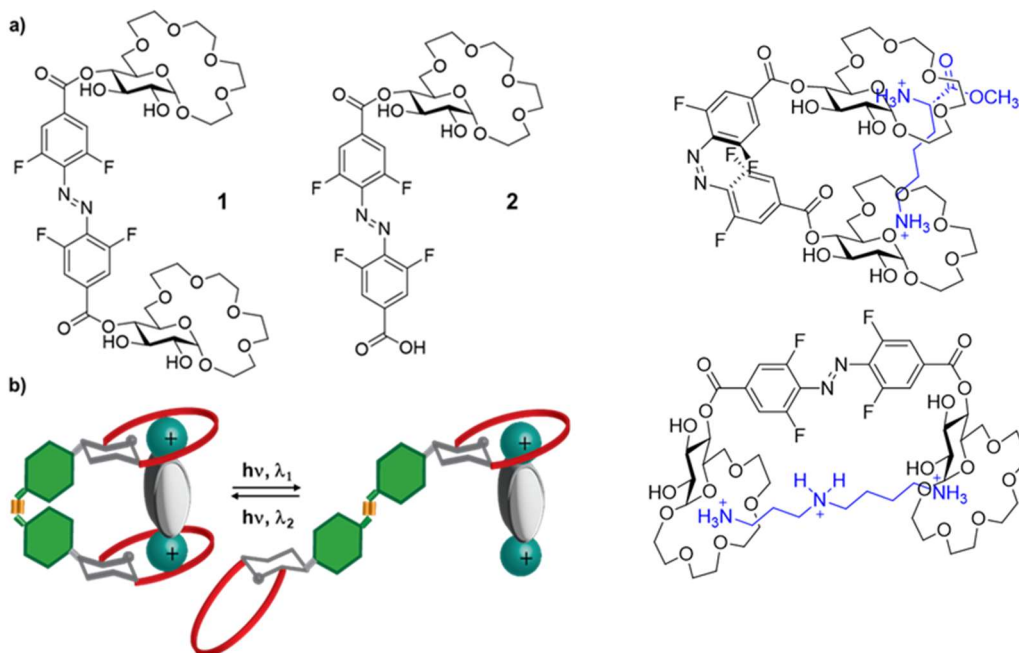
przejściu w ciecz o niskiej lepkości, ale zmniejszając swoją objętość. Jeśli uprzednio w żelu uległa enkapsulacji inna substancja (w naszym przypadku była to fluoresceina), to podczas jego kurczenia przy oświetleniu światłem czerwonym jest ona wydzielana do otaczającego roztworu. W związku z tym nazwałem ten system „molekularną strzykawką” („molecular syringe”).[H7] System ten może w przyszłości zostać użyty do enkapsulacji i aktywnego uwalniania leków wewnątrz organizmu ludzkiego pod wpływem naświetlania światłem czerwonym.



Rysunek 6. „Strzykawka molekularna”. Związek **E-8** tworzy hydrozele już powyżej stężenia 1 g/L (superhydrożelator). Hydrozele te ulegają kontrakcji pod wpływem światła czerwonego. Jeśli w hydrożelu zostanie uprzednio przeprowadzona enkapsulacja małych cząsteczkowych związków bioaktywnych (tu reprezentowanych przez fluoresceinę), oświetlenie materiału światłem czerwonym powoduje uwolnienie związku bioaktywnego (razem z nadmiarem buforu) do środowiska. Materiał ten może znaleźć zastosowania terapeutyczne. [H7]

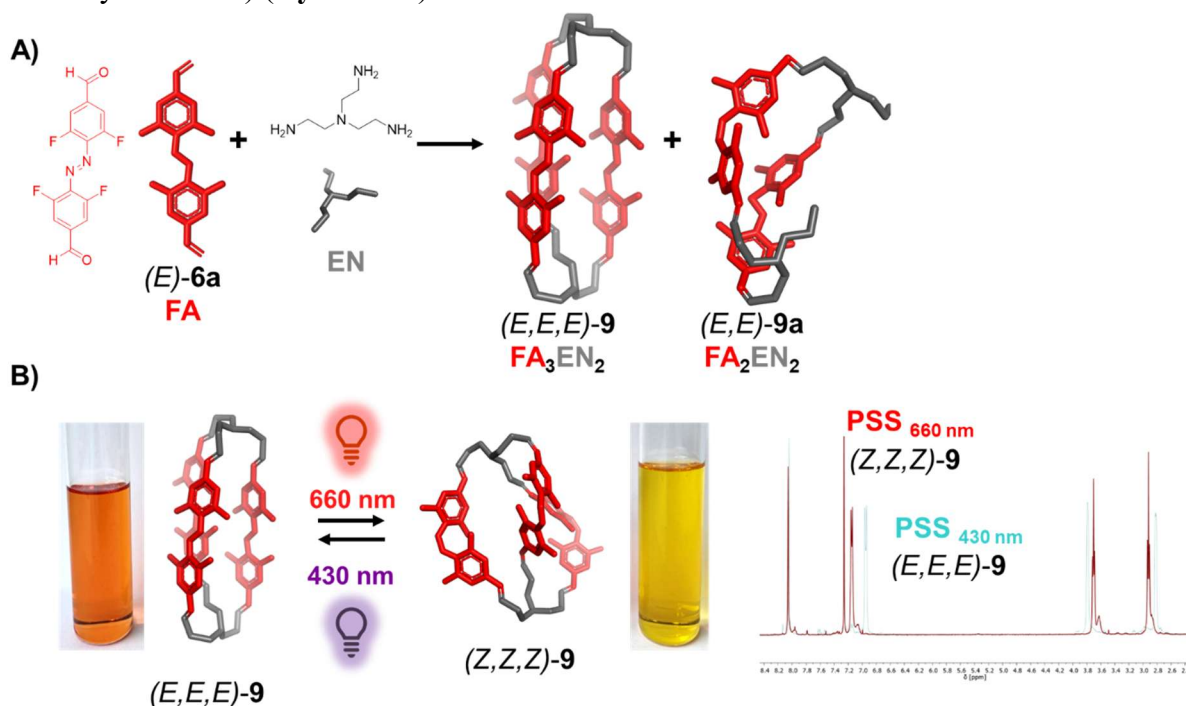
Struktury supramolekularne reagujące na światło czerwone

We współpracy z grupą Dr B. Lewandowskiego ze Szwajcarii (ETH Zurych), który wcześniej opracował makrocycliczne receptory grup aminowych oparte na *D*-glukozie działające w środowisku wodnym[43,44], zsyntetyzowałem „szczyłce molekularne” w których dwa receptory połączone są cząsteczką fluorowanego azobenzenu. Z powodu znacznej sztywności tego systemu, fotoizomeryzacja przełącza go pomiędzy dwoma sterycznie odmiennymi izomerami. „Szczyłce” te selektywnie wiążą estry metylowe zasadowych aminokwasów (Lys, Arg, Orn) w konfiguracji *Z*, natomiast w konfiguracji *E* wiążą lepiej np. aminy biogenne o odpowiedniej długości (spermidyna) (**Rysunek 7**). System ten działa w środowisku wodnym (woda lub bufor PBS pH 7.4), a sam związek ulega fotoizomeryzacji z wysoką efektywnością przy użyciu światła widzialnego (>90% izomeru *Z* – światło czerwone 623 nm, >95% izomeru *E* – światło fioletowe 410 nm).[H13]



Rysunek 7. „Szczypce molekularne” – dwa makrocykliczne receptory grup aminowych zostały połączone za pomocą cząsteczki fluorowanego azobenzenu. Związek ten efektywnie fotoizomeryzuje pomiędzy formami *Z* i *E* po oświetleniu światłem widzialnym (odpowiednio: 623 nm i 410 nm). W zależności od izomeru, „szczypce” te wiążą (w roztworach wodnych: woda, bufor PBS) estry metylowe zasadowych aminokwasów (forma *Z*) lub aminy biogenne, takie jak spermidyna (forma *E*). [H13]

Moja grupa zastosowała także związek **6a** (bis-aldehyd tetra-*orto*-fluoroazobenzenu) w konstrukcji klatek molekularnych za pomocą metod dynamicznej chemii kowalencyjnej. W połączeniu z trójfunkcyjną *tris*-(2-aminoetylo)-aminą (TREN, EN) bis-aldehyd utworzył – z wysoką wydajnością i selektywnością – labilną klatkę molekularną **9**, która może ulegać fotoizomeryzacji między formami *all-Z* (światłem czerwonym 660 nm) oraz *all-E* (światłem fioletowym 410 nm) (Rysunek 8).



Rysunek 8. Fotochromowa klatka molekularna ulegająca odwracalnej fotoizomeryzacji za pomocą światła widzialnego (*all-E* → *all-Z* – światło czerwone, *all-Z* → *all-E* – światło fioletowe). [H15]

Klatka **9** została następnie zredukowana za pomocą NaBH_4 , co przekształciło labilne wiązania iminowe ($>\text{C}=\text{N}-$) w trwałe kowalencyjne wiązania aminowe ($>\text{CH}-\text{NH}-$). Produkt tej reakcji – klatka **9b** – ulegała fotoizomeryzacji (w tym przypadku *all-E* \rightarrow *all-Z* za pomocą światła zielonego 530 nm, gdyż układ sprzężonych elektronów π uległ zmniejszeniu na skutek redukcji, patrz też **rysunek 5**), a z powodu swojej zwiększonej zasadowości (po redukcji stała się oktaamina) reagowała odwracalnie z kwasami (kwas trifluorooctowy, a nawet kwas węglowy powstały z CO_2 rozpuszczonego w wodzie), a powstała forma protonowana wykazywała lepszą rozpuszczalność w wodzie, niż w rozpuszczalnikach organicznych.[H15]

Fotochromizm plinabuliny i fotomodulacja jej cytotoksyczności – odkrycie i zastosowania w systemach biologicznych [H6,H12]

Jednym z wyzwań stojących przed zastosowaniem hydrożeli opisanych w powyższej sekcji było niekontrolowane uwalnianie substancji bioaktywnych w ciemności. Problem ten został wyeliminowany w systemie opisanym na **rysunku 3** [H3] przy wykorzystaniu strukturalnego podobieństwa leku (plinabulina **4**) do cząsteczek hydrożelatora **3**.

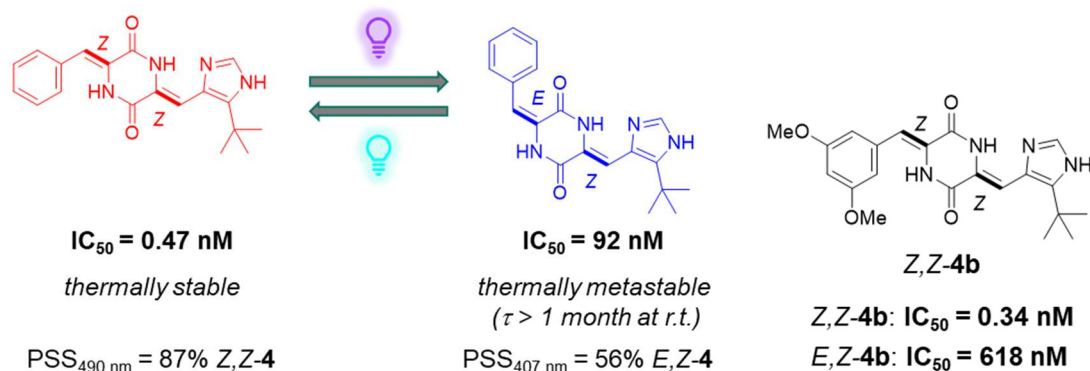
Podczas dokładnej analizy zachowania składników tego systemu w czasie naświetlania szerokim spektrum długości fal (365-660 nm) razem z moją grupą odkryłem, że stabilny izomer *Z,Z-4* (wyizolowany w trakcie syntezy) ulega częściowej (56-62%) fotoizomeryzacji do formy *E,Z-4* po naświetleniu światłem fioletowym 410 nm (lub UV 365 nm). Co ciekawe, izomer ten jest termalnie metastabilny (w 37 °C konwersja do wyjściowego, stabilnego izomeru *Z,Z-4* po 32 godzinach jest niższa niż 2%, co znacznie przekracza stabilność termiczną większości pochodnych azobenzenu). Można więc wyizolować izomer *E,Z-4* w stanie czystym za pomocą chromatografii wysokorozdzielczej (HPLC) i przechowywać w lodówce przez okres co najmniej kilku tygodni bez znaczących oznak izomeryzacji. Izomer *Z,Z-4* może być szybko i niemal całkowicie odzyskany (87% w stanie fotorównowagi) poprzez naświetlenie roztworów czystego *E,Z-4* lub mieszanin za pomocą światła niebieskiego lub turkusowego (470-490 nm). Związek nie absorbuje światła powyżej 490 nm, a żadna z użytych długości fali nie wygenerowała mierzalnych ilości teoretycznie możliwego izomeru *E,E-4*.

Co ważne, cytotoksyczność obu izomerów, wyznaczona za pomocą pomiaru metabolicznej aktywności (MTT assays) ludzkich komórek nowotworowych HT-29, różni się o dwa rzędy wielkości: $\text{IC}_{50}(\text{Z,Z-4}) = 0.47 \text{ nM}$, $\text{IC}_{50}(\text{E,Z-4}) = 92 \text{ nM}$ (**Rysunek 9 lewa strona**).[H6]

Biorąc pod uwagę wszystkie te cechy, oraz fakt że plinabulina znajduje się obecnie w trzeciej fazie badań klinicznych FDA jako lek przeciwnowotworowy (a więc została już przetestowana na dziesiątkach tysięcy ludzi), metastabilny izomer *E,Z-4* jest atrakcyjnym kandydatem na cytotoksyczny prolek aktywowany miejscowo światłem niebieskim (w układach biologicznych i tkankach przenikliwych dla długości fal 470-490 nm, takich jak skóra, rogówka oka, lub nisko ukrwione tkanki jak pęcherz moczowy). W przeciwieństwie do obecnie stosowanych terapii fotodynamicznych, w których pochodne porfiryn wykazują cytotoksyczność generując wolne rodniki z tlenu, aktywność naszego związku nie jest zależna od stopnia nasycenia tkanek tlenem.

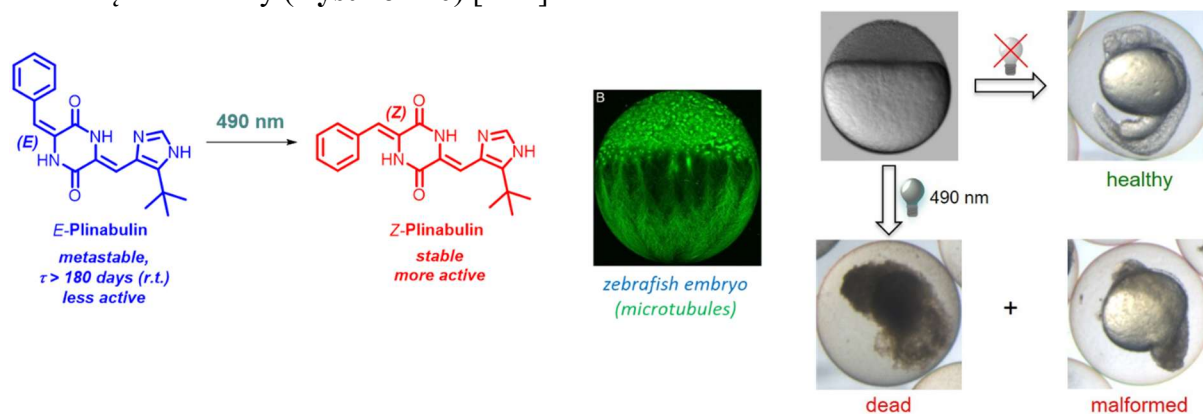
Obecnie razem z moją grupą optymalizujemy praktyczne zastosowania fotochromizmu w systemie plinabuliny w dwóch aspektach – batochromowego przesunięcia częstotliwości aktywacji toksyczności, idealnie w zakres światła czerwonego lub NIR które penetruje wszystkie miękkie tkanki organizmu ludzkiego, oraz zwiększenia różnicy toksyczności między fotoizomerami. O ile w pierwszym aspekcie nie osiągnęliśmy jeszcze znaczących postępów, o tyle w drugim – odkryliśmy że różnica toksyczności między izomerami 3,5-

dimetoksyplinabuliny (**Rysunek 9 prawa strona**) obejmuje trzy rzędy wielkości, co może dodatkowo ułatwić zastosowania terapeutyczne.



Rysunek 9. Fotochromizm plinabuliny **4** i jej pochodnych. Stabilny, silnie cytotoksyczny izomer Z,Z-4 po naświetleniu światłem fioletowym lub UV zostaje częściowo przekształcony w metastabilny izomer E,Z-4 o ponad stukrotnie niższej cytotoxyczności, który może być wyizolowany w formie czystej za pomocą HPLC. Aktywacja do izomeru Z,Z-4 następuje po naświetleniu światłem niebieskim lub turkusowym (470-490 nm), co może znaleźć zastosowania terapeutyczne. Dimetoksyplinabulina **4b** wykazuje jeszcze większą różnicę cytotoxyczności (>1000-krotną) pomiędzy fotoizomerami. [H6]

We współpracy z grupą Dr. Sepanda Rastegara (KIT Karlsruhe) zastosowaliśmy fotomodulację aktywności plinabuliny *in vivo* – w celu kontroli rozwoju całego organizmu. Do tego celu użyte zostały embriony Danio pręgowanego (*D. rerio*, zebrafish). Ich wczesny rozwój zarodkowy posiada stadium epibolii, które odbywa się z intensywnym wykorzystaniem mikrotubul nie tylko wewnątrz poszczególnych komórek podczas ich podziału, ale także wewnątrz całego embrionu. Mikrotubule „przeciągają” komórki w ich docelowe pozycje. System ten jest oczywiście wrażliwy na związki hamujące dynamikę mikrotubul. W tym celu zastosowaliśmy mniej aktywny izomer E,Z-4 („prolek”) w stężeniach subletalnych – w ciemności embriony rozwijały się w prawidłowy sposób, jednak po oświetleniu światłem turkusowym (490 nm) i zwiększeniu stężenia izomeru Z,Z-4 nastąpiła blokada dynamiki mikrotubul, a w konsekwencji – po pewnym czasie (ok. 2-3 godzin) – apoptoza źle pozycjonowanych komórek i obumarcie embrionu. Jednak, gdy w trakcie tego okresu (przed rozpoczęciem nieodwracalnych procesów apoptotycznych) oświetlono embriony światłem UV (365 nm), efekt ten był odwracalny (poprzez zmniejszenie stężenia bardziej toksycznego izomeru Z,Z-4 poniżej granicy letalności). W rezultacie można było otrzymać prawidłowo rozwinięte embriony (**Rysunek 10**). [H12]



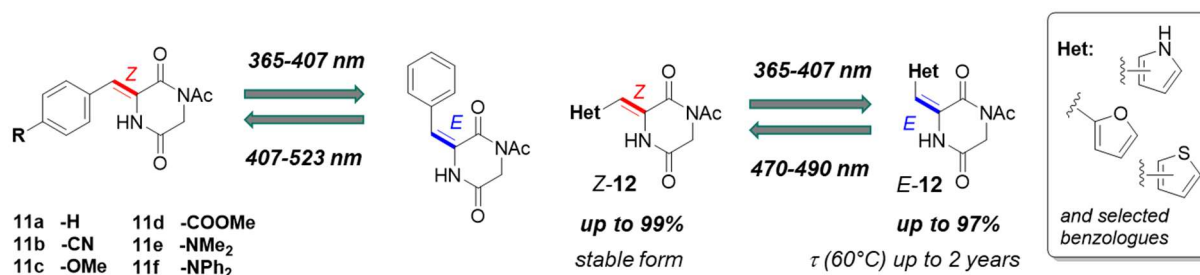
Rysunek 10. Fotokontrola dynamiki mikrotubul w embrionach *D. rerio* (danio pręgowany). E,Z-plinabulina aktywowana światłem turkusowym (490 nm) powoduje obumarcie lub poważne wady rozwojowe embrionów. Proces jest odwracalny przy użyciu światła UV (365 nm). [H12]

Przykład ten pokazuje, że odwracalna fotomodulacja związku **4** może znaleźć zastosowanie w złożonych systemach biologicznych, także w skali całego organizmu. Ukazuje też potencjał ewentualnych zastosowań terapeutycznych, a także badań podstawowych, np. w biologii rozwoju – ponieważ tubulina jest powszechnie obecna i reguluje wiele procesów wewnątrzkomórkowych i rozwojowych.

Hemipiperazyny – nowe fotochromowe przełączniki molekularne oparte na cyklicznych dipeptydach i ich zastosowania [H6,H9,H10,H14]

Implikacje mojego odkrycia, poza dostarczeniem fotoprzełączalnego inhibitora dynamiki mikrotubul z potencjalnymi zastosowaniami terapeutycznymi – w wielu aspektach bardziej optymalnego niż podobne systemy oparte na układzie azobenzenu [38] – są zdecydowanie szersze. Zachowanie plinabuliny jest pierwszym opisanym przykładem fotoizomeryzacji *E/Z* grupy aryldenowej przyłączonej do układu cyklicznego dipeptydu (2,5-diketopiperazyny). W związku z tym opisałem nową klasę fotochromowych przełączników molekularnych, którą nazwałem „hemipiperazyny”, w skrócie „HPI”. Jest to połączenie „hemistilbenu” oraz „diketopiperazyny”. Związki te posiadają analogię funkcjonalną i częściowo strukturalną (fotoizomeryzacja grupy aryldenowej związanej z układem heterocyklicznym) do znanych klas fotoprzełączników molekularnych, jak hemitiindygo [39] czy hemiindygo.[40]

Ażeby lepiej zrozumieć fotochromizm tej nowoodkrytej klasy związków, razem z grupą zsyntetyzowaliśmy – poprzez kondensację katalizowaną zasadami pochodnych benzaldehydu z 2,5-diketopiperazyną **10** lub jej bis-acetylową pochodną **10a** – szereg prostych karbocyklicznych hemipiperazyn (**11a-f**), pozbawionych imidazolowego fragmentu farmakoforu, oryginalnie obecnego w plinabulinie. Związki te (określane także jako mono-HPI) w swojej najbardziej uproszczonej formie wykazują niewielkie (10-34%) fotokonwersje ze stabilnego izomeru *Z* do metatrwałej formy *E*, w dodatku tylko pod wpływem światła UV (365 nm). Stabilność termiczna izomeru *E* jest zbliżona do *E,Z-4* (okres półtrwania liczony w miesiącach). Szybki powrót to formy *Z* poprzez działanie światła fioletowego (410 nm) jest praktycznie ilościowy (94-98%). Związki te nie reagują na światło o długości fali powyżej 410 nm. Wyjątkiem były mono-HPI podstawione grupami silnie elektronodonorowymi, jak NMe₂ lub NPh₂. Światło UV powodowało tu fotokonwersje rzędu 70% (*Z*→*E*), natomiast regeneracja izomeru *Z* (>97%) następowała po naświetleniu światłem niebieskim lub zielonym (470-530 nm) (**Rysunek 11, lewa strona**).[H6]



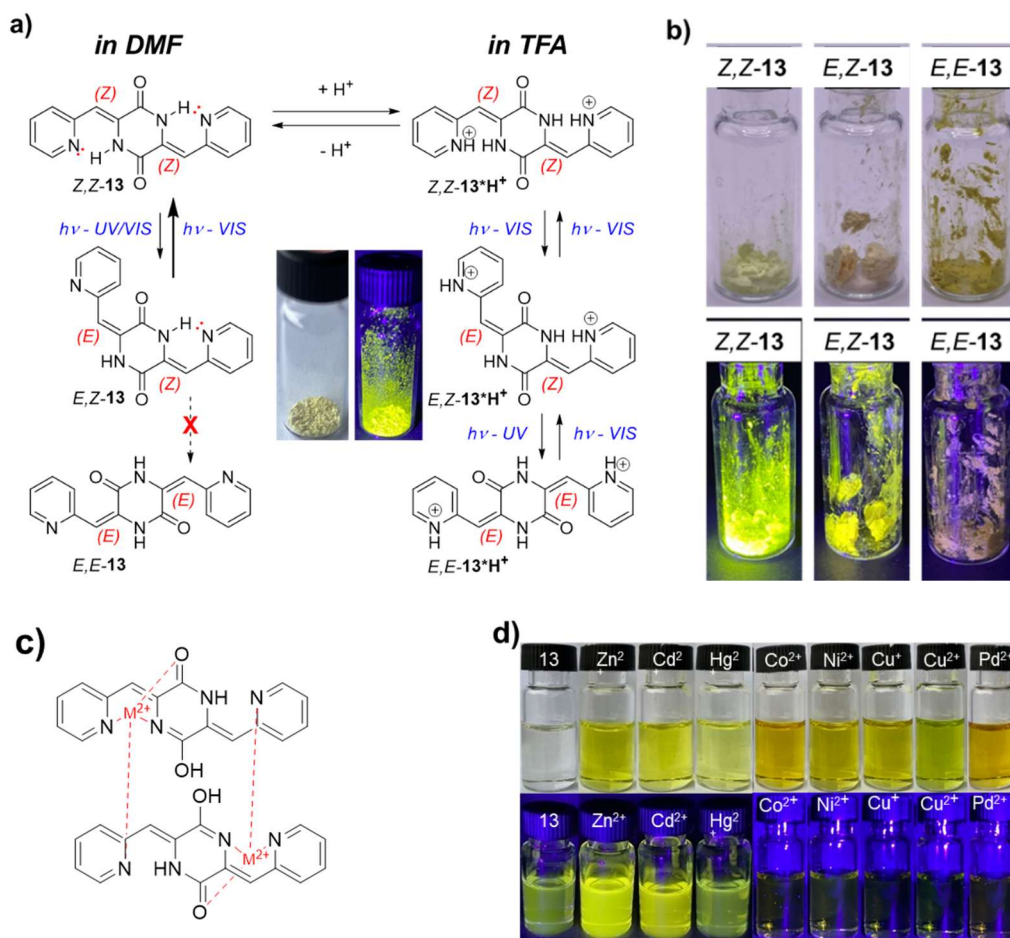
Rysunek 11. Fotochromizm prostych hemipiperazyn (HPI). Pochodne heteroaryldenowe [H9] (po prawej) wykazują generalnie wyższe fotokonwersje oraz przesunięcia batochromowe, niż pochodne karbocyklicznych grup aryldenowych (po lewej).[H6] Jednak wszystkie pochodne wykazują długi termalny okres półtrwania izomerów *E* oraz ulegają efektywnej fotoizomeryzacji w obecności wody.

Zainspirowany przez doniesienia literaturowe, które demonstrowały generalnie wyższe fotokonwersje, stabilność, oraz batochromowe przesunięcia pasma absorpcji dla heterocyklicznych pochodnych (w porównaniu do związków karbocyklicznych) w podobnych układach fotochromowych,[41] zsyntetyzowałem wraz z moją grupą badawczą szereg pochodnych HPI z pięcioczłonowym podstawnikiem heteroarylidenowym (pirol, furan, tiofen) lub jego benzologiem (jak układy indolu) (**Rysunek 11 prawa strona**). Związki te wykazywały znacząco lepsze fotokonwersje (często ponad 80% izomeru *E* po naświetleniu światłem UV - 365 nm) oraz efektywną regenerację izomeru *Z* światłem fioletowym. Niektóre pochodne były także wrażliwe na światło niebieskie lub turkusowe (460-490 nm). Związki te wykazywały również efektywną izomeryzację w rozpuszczalnikach organicznych, jak i w roztworach zawierających wodę, co jest ważne dla przyszłych zastosowań w układach biologicznych.[H9]

Kolejne interesujące własności układu hemipiperazyny ujawnione zostały podczas badania heteroarylidenowych podstawników sześcioczłonowych, pochodnych pirydyny.[H10] Synteza mono-HPI zawierającego jedną grupę pirydynową (**12**) nie powiodła się z powodu nadmiernej reaktywności produktu, który ulegał konwersji do dwupodstawionej (symetrycznie) pochodnej **13**, którą wyizolowano jako czysty (>99%), termodynamicznie stabilny izomer *Z,Z*-**13**. W rozpuszczalnikach obojętnych jak DMF, fotoizomeryzacja tego izomeru była mało skuteczna – światło w zakresie 365-490 nm generowało 29-37% izomeru *E,Z*-**13**, jednak fotoregeneracja początkowej formy *Z,Z*-**13** była nieskuteczna. Nie wykryto także w żadnych warunkach tworzenia się izomeru *E,E*-**13**. Postawiłem hipotezę, że mała efektywność fotokonwersji spowodowana była silnymi wiązaniami wodorowymi pomiędzy atomami wodoru centralnych grup amidowych a wolną parą elektronową atomów azotu w pierścieniach pirydyny. Rzeczywiście, po rozpuszczeniu *Z,Z*-**13** w heksafluoroizopropanolu (HFIP, rozpuszczalniku który zaburza tworzenie wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych) fotokonwersja znacząco wzrosła (>70%) – po naświetleniu światłem UV (365 nm) otrzymano mieszaninę 58% izomeru *E,Z*-**13** oraz 13% izomeru *E,E*-**13**. Mieszanina ta, oświetlona następnie światłem zielonym (530 nm) uległa ponownej izomeryzacji do czystego izomeru *Z,Z*-**13**. Jeszcze silniejszy efekt zaobserwowano po rozpuszczeniu *Z,Z*-**13** w kwasie trifluorooctowym (TFA), w którym atomy azotu w pierścieniach pirydyny uległy protonowaniu i utraciły zdolność tworzenia intramolekularnych wiązań wodorowych. Światło UV spowodowało izomeryzację 86% związku (porównywalne ilości izomerów: 46% *E,Z*-**13** oraz 39% *E,E*-**13**). Z powodu wysokiej trwałości termicznej (liczonej w miesiącach w temperaturze pokojowej), każdy z izomerów został wyizolowany za pomocą HPLC i osobno scharakteryzowany. Odwrócony też został porządek stabilności termodynamicznej – z powodu zawady sterycznej protonowanych pierścieni pirydyny termodynamicznie stabilnym izomerem stała się forma *E,E*-**13**.

Związek *Z,Z*-**13** jest także dobrym ligandem, który tworzy kompleksy z jonami metali w warunkach neutralnych. W szczególności zaobserwowaliśmy tworzenie fluorescencyjnych kompleksów z jonami Zn^{2+} oraz Cd^{2+} w rozpuszczalnikach organicznych. Pierwszy z nich ulega agregacji w ciągu kilku godzin, finalnie tworząc nanocząstki. Jest także fotochromowy – naświetlenie światłem niebieskim powoduje zanik koloru w roztworze (fotochromizm negatywny, w odróżnieniu od HPI nie zawierających jonów metali, które wykazują pozytywny fotochromizm). Kolor powraca w ciągu 15 minut w temperaturze pokojowej, co oznacza dużo niższą trwałość termiczną kompleksów *E,Z*-**13** lub *E,E*-**13** z jonami cynku, niż samych ligandów w tej samej konfiguracji. Co interesujące, kompleks *Z,Z*-**13** z jonami kadmu nie ulega agregacji, a jego fotoizomeryzacja za pomocą światła niebieskiego (455 nm) nie jest odwracalna termicznie. Regeneracja izomeru *Z,Z* wymaga naświetlenia światłem UV (365 nm).

Podsumowując, związek **13** jest przełącznikiem molekularnym reagującym na różnorodne bodźce – światło, kwasy, zmianę rozpuszczalnika, oraz jony metali. Jest to też pierwszy znany fotochromowy kompleks hemipiperazyny z jonami metali.[H10]

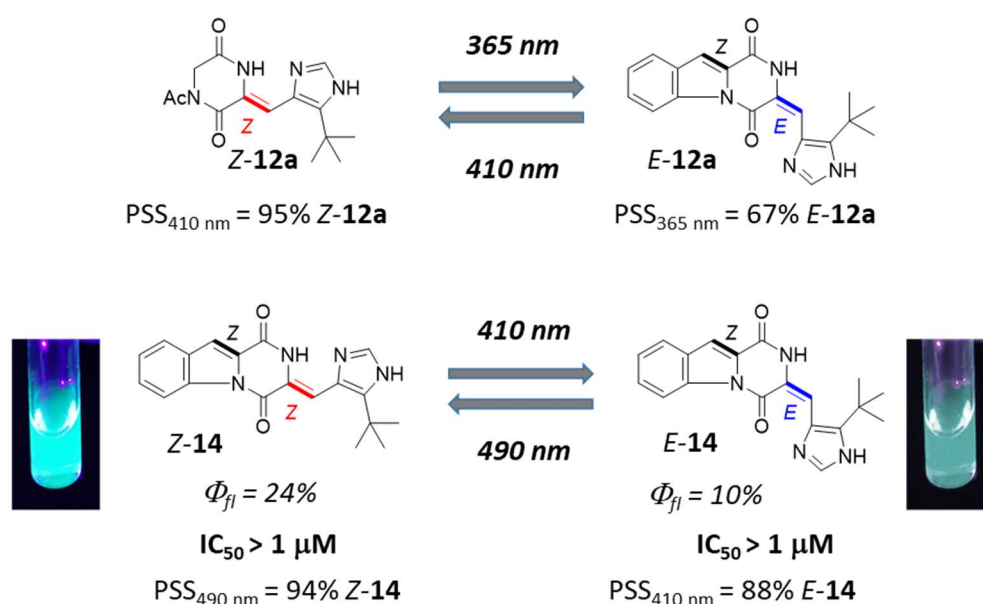


Rysunek 12. Heterocykliczne hemipiperazyny. **a)** symetryczna bis-HPI **13** zawierająca dwa podstawniki 2-pirydylowe jest niezbyt efektywnym fotoprzełącznikiem (do 37% fotokonwersji). Efektywność wzrasta w skutek protonowania (np. za pomocą TFA); **b)** stabilność termiczna sprawia, że można rozdzielić i wyizolować wszystkie trzy izomery za pomocą HPLC; **c)** neutralny związek **Z,Z-13** jest dobrym ligandem dla metali przejściowych; **d)** w większości kompleksów z metalami przejściowymi fluorescencja jest wygaszona, wyjątkiem jest silne wzmocnienie fluorescencji ligandu przez jony cynku, oraz nieco słabsze – przez jony kadmu. Dzięki temu **13** może być użyty jako sensor nanomolowych stężeń jonów tych metali.[H10]

Fotomodulacja fluorescencji w pochodnych plinabuliny [H6,H14]

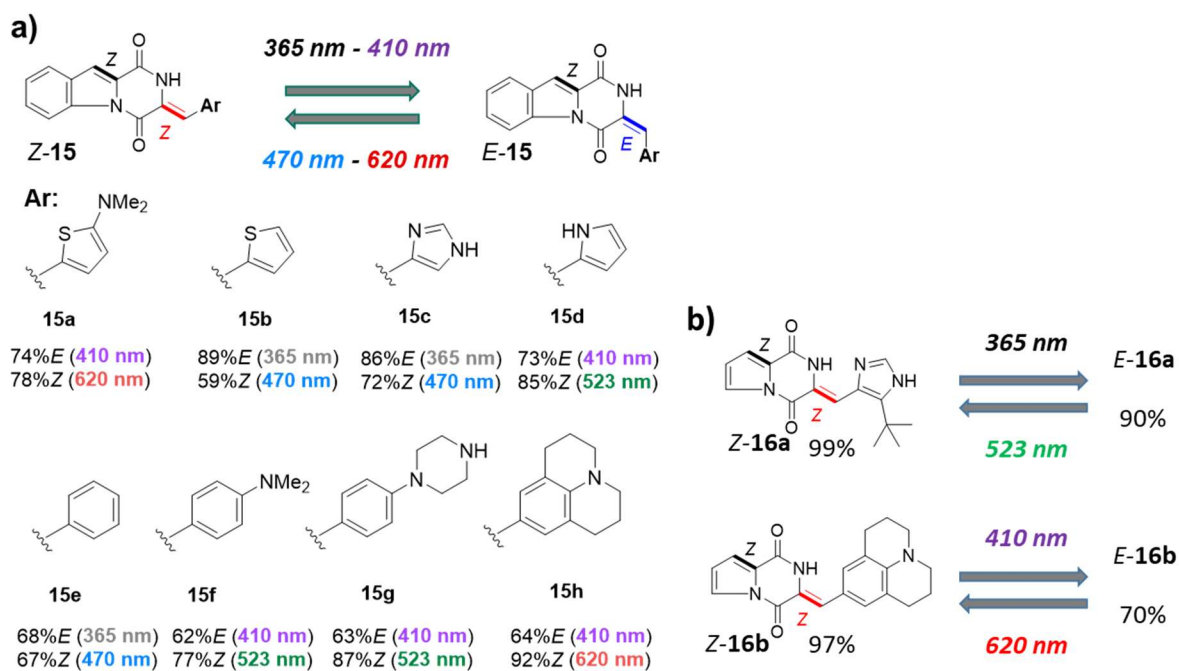
Jak już wspomniano (**Rysunek 9**), z dwóch grup aryldenowych wchodzących w skład struktury plinabuliny **4** tylko grupa benzyldenowa ulega fotoizomerizacji *Z/E*. Druga grupa – zawierająca podstawiony imidazol – pozostawała zawsze w konfiguracji *Z*. Początkowo przypisywałem stabilizację tej konfiguracji wiązaniu wodorowemu które tworzy centralny pierścień DKP z azotem grupy imidazolowej. Jednak najwyraźniej nie jest to jedyny powód – związek **12a**, będący plinabuliną pozbawioną grupy benzyldenowej, ulega efektywnej fotoizomerizacji grupy heteroaryldenowej pomimo posiadania identycznego układu wiązań wodorowych w otoczeniu pierścienia imidazolu. (**Rysunek 13 góra**). Także w przypadku, gdy grupa benzyldenowa plinabuliny została ustabilizowana w konfiguracji *Z* za pomocą

dodatkowego wiązania (de facto, poprzez utworzenie układu indolu sprzężonego z cyklicznym dipeptydem który usztywnił i spłaszczył jej strukturę) w związku **14**, podstawnik heteroarylidenowy także ulegał fotoizomeryzacji. Co ciekawe, w porównaniu z plinabuliną **4**, związek **14** praktycznie utracił cytotoksyczność (IC_{50} obu izomerów $>1\mu M$) – co jest zrozumiałe w kontekście istniejących modeli interakcji plinabuliny z docelowym białkiem, tubuliną, gdzie cząsteczka **4** jest skręcona w miejscu wiązania. Wzrosła też znacznie – zapewne z powodu ograniczenia rotacji – intensywność fluorescencji *Z*-**14** ($\Phi_{fl} = 24\%$), z jednoczesnym przesunięciem hipsokromowym w stosunku do *Z,Z*-**4** ($\Phi_{fl} = 6\%$). Wreszcie, poziom fluorescencji związku **14** ulega znaczącej i odwracalnej (co najmniej 10 cykli) fotomodulacji ($\Phi_{fl} E\text{-14} = 10\%$) (**Rysunek 13 dół**).[\[H6\]](#)



Rysunek 13. Heteroarylidenowa grupa plinabuliny **4** nie ulega fotoizomeryzacji. Jednakże, ten sam podstawnik izolowany w prostym układzie HPI (**12**) ulega efektywnej, odwracalnej fotoizomeryzacji. Można także ustabilizować grupę benzylidenową plinabuliny w konfiguracji *Z* za pomocą dodatkowego wiązania C-N. Powstała w ten sposób pochodna indolo-HPI **14** wykazuje bardzo efektywną izomeryzację grupy heteroarylidenowej oraz silną, odwracalną fotomodulację fluorescencji.[\[H6\]](#)

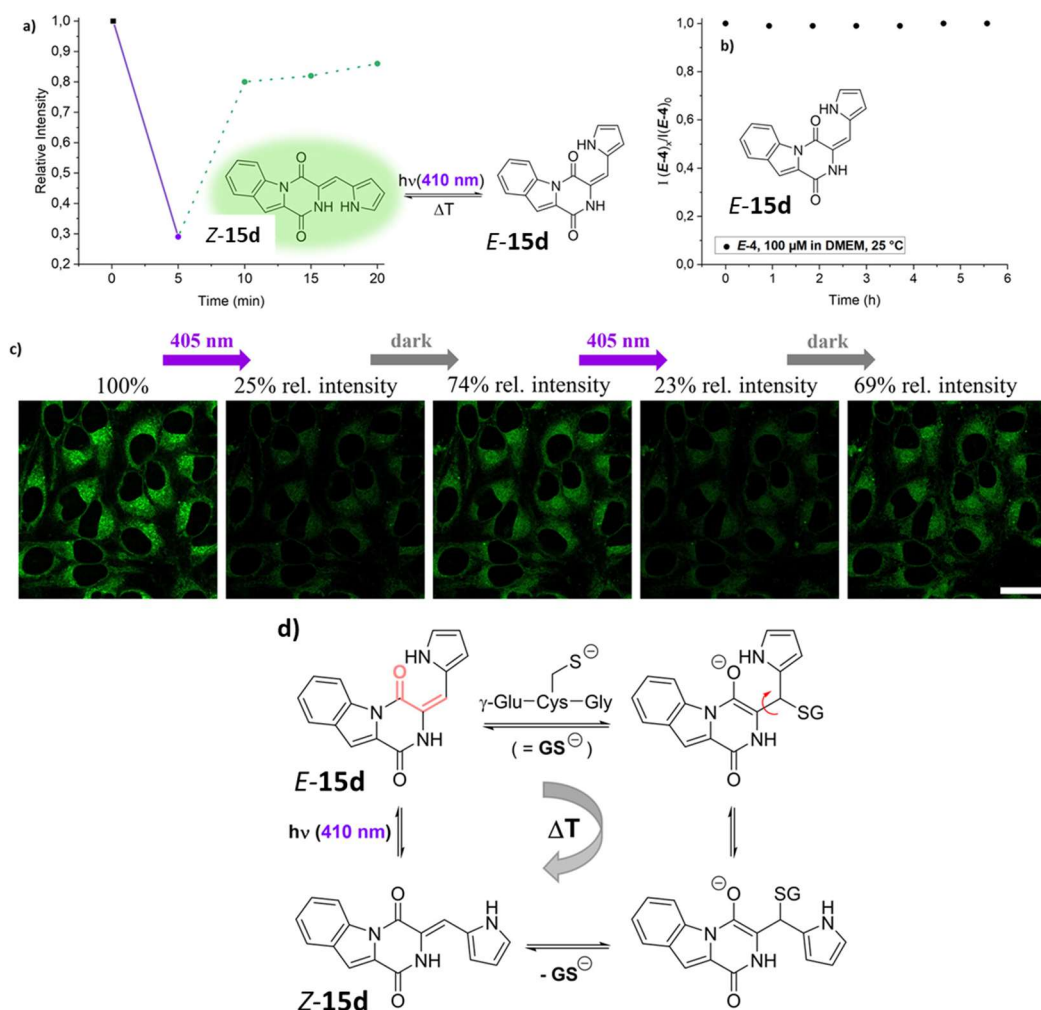
Fotomodulacja fluorescencji znajduje zastosowanie w systemach optycznej wysokorozdzielczej mikroskopii fluorescencyjnej, pozwalającej wizualizować obiekty mniejsze niż limit dyfrakcji (super-resolution microscopy), [\[42\]](#) której osiągnięcia uhonorowano nagrodą Nobla z chemii w 2014 (Hell, Moerner, Betzig). Dlatego postanowiłem przyrzeć się bliżej fluorescencyjnym pochodnym plinabuliny i ich potencjalnym zastosowaniom. W tym celu, wraz z moją grupą zsyntetyzowaliśmy szereg pochodnych plinabuliny posiadających pierścieni indoul (**15a-h**) oraz pirolu (**16a-b**), a następnie wyznaczyliśmy ich własności fotofizyczne (**Rysunek 14**). Związki te wykazują fluorescencję, czasem silną (Φ_{fl} do 16%), a jej intensywność różni się pomiędzy izomerami, jednak różnice te mocno się wahają. Najbardziej znacząca fotomodulacja emisji światła zaobserwowana została dla związków **15c** and **16a** zawierających pierścieni imidazolu w podstawnikach aryldenowych, przypuszczalnie z powodu odwracalnego tworzenia wiązań wodorowych podczas izomeryzacji.



Rysunek 14. Hemipiperazyny z rozszerzonym układem aromatycznym. **a)** pochodne indolu sprzężonego z układem 2,5-diketopiperazyny **15a-h**, oraz **b)** pochodne pirolu sprzężonego z układem 2,5-diketopiperazyny **16a-b** wykazują fotomodulację fluorescencji oraz metastabilność termiczną izomerów *E*, generowanych ze stabilnych izomerów *Z* za pomocą światła fioletowego lub UV (365-410 nm). Regeneracja izomerów *Z* następuje poprzez naświetlenie światłem niebieskim, zielonym, lub czerwonym (470-620 nm). [H14]

Następnie postanowiłem sprawdzić, czy związki **15a-16b** które odwracalnie izomeryzują w zakresie światła widzialnego ($Z \rightarrow E$: 410 nm, $E \rightarrow Z$: >470 nm) mogą zostać użyte jako fotoprzełączalne fluorofory wewnątrz żywych komórek. Ostatecznie wybrane zostały związki **15d** oraz **15h**, które wykazały wystarczającą przenikalność do wnętrza komórek oraz odwracalne zmiany fluorescencji w tym środowisku.

W szczególności, po naświetleniu związku **15d** wewnątrz żywych komórek ludzkich (HeLa) światłem fioletowym (laser 405 nm), zaobserwowany został silny spadek poziomu fluorescencji. Zaobserwowano także szybką regenerację izomeru *Z* (posiadającego większą intensywność fluorescencji) w ciemności (**Rysunek 15a,c**), co stało w sprzeczności z zachowaniem tego samego związku w środowisku wodnym poza komórką (metastabilny, regeneracja izomeru *Z* wymagająca światła zielonego) (**Rysunek 15b**). Po dokładnym przeanalizowaniu naszego układu badawczego odkryliśmy, że za szybką regenerację termiczną izomeru *Z* w komórkach odpowiada wysokie stężenie (5-10 mM) glutationu w cytozolu – ten sam efekt (**Rysunek 15d**) udało nam się powtórzyć w roztworach wodnych po dodaniu glutationu. Podsumowując, zademonstrowaliśmy fotoprzełączalną fluorescencję wewnątrz żywych komórek, której modulacja aktywowana jest pojedynczą długością fali światła widzialnego i odwracalna termicznie. Ponieważ związek **15d** nie wykazywał toksyczności (MTT assay) w stężeniach poniżej 2 μM , może być on używany jako fluorescencyjny barwnik w wysokorozdzielczej mikroskopii fluorescencyjnej. [H14]



Rysunek 15. Fluorescencja **15d** wewnątrz komórek HeLa. a) intensywność emisji światła po naświetleniu związku **15d** wewnątrz komórek za pomocą lasera 405 nm – emisja w interwałach pięciominutowych po zakończeniu naświetlania. (b) kinetyka izomeryzacji termicznej **15d** w roztworze wodnym (100 μ M **15d**, roztwór w medium komórkowym DMEM, 25 °C) w czasie 5,5 h (via HPLC). (c) fotografie komórek HeLa zawierających **15d** przed i po naświetleniu światłem fioletowym, z wyraźnie widoczną termiczną relaksacją fluorescencji. (d) Przypuszczalny mechanizm termicznej regeneracji izomeru Z-**15d** wewnątrz komórek lub w obecności glutationu *in vitro*.

Prace przeglądowe [H16,H17,H18]

Ostatnie trzy artykuły stanowiące część cyklu habilitacyjnego to prace przeglądowe [H16-H18] ukazujące perspektywy i zastosowania fotochromowych przełączników molekularnych.

W pracy zatytułowanej „Recent implementations of molecular photoswitches into smart materials and biological systems”[H16] z 2019 roku omówiłem podstawowe grupy fotochromowych przełączników molekularnych (azobenzen, stilben, diaryloeten, spiropiran, indygojdy i ich pochodne), podałem ich krótką charakterystykę i parametry fotoizomeryzacji, a następnie zademonstrowałem systemy w których dany przełącznik molekularny znalazł praktyczne zastosowanie (materiały: (hydro)żele, materiały porowate (MOF, COF), polimery, nanocząstki; jak również przykłady użycia w systemach biologicznych – takie jak fotofarmakologia).

W artykule „Smart photochromic materials triggered with visible light”[H17] z 2022 roku skupiłem się na fotochromowych przełącznikach molekularnych reagujących na długości fali z

zakresu światła widzialnego. Omówiłem ich zalety w porównaniu ze standardowymi przełącznikami reagującymi zwykle na wysokoenergetyczne światło z zakresu ultrafioletu. Podałem także przykłady zastosowań w materiałach (polimery, żele, nanocząstki, MOF), w złożonych systemach biologicznych, oraz do magazynowania energii słonecznej (MOST – molecular solar thermal energy storage systems), gdzie zaabsorbowane światło przechowywane jest wewnątrz materiału w postaci energii izomeryzacji i oddawane do otoczenia w postaci ciepła w kontrolowany sposób (najczęściej poprzez zastosowanie katalizatora, lub wstępne ogrzanie próbki).

W artykule „Photopharmacology of antimetabolic agents” [H18] z 2022 roku zademonstrowany został rozwój systemów fotochromowych zdolnych do kontroli dynamiki mikrotubul w komórkach za pomocą światła. Zademonstrowałem w nim mechanizm dynamiki mikrotubul, oraz grupy związków (wliczając powszechnie stosowane leki antynowotworowe jak taksol czy alkaloidy vinca) które hamują wzrost nowotworów poprzez zaburzenie tej dynamiki (inhibicja polimeryzacji lub depolimeryzacji tubuliny), niezbędnej w procesie podziału komórek. Następnie zademonstrowałem stan badań nad inhibitorami dynamiki mikrotubul, ze szczególnym uwzględnieniem pochodnych kombretastatyny A-4 (CA-4) – alkaloidu wyizolowanego z afrykańskiego krzewu *C.caffrum*, zawierającego oryginalnie fragment stilbenu. Fotoizomeryzacja CA-4 prowadzi do modulacji aktywności (cytotoksyczności), a modyfikacja tego fragmentu (wprowadzenie azobenzenu lub heteroarylostilbenów) prowadzi do poprawy parametrów istotnych w potencjalnych zastosowaniach fotofarmakologicznych.

Podsumowanie

W prezentowanym cyklu habilitacyjnym wykorzystałem i rozwinąłem zastosowania systemów fotochromowych modulowanych światłem widzialnym w „inteligentnych” materiałach biokompatybilnych, które mogą znaleźć zastosowanie w kontrolowanym dostarczaniu leków, fotofarmakologii, oraz mediach stosowanych do hodowli komórkowych, a także w dynamicznych systemach supramolekularnych oraz receptorach.

Prace koncentrowały się w dwóch nurtach tematycznych obejmujących syntezę, charakteryzację fotofizyczną i zastosowania fotochromowych biokompatybilnych hydrożeli supramolekularnych oraz innych systemów dynamicznych i supramolekularnych opartych na pochodnych azobenzenu, oraz odkrycie, charakteryzację fotofizyczną i badanie zastosowań (w szczególności w systemach biologicznych) nowego układu fotochromowego – hemipiperazyny – strukturalnie wywodzącego się z cyklicznych dipeptydów.

Za kluczowe osiągnięcia cyklu prac [H1]-[H18] uważam:

- Demonstrację, że fotochromowe cykliczne dipeptydy z polarnym łańcuchem bocznym, podstawione azobenzem i jego pochodnymi, efektywnie tworzą hydrożele w środowisku wodnym (woda dejonizowana, ale także bufony wodne o pH fizjologicznym), które mogą ulegać odwracalnej kontrakcji objętości lub dyssypacji do cieczy o niskiej lepkości pod wpływem naświetlania światłem monochromatycznym.
- Wykazanie, że hydrożele te mogą w kontrolowany sposób (pod wpływem światła) uwalniać szeroką gamę związków bioaktywnych (antybiotyki, środki przeciwbólowe i przeciwnowotworowe), a także białka lub oligonukleotydy, uprzednio uwięzione wewnątrz ich struktury supramolekularnej. W szczególności, zademonstrowane

uwalnianie za pomocą światła czerwonego (660 nm) może mieć zastosowanie terapeutyczne, gdyż ta długość fali dobrze penetruje miękkie tkanki organizmu ludzkiego.

- Odkrycie, że rozszerzenie sprzężonego układu p-elektronowego w powszechnie stosowanych pochodnych tetra-*orto*-fluoroazobenzenu (oryginalnie wzbudzanych światłem zielonym) prowadzi do stabilnych pochodnych których fotoizomeryzacja zachodzi po oświetleniu światłem czerwonym (>630 nm), a zatem (*vide supra*) umożliwia ich potencjalne zastosowanie *in vivo*.
- Demonstrację, że kompozytowe fotochromowe hydrożele supramolekularne, oparte na stabilizacji elektrostatycznej wynikającej z oddziaływań polianionowego alginianu oraz dodatnio naładowanych fotochromowych cyklicznych dipeptydów z resztą lizyny lub argininy, także ulegają odwracalnej dysypacji do cieczy o niskiej lepkości, a przy tym umożliwiają znaczne zmniejszenie ilości użytego komponentu fotochromowego oraz enkapsulację związków wrażliwych na podwyższoną temperaturę (efektywna procedura enkapsulacji za pomocą światła).
- Opracowanie wydajnej metody syntezy fotoprzełączalnych klatek molekularnych opartych na halogenowanych pochodnych azobenzenu; oraz opracowanie receptorów pochodnych zasadowych aminokwasów, które działają w środowisku wodnym.
- Odkrycie i opisanie nowej klasy fotochromowych przełączników molekularnych – hemipiperazyn (HPI) – jako pochodnych cyklicznych dipeptydów podstawionych karbo- lub heterocykliczną grupą arylidenową, lub dwiema takimi grupami. Ponieważ cykliczne dipeptydy są wtórnymi metabolitami i popularnymi farmakoforami, odkrycie to otwiera nowe perspektywy przed fotofarmakologią.
- Zastosowanie plinabuliny – zawierającej chromofor HPI w swojej strukturze – do kontroli dynamiki mikrotubul za pomocą światła wewnątrz embrionów *D. rerio* (Danio pręgowany), co pozwoliło na odwracalną fotomodulację rozwoju kompletnego organizmu.
- Opracowanie czułych fluorescencyjnych sensorów jonów Zn^{2+} oraz Cd^{2+} opartych na heterocyklicznych pochodnych HPI, oraz ich użycie do demonstracji fotochromizmu w metalicznych kompleksach HPI.
- Opracowanie fluoroforów o fotomodulowanej intensywności zawierających fragment HPI (poprzez modyfikację struktury plinabuliny), które ulegają odwracalnej fotoizomeryzacji, także wewnątrz żywych komórek – i mogłyby znaleźć zastosowanie w wysokorozdzielczej mikroskopii fluorescencyjnej.

Plany badawcze na przyszłość

Odkrycia dokonane przeze mnie i mój zespół badawczy, przedstawione powyżej, stanowią solidny fundament do dalszego rozwoju badań nad fotochromowymi przełącznikami molekularnymi, oraz ich zastosowaniami w kontroli zachowania materiałów i systemów biologicznych. Mam zamiar dalej eksplorować fotochromowe systemy molekularne i supramolekularne oparte na pochodnych azobenzenu i hemipiperazynach.

Temat fotochromowych hydrożeli zostanie rozszerzony o aspekt formulacji do postaci tzw. mikrożeli oraz nanożeli, które mogą być wprowadzane do wnętrza żywych organizmów poprzez wstrzykiwanie lub inhalację. Tam, pod wpływem światła, materiały te będą uwalniać ładunek (taki jak leki przeciwnowotworowe, antybiotyki, oligonukleotydy czy przeciwciała terapeutyczne). Mam także zamiar zbadać zakres stosowalności tych materiałów jako podłoża

lub medium 3D do hodowli komórek ssaczych, w tym ludzkich, jak również sferoidów i organoidów.

Będę także eksplorował własności i potencjalne zastosowania klatek molekularnych opartych na pochodnych azobenzenu. Jedną z nich jest zbadanie możliwości użycia klatek w fotofarmakologii. Inną zaś – możliwość syntezy permanentnie naładowanych czwartorzędowych pochodnych (poprzez alkilowanie trzeciorzędowych amin na łączeniach klatek) w celu otrzymania klatek rozpuszczalnych w wodzie niezależnie od pH.

W ramach współpracy z Dr. Sebastianem Ulrichem (Uniwersytet w Montpellier) mam zamiar zbadać zastosowanie krótkich fotochromowych oligopeptydów zawierających reszty argininy jako fotomodulowalnych dynamicznych polimerów kowalencyjnych (dynamic covalent polymers) mogących dokonywać transfekcji dodanych do systemu oligonuleotydów terapeutycznych (siRNA) w sposób zależny od światła.

W temacie badania i odkrywania nowych własności hemipiperazyn, w 2025 roku otrzymałem trzyletni grant DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) (PI 1124/15-1) na zbadanie zastosowania układu HPI w maszynach molekularnych. W ramach tego grantu chciałbym zbadać możliwość tworzenia kompleksów inkluzyjnych HPI z cyklodekstrynami lub kukurbiturydami oraz ich fotomodulacji, a także możliwość konstrukcji motorów molekularnych z użyciem jednostek HPI. W roku bieżącym zamierzam także złożyć wniosek o udział w programie DFG Heisenberg, zapewniającym długofalowe finansowanie rozwiniętych grup badawczych z ugruntowaną tematyką badań.

We współpracy z Prof. Hatice Mutlu (Uniwersytet RPTU w Kaiserslautern) realizujemy także projekt (finansowany z grantu EPICUR Seeds przyznanego przez Unię Europejską) syntezy i badania własności polimerów wyposażonych w grupę HPI jako tworzyw sztucznych reagujących na światło, które mogą być zsyntezowane bez użycia materiałów pochodzących z ropy naftowej (używając związków pochodzących z oleju rycynowego, ligniny, oraz aminokwasów).

Wreszcie we współpracy z grupami badawczymi Międzynarodowego Instytutu Mechanizmów i Maszyn Molekularnych IMol PAN – Dr Justyną Zmorzyńską oraz Dr Karoliną Szczepanowską – zamierzamy zastosować fotochromowe związki bioaktywne odpowiednio do fotomodulacji aktywności białka TrkB (kluczowego w kontekście badań nad schorzeniami neuropsychiatrycznymi), oraz do transportu ładunków molekularnych do mitochondriów modulowanego światłem (w kontekście badań nad procesami starzenia).

Literatura cytowana

- [H1] Pianowski Z.*, Karcher J., Schneider K. *Chem. Commun.*, **2016**, 52, 3143-3146.
- [H2] Karcher J., Pianowski Z.* *Chem. Eur. J.*, **2018**, 24, pp. 11605-11610
- [H3] Karcher J., Kirchner S., Leistner A.-L., Hald C., Geng P., Bantle T., Gödtel P., Pfeifer J., Pianowski Z.* *RSC Adv.*, **2021**, 11, 8546-8551
- [H4] Leistner A.-L., Kirchner S., Karcher J., Bantle T., Schulte M. R., Gödtel P., Fengler C., Pianowski Z.* *Chem. Eur. J.*, **2021**, 27(31), 8094-8099.
- [H5] Leistner A.-L., Kistner D. G., Fengler C., Pianowski Z.* *RSC Adv.*, **2022**, 12, 4771-4776
- [H6] Kirchner S., Leistner A.-L., Gödtel P., Seliwgorstow A., Weber S., Karcher J., Nieger M., Pianowski Z.* *Nat. Commun.* **2022**, 13, 6066
- [H7] Leistner A.-L., Most M. M., and Pianowski Z.* *Chem. Eur. J.* **2023**, e202302295
- [H8] Hoffmann F., Leistner A.-L., Kirchner S., Luy B., Muhle-Goll C.*, and Pianowski Z.* *Eur. J. Org. Chem* **2023**, e202300227
- [H9] Gödtel P., Starrett J., Pianowski Z.* *Chem. Eur. J.* **2023**, chem.202204009

- [H10] Schäfer V., Pianowski Z.* *Chem. Eur. J.* **2024**, e202402005
- [H11] Seliwjorstow A., Bach M., Kirchner S., Palloks S., Pianowski Z.L.* *Macromol. Mater. Eng.* **2024**, 2400007
- [H12] Seliwjorstow A., Takamiya M., Rastegar S.*, Pianowski Z.* *ChemBioChem* **2024**, e202400143.
- [H13] Most M.M., Boll L.B., Gödtel P., Pianowski Z.L.*, Lewandowski B.* *Commun. Chem.* **2025**, 8, 50
- [H14] Gödtel P., Rösch A., Kirchner S., Elbuga-Ilica R., Seliwjorstow A., Fuhr O., Schepers U.*, and Pianowski Z.* *J. Am. Chem. Soc.* **2025** 147(30), 26652-26662
- [H15] Schäfer V., Seliwjorstow A., Fuhr O., Pianowski Z.* *Nat. Commun.* **2026**, 17, 2488
- [H16] Pianowski Z.* *Chem. Eur. J.*, **2019**, 25, 5128-5144
- [H17] Leistner A.-L., Pianowski Z.* *Eur. J. Org. Chem.*, **2022**, 19, e202101271
- [H18] Kirchner S., Pianowski Z.* *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23(10), 5657;
- [1] I. Aprahamian, *ACS Cent Sci* **2020**, 6, 347-358.
- [2] A. Coskun, M. Banaszak, R. D. Astumian, J. F. Stoddart and B. A. Grzybowski, *Chem Soc Rev* **2012**, 41, 19-30.
- [3] B. L. Feringa, *Angew Chem Int Ed Engl* **2017**, 56, 11060-11078.
- [4] T. Kudernac, N. Ruangsapapichat, M. Parschau, B. Maciá, N. Katsonis, S. R. Harutyunyan, K.-H. Ernst and B. L. Feringa, *Nature* **2011**, 479, 208-211.
- [5] [H16] Z. L. Pianowski, *Chem Eur J* **2019**, 25, 5128-5144
- [6] Z. Pianowski (Ed.) *Molecular Photoswitches. Chemistry, Properties, and Applications.* **2022**, Wiley-VCH, Weinheim
- [7] S. Kassem, T. van Leeuwen, A. S. Lubbe, M. R. Wilson, B. L. Feringa and D. A. Leigh, *Chem Soc Rev* **2017**, 46, 2592-2621.
- [8] Wang, Z. et al. *Nat. Commun.* **2016**, 7, 13872; Eisenreich, F. et al. *Nat. Catalysis* **2018** 1, 516-522; Kumar, K. et al. *Nat. Commun.* **2016**, 7, 11975.
- [9] Szymański, W., Beierle, J.M., Kistemaker, H.A.V., Velema, W.A. & Feringa, B.L. *Chem. Rev.* **2013**, 113, 6114-6178;
- [10] Hüll, K., Morstein, J. & Trauner, D. *Chem. Rev.* **2018**, 118, 10710-10747; Beharry, A.A. & Woolley, G.A. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 4422-4437.
- [11] Wegner M. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 17979–17986.
- [12] Lameijer, L.N., et al. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2020**, 59, 21663.
- [13] Bleger, D., Hecht, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2015**, 54, 11338-11349.
- [14] Harris, J.D., Moran, M.J. & Aprahamian, I. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, 115, 9414-9422.
- [15] Velema, W. A. et al. *Nat. Chem.* **2013**, 5, 924-928,
- [16] Matera, C. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 15764-15773.
- [17] Szymanski, W., Ourailidou, M. E., Velema, W. A., Dekker, F. J. & Feringa, B. L. *Chem. Eur. J.* **2015**, 21, 16517-16524.
- [18] Müller-Deku, A. et al. *Nat. Commun.* **2020**, 11, 4640.
- [19] Borowiak, M. et al. *Cell* **2015**, 162, 403-411; Sailer, A. et al. *Beilstein J. Org. Chem.* **2020**, 16, 125-134; Gao, L. et al. *Cell Chem. Biol.* **2021**, 28, 228-241.
- [20] Zenker, J. et al. *Science* **2017**, 357, 925-928; Singh, A. et al. *Nat. Cell Biol.* **2018**, 20, 1126-1133,
- [21] Toth, B. *J Cancer Res Clin Oncol* **1980**, 97, 97-108.
- [22] Caliari S.R., Burdick J.A. *Nat. Methods.* **2016**, 13(5), 405–414.
- [23] S. Gerecht, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 11298–11303.
- [24] V. H. Pérez-Luna, O. González-Reynoso *Gels* **2018**, 4, 61; doi:10.3390/gels4030061;
- [25] A. S. Mao et al. *Nat. Mater.* **2017**, 16, 236-245
- [26] M. Schaffner et al. *Sci. Adv.* **2017**, 3(12), eaao6804, DOI: 10.1126/sciadv.aao6804
- [27] K. H. Song et al. *Adv. Funct. Mater.* **2018**, 28, 1801331, DOI: 10.1002/adfm.201801331;
- [28] J. Sun, H. Tan *Materials* (Basel). **2013** 6(4), 1285–1309;
- [29] Wang R., Sun F. *Photochemistry* **2020**, 47, 379-403.
- [30] Wang. D, Wagner M., Butt H-J, Wu S. *Matter*, **2015**,11, 7656-7662.

- [31] Li L., Scheiger J.M., Levkin P.A. *Adv. Mater.* **2019**, *31*, 1807333 DOI: 10.1002/adma.201807333
- [32] Pramanik B., Ahmed S. *Gels* **2022** *8(9)*, 533. doi: 10.3390/gels8090533; Fichman G., Gazit E. *Acta Biomater.* **2014**, *10(4)*, 1671-1682.
- [33] A. J. Kleinsmann, B. J. Nachtsheim, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 7818-7820
- [34] D. Bleger, J. Schwarz, A. M. Brouwer, S. Hecht, *J Am Chem Soc* **2012**, *134*, 20597-20600
- [35] Y. Yamazaki *et al.*, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1056-1071
- [36] M. Dong, A. Babalhavaeji, S. Samanta, A. A. Beharry, G. A. Woolley, *Acc Chem Res* **2015**, *48*, 2662-2670
- [37] D.B. Konrad, J.A. Frank, D. Trauner *Chem.Eur.J.* **2016**, *22(13)*, 4364-4368.
- [38] S. Kirchner, Z. Pianowski, *Int. J. Mol. Sci.*, **2022**, *23(10)*, 5657, DOI: 10.3390/ijms23105657
- [39] S. Wiedbrauk, H. Dube, *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 4266-4274
- [40] C. Petermayer, S. Thumser, F. Kink, P. Mayer, H. Dube, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 15060-67.
- [41] J. E. Zweig, T. R. Newhouse, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 10956-10959; V. Josef, F. Hampel, H. Dube, *Angew.Chem. Int. Ed.* **2022**, *61*, e202210855.
- [42] U. Boehm, S.W. Hell, R. Schmidt *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 10504
- [43] Dominique, P., Schnurr, M., Lewandowski, B. *Chem. Commun.* **2021**, *57*, 3476–3479.
- [44] Chak, M. H., Schnurr, M., Lewandowski, B. *Eur. J. Org. Chem.* **2023**, e202300305.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Jak wyszczególniono w Pkt. 3, moja aktywność naukowa po uzyskaniu dyplomu magistra w Polsce realizowana była w trzech różnych krajach – Francji, Szwajcarii, oraz Niemczech, gdzie jestem obecnie zatrudniony.

Instytucja	Cel pobytu	Okres pobytu
Institut de Science et d'Ingénierie Supramoléculaires (Instytut Nauk i Inżynierii Supramolekularnej) ISIS, Université Louis Pasteur, Strasbourg, Francja	Studia doktoranckie	1.11.2004- 31.08.2008
Department of Chemistry and Applied Biosciences, Laboratory of Organic Chemistry Eidgenössische Technische Hochschule ETH Zürich, Szwajcaria	Staż podoktorski	1.11.2008-31.03.2014
Institut für Organische Chemie (IOC)/ Institute of Biological and Chemical Systems- Functional Molecular Systems (IBCS-FMS), Karlsruher Institut für Technologie KIT, Karlsruhe, Niemcy	Kierownik niezależnej grupy badawczej	Od 01.04.2014 do chwili obecnej
Organisch-Chemisches Institut, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Niemcy	Działalność dydaktyczna (zastępca profesora)	01.04.2017-28.02.2019

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

• Osiągnięcia dydaktyczne

W latach 2017-2019 byłem zatrudniony przez cztery pełne semestry jako „Vertretungsprofessor” (co można przetłumaczyć jako profesor nadzwyczajny lub zastępca profesora) w pełnym wymiarze godzin dydaktycznych według systemu niemieckiego (pensum profesorskie określone jest jako 9 SWS „Semesterwochenstunden” czyli 9 godzin akademickich w tygodniu – odpowiada to 135 godzinom w semestrze lub 270 godzinom w roku). W tym czasie prowadziłem samodzielnie (dwukrotnie, w semestrach zimowych) pełny kurs chemii dla studentów medycyny (wykład + ćwiczenia + laboratoria + egzamin, 8 SWS) w języku niemieckim (każdego roku kurs podzielony był na dwie grupy – 220 osób i 400 osób). W semestrach letnich prowadziłem (w języku niemieckim) ćwiczenia z podstaw chemii organicznej, oraz część wykładów z tego przedmiotu (zastępując Prof. Uwe Bunza podczas jego nieobecności), a także byłem egzaminatorem z przedmiotu chemia organiczna podczas egzaminów komisyjnych wymaganych do zaliczenia studiów licencjackich i magisterskich (przeciętnie pół dnia w tygodniu podczas całego semestru).

Od 2017 roku do chwili obecnej prowadzę także dwa kursy magisterskie w języku angielskim dla studentów KIT Karlsruhe oraz Uniwersytetu w Heidelbergu – „The molecular origins of life” z dziedziny chemii prebiotycznej (semestry letnie), oraz „Synthetic life” – z biologii syntetycznej (semestry zimowe).

Od 2022 roku, po uzyskaniu *venia legendi* w Niemczech, prowadzę także jako wykładowca część seminariów z zaawansowanej chemii organicznej na KIT Karlsruhe. Jestem uprawniony do egzaminowania na wszystkich szczeblach (egzamin licencjackie, magisterskie i doktorskie), oraz posiadam uprawnienia promowania prac doktorskich (do chwili obecnej wypromowałem samodzielnie sześć prac doktorskich, obecnie jestem promotorem dalszych czterech doktorantów). Jestem także promotorem 21 ukończonych prac magisterskich oraz 23 prac licencjackich.

Data i miejsce	Informacja	Wymiar lub ilość godzin akademickich (45 min)
04.-07.2017, Uniwersytet w Heidelbergu	Wykład “Podstawy chemii organicznej” (“Organische Chemie I”) – 1/3 wykładów kursowych – wspólnie z Prof. Uwe Bunzem	15 godzin (odpowiada pensum 30 godzin/rok)
04.-07.2018, Uniwersytet w Heidelbergu	Wykład “Podstawy chemii organicznej” (“Organische Chemie I”) – 1/3 wykładów kursowych – wspólnie z Prof. Uwe Bunzem	10 godzin (odpowiada pensum 20 godzin/rok)
04.-07.2017, Uniwersytet w Heidelbergu	Ćwiczenia z podstaw chemii organicznej („Organische Chemie I“)	30 godzin, (2 godziny na tydzień, odpowiada 60 godzinom/rok)

04.-07.2018, Uniwersytet w Heidelbergu	Ćwiczenia z podstaw chemii organicznej („Organische Chemie I“)	30 godzin, (2 godziny na tydzień, odpowiada 60 godzinom/rok)
04.-07.2017, Uniwersytet w Heidelbergu	Egzaminator z chemii organicznej (komisyjne egzaminy licencjackie i magisterskie)	34 godziny zegarowe (45 godzin akademickich = 90 godzin/rok)
04.-07.2018, Uniwersytet w Heidelbergu	Egzaminator z chemii organicznej (komisyjne egzaminy licencjackie i magisterskie)	23 godziny zegarowe (30 godzin akademickich = 60 godzin/rok)
10.2017- 02.2018 Uniwersytet w Heidelbergu	Pełny kurs „Chemia dla studentów medycyny” („Chemie für Mediziner”, j. niem.) dla dwóch grup – 220 studentów + 400 studentów: - wykład (2 godz.tygodniowo) - ćwiczenia (2 godz. tygodniowo) - laboratoria (4 godz. tygodniowo) - egzamin (+ dwie sesje poprawkowe)	120 godzin (odpowiada pensum 240 godzin/rok)
10.2018- 02.2019 Uniwersytet w Heidelbergu	Pełny kurs „Chemia dla studentów medycyny” („Chemie für Mediziner”, j. niem.) dla dwóch grup – 220 studentów + 400 studentów: - wykład (2 godz.tygodniowo) - ćwiczenia (2 godz. tygodniowo) - laboratoria (4 godz. tygodniowo) - egzamin (+ dwie sesje poprawkowe)	120 godzin (odpowiada pensum 240 godzin/rok)
Semester letni, (2017-obecnie) Uniwersytet w Heidelbergu, KIT Karlsruhe	Wykład magisterski „Molecular origins of life” (j. ang.) – chemia prebiotyczna, pochodzenie życia na Ziemi	15 godzin (odpowiada pensum 30 godzin/rok)
Semester zimowy, (2017-obecnie) Uniwersytet w Heidelbergu, KIT Karlsruhe	Wykład magisterski „Synthetic life” (j. ang.) – biologia syntetyczna (ekspansja alfabetu genetycznego, biosynteza białek z nieproteinogennymi aminokwasami, inżynieria białek)	15 godzin (odpowiada pensum 30 godzin/rok)
Od 07.2019	Promotor prac doktorskich (ukończone: Johannes Karcher, Tobias Bantle, Susanne Kirchner, Anna-Lena Leistner, Peter Gödtel, Angelika Seliwgorstow)	6 samodzielnie wypromowanych doktorów, obecnie opiekun 4 otwartych przewodów doktorskich
Od 03.2014	Promotor prac licencjackich i magisterskich	Promotor 21 ukończonych prac magisterskich i 23 ukończonych licencjatów

• **Osiągnięcia organizacyjne**

Okres	Funkcja	Obowiązki służbowe
Od 03.2014	Kierownik grupy badawczej “Chemical biology, supramolecular systems and prebiotic chemistry” w Instytucie Chemii Organicznej (Institut für Organische Chemie IOC), KIT Karlsruhe. https://www.ioc.kit.edu/pianowski/	Obowiązki służbowe: - organizacja pracy, nadzór merytoryczny nad przeprowadzanymi badaniami - nadzór nad aparaturą - przygotowywanie raportów - realizacja projektów badawczych
Od 10.2020	Grupa badawcza afiliowana dodatkowo przy instytucie IBCS-FMS (Institute of Biological and Chemical Systems – Functional Molecular Systems), KIT Karlsruhe	
Od 15.01.2024	Kierownik laboratorium biologicznego i laboratorium GMO w IOC KIT (Projektleiter in genetechischen Arbeiten) certyfikowany od 11.2023	- uprawnienia kierownika projektów dotyczących prac nad organizmami genetycznie zmodyfikowanymi - prowadzenie instrukcji bezpiecznej pracy z organizmami GMO dla studentów - nadzór nad laboratorium biologicznym - zawiadamianie władz (Regierungspräsidium Tübingen, REFERAT 57 – Gentechnikaufsicht) o projektach badawczych z użyciem GMO
Od 09.2016	Realizacja projektów badawczych finansowanych przez DFG - Deutsche Forschungsgemeinschaft 1) DFG “Eigene Stelle” PI 1124/6-1 (11/2016 – 03/2021); Budżet całkowity 497.550 € 2) DFG “Eigene Stelle” PI 1124/6-3 (07/ 2021– 06/2024) Budżet całkowity 337.750 € 3) DFG „Sachbeihilfe“ PI 1124/12-1 08/2023 – 07/2026, trwa) Budżet całkowity 231.980 € 4) DFG “Eigene Stelle” PI 1124/15-1 (07/2025– 06/2028, trwa) Budżet całkowity 612.013 €	- Realizacja projektów <u>jako kierownik projektu</u> - organizacja pracy uczestników projektów - rozliczanie projektów - raportowanie postępów prac - publikowanie wyników
04.2015-09.2019	Udział (jako kierownik subprojektu B1) w kordynowanym projekcie badawczym DFG „Graduiertenkolleg“ GRK 2039/1 http://www.grk2039.kit.edu/ Budżet subprojektu 120.000 € Budżet całkowity 4.000.000 €	- realizacja subprojektu - organizacja pracy uczestników subprojektu - udział w rozliczaniu projektu - raportowanie postępów prac - publikowanie wyników

Sumaryczny budżet grantów (DFG, fundacje finansujące stypendia doktoranckie) zrealizowanych przeze mnie lub będących w trakcie realizacji (licząc tylko budżet za który byłem/jestem osobiście odpowiedzialny) przekroczył na chwilę obecną **2.100.000 €**

- **Popularyzacja nauki**

Data	Opis	Link
Od 2019	Członek <i>KIT YIN Young Investigator Network</i> – organizacji popularyzującej naukę i wspierającej młodych samodzielnych naukowców	https://www.yin.kit.edu/index.php
2022-2023	Przewodniczący YIN Event Committee, organizator spotkania YIN Day 2022 popularyzującego akademicką karierę naukową	https://www.yin.kit.edu/english/120.php https://www.yin.kit.edu/2545.php

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1–6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

- **Stypendia, nagrody, wyróżnienia**

Data	Informacja	Rodzaj wyróżnienia
06.2001	XLVII Olimpiada Chemiczna 2000/2001 - Pierwsze miejsce w etapie ogólnopolskim.	Nagroda indywidualna
09.2001	EUCYS – EU Contest for Young Scientists, Bergen, Norwegia – druga nagroda i nagroda specjalna za pracę “New Liquid Crystals for Holography” (polskie eliminacje: “Zaprojektowanie, synteza I zastosowanie ciekłych kryształów opartych na barwnikach azowych)	Nagroda indywidualna
06.2004	<i>Summa cum laude</i> – wyróżnienie pracy magisterskiej z chemii organicznej (MISMaP – Międzywydziałowe Indywidualne Studia Matematyczno-Przyrodnicze), Uniwersytet Warszawski	Nagroda indywidualna
04.2009-03.2011	Marie Curie Intraeuropean Fellowship – stypendium finansujące staż podoktorski	Stypendium indywidualne
2009-2013	Współpraca naukowa z grupą Prof. Davida Bakera (laureat Nagrody Nobla 2024) w zakresie inżynierii enzymów (dwie wspólne publikacje: <i>J. Am. Chem. Soc.</i> 2012 , <i>134</i> (39), 16197-16206; <i>J. Mol. Biol.</i> 2014 , <i>426</i> (1), 256-271)	Zbiorowe
7-12.07.2015	Gordon Research Conference “Artificial Molecular Switches and Motors: Towards Molecules Performing Useful Work”, Stonehill College, USA, przewodniczący sesji konferencyjnej “Emerging Applications in Bioimaging”	Indywidualne

2018	Wyróżnienie <i>Hot paper</i> oraz okładka do artykułu “Green light-induced drug release from supramolecular hydrogels” – J. Karcher, Z. Pianowski <i>Chem. Eur. J.</i> , 2018 24, 11605-11610	Wyróżnienie zbiorowe
2019-2022	Redaktor książki “Molecular Photoswitches: Chemistry, Properties, and Applications” (Wiley-VCH, 2022, dwa tomy, 43 rozdziały, 1183 stron) z przedmową oraz dwoma rozdziałami autorstwa laureatów nagrody Nobla (Prof. Ben Feringa, Prof. Jean-Marie Lehn) https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9783527827626	Zbiorowe
13.09.2023	Wykład (keynote lecture) – doroczne sympozjum grupy laureata Nagrody Nobla – Prof. Bena Feringi, Moguncja, Niemcy: https://grk2516.uni-mainz.de/files/2023/09/Symposium-Molecular-Nanotour-Symposium-Groningen.pdf	Indywidualne
2025	okładka do artykułu “Photoswitchable Fluorescence of Peptide-Based Hemipiperazines inside of Living Cells” – P. Goedtel et al. <i>J. Am. Chem. Soc.</i> 2025 , 147, 26652-62	Wyróżnienie zbiorowe
2025	Artykuł „Glucose-derived receptors for photocontrolled binding of amino acid esters in water“ M.M. Most et al. <i>Commun. Chem.</i> 2025 , 8, 50 został wyróżniony kwalifikacją do “2025 Editors’ Highlights Collection”	Wyróżnienie zbiorowe

• Wybrane szkolenia specjalistyczne i warsztaty

W listopadzie 2023 roku z sukcesem zakończyłem szkolenie na kierownika projektów w zakresie organizmów modyfikowanych genetycznie (Projektleiter in genetechischen Arbeiten, nach §28 Abs. 2 Satz 1 Nr. 3 GenTSV), które zapewniło mi uprawnienia do prowadzenia i autoryzacji eksperymentów z zakresu organizmów GMO.

Zbigniew Lech Pianowski

.....
Podpis wnioskodawcy