



UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny
Laboratoryjnej
Zakład Chemii Leków
15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2D
Tel. (85) 748-57-06, FAX (85) 748-58-66
pal@umb.edu.pl

Prof. dr hab. n. farm. Jerzy Pałka

Białystok, 17.10.2019.

OCENA PRACY DOKTORSKIEJ

pt. „Fluoropodstawione pochodne hydrazynowe benzo- γ -pironu. Synteza, analiza spektroskopowa, ocena aktywności biologicznej, kompleksy z jonami miedzi (II)” wykonanej przez mgr Krzysztofa Słomiaka w Zakładzie Chemii Bionieorganicznej Katedry Chemii Medycznej, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Przedmiotem badań stanowiących treść rozprawy doktorskiej jest poszukiwanie związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym w obrębie hydrazynowych pochodnych 3-formylochromonu. Ta grupa związków, powszechnie występująca w świecie roślinnym wykorzystywana jest aktualnie w lecznictwie (np. w preparatach diosminy, hesperydyny, rutyny) i stanowi od lat zainteresowanie zespołu badawczego Zakładu Chemii Bionieorganicznej. Szczególną uwagę poświęcono kompleksom 3-formylochromonu z jonami metali, które nadają tym związkom nowe aktywności biologiczne.

Podłożem podjętych przez Doktoranta badań jest charakterystyka fizykochemiczna nowych fluoropodstawionych hydrazonowych i hydrazydowych pochodnych 3-formylochromonu i ich związków kompleksowych z jonami miedzi (II) oraz ocena ich aktywności przeciwbakteryjnej i cytotoksyczności na komórki somatyczne. Cel ten Doktorant osiągnął poprzez realizację 4 etapów badań: i/ syntezę nowych związków, ii/ analizę fizykochemiczną i strukturalną, iii/ analizę skuteczności przeciwbakteryjnej i iiii/ analizę cytotoksyczności badanych związków w modelu komórkowym fibroblastów.

Badania zawarte w rozprawie doktorskiej wpisują się w koncepcję strategii poszukiwania związków biologicznie czynnych w badaniach przedklinicznych. Podłożem tej strategii jest opracowanie metod selekcji kandydatów na związki o pożądanej aktywności farmakologicznej i stabilności metabolicznej.

Podjęcie przez Doktoranta niniejszego tematu badawczego uważam zatem za uzasadnione i ważne z punktu widzenia zarówno metodologicznego, poznawczego jak i potencjalnie aplikacyjnego.

Na podstawie przeglądu literatury z zakresu syntezy pochodnych benzo- γ -pironu i właściwości biologicznych tej grupy leków Doktorant opracował syntetyczny wstęp, stanowiący wprowadzenie do tematyki rozprawy doktorskiej. Zawiera on aktualną literaturę tych zagadnień, stanowiących w przeważającej części osiągnięcia ostatnich 10 lat w tej dziedzinie.

Treść pracy doktorskiej w przeważającej części poświęcona jest syntezie i analizie hydrazonowych pochodnych 3-formylochromonu, jednej hydrazydowej pochodnej tego związku oraz kompleksowi tej pochodnej z jonami miedzi (II). Efektem wieloetapowych syntez było otrzymanie 11 fluoropodstawionych hydrazynowych pochodnych benzo- γ -pironu. Wyniki badań nad syntezą i analizą tych związków stanowią dokumentację ogromu pracy doświadczalnej i koncepcyjnej Doktoranta. Szczególną uwagę zwraca opanowanie nowoczesnego i innowacyjnego warsztatu chemii organicznej i analitycznej, doświadczenie i profesjonalizm badawczy. Budowa i czystość otrzymanych związków została potwierdzona analizą pierwiastkową, oceną temperatury topnienia, analizą spektroskopową w podczerwieni i spektroskopią magnetycznego rezonansu jądrowego, spektrometrią mas i analizą krystalograficzną. Techniki te pozwoliły zapewnić wysoką jakość i rzetelność wyników badań a przeprowadzone przez Doktoranta badania dowodzą wysokich kompetencji w zakresie syntezy i analizy związków.

Badania poświęcone ocenie aktywności biologicznej badanych związków przeprowadzone zostały na wielu różnorodnych szczepach bakteryjnych i dwóch liniach komórek mysich. Jednak wstęp do tego obszaru badań zawiera zaledwie wzmiankę uzasadniającą celowość podjęcia oceny ich aktywności przeciwbakteryjnej względem różnych szczepów bakteryjnych oraz aktywności anty-mitotycznej względem dwóch mysich linii komórkowych pochodzących z tkanki łącznej. Stanowi to jedyny słaby element pracy, którego można by uniknąć gdyby praca zawierała oddzielny rozdział poświęcony dyskusji. Pozwoliło by to uzasadnić związek pomiędzy budową chemiczną badanej grupy związków a ich aktywnością biologiczną, lepiej opisać logistykę badawczą oraz zinterpretować uzyskane wyniki badań na podstawie badań własnych i aktualnej literatury przedmiotu. Niemniej jednak całościowa koncepcja planu badawczego pozwala pozytywnie ocenić specjalistyczną wiedzę Doktoranta, umiejętność rozwiązywania problemów badawczych, korzystania z literatury stanowiącej przedmiot pracy oraz interpretacji wyników.

Na podstawie wyników obszernych badań Doktorant sformułował 7 wniosków, które stanowią podsumowanie wyników badań. Odzwierciedlają one najistotniejsze elementy poznawcze pracy i wyznaczają kierunki dalszych badań nad pochodnymi 3-formylochromonu jako związkami o potencjalnej aktywności przeciwbakteryjnej.

Na uwagę zasługuje profesjonalne opracowanie syntezy pochodnych 3-formylochromonu z bogatą dokumentacją analizy strukturalnej tych związków. Wyniki tych badań pozwoliły wytypować podstawniki chemiczne determinujące stabilność chemiczną, które z tego względu zachęcają do dalszych badań nad tą grupą związków.

Badania przeprowadzone przez Doktoranta stanowi instrukcję do syntezy hydrazynowych i hydrazydowych pochodnych 3-formylochromonu i kompleksu hydrazydowej pochodnej z jonami miedzi (II) wykazujących wysoką stabilność chemiczną oraz aktywność biologiczną wobec bakterii i komórek somatycznych. Działalność badawcza Doktoranta w tym zakresie jest twórczym wkładem do badań nad poszukiwaniem związków o działaniu biologicznym z wykorzystaniem nowoczesnego warsztatu badawczego chemii organicznej i analitycznej.

Niniejsza praca doktorska została opublikowana w *Molecules*, czasopiśmie z listy filadelfijskiej o IF ponad 3. W pracy tej Doktorant jest pierwszym autorem. Dominujący

udział Doktoranta w koncepcji, organizacji pracy i przeprowadzeniu doświadczeń związanych z tematem rozprawy doktorskiej nie budzi zastrzeżeń.

Niemniej jednak opis niektórych zagadnień i wyników badań zamieszczonych w rozprawie doktorskiej nie jest jasno przedstawiony i nasuwa wiele pytań, które mogą stanowić przedmiot dyskusji, na przykład:

1. Jakie argumenty przemawiały za sformułowaniem hipotezy, że pochodne hydrazynowe benzo- γ -pironu mogą wykazywać działanie przeciwbakteryjne. Czy znany jest potencjalny punkt uchwytu ich działania?
2. W jakim celu przeprowadzono ocenę wpływu badanych związków na proliferację fibroblastów. Czy w celu oceny cytotoksyczności badanych związków na komórki eukariotyczne, czy w celu oceny ich potencjalnej aktywności przeciw mitotycznej, poszukując w obrębie pochodnych 3-formylochromonu związków o działaniu przeciw-nowotworowym, zwłaszcza, że jako związek odniesienia zastosowano cisplatinę.
3. Czy oceniono rozpuszczalność badanych związków w roztworach wodnych i jakiego rozpuszczalnika użyto do sporządzenia roztworów badanych substancji do analiz mikrobiologicznych, a jakiego do testu cytotoksyczności na modelu komórkowym fibroblastów.
4. Jaka rolę przypisuje Doktorant podstawnikom fluorowym w cząsteczce tworzonych związków.
5. Dlaczego stężenie badanych związków w badaniu aktywności przeciwbakteryjnej przedstawiono w $\mu\text{g/ml}$ a w badaniu cytotoksyczności w μM . Utrudnia to porównanie obydwu aktywności badanych związków.

Powyższe uwagi nie umniejszają merytorycznych wartości pracy doktorskiej, jednak mogą być uwzględnione przez Doktoranta w dalszej działalności naukowej i publikacyjnej.

Reasumując, uważam, że rozprawa doktorska mgr Krzysztofa Słomiaka jest pracą wartościową, poprawnie przygotowaną warsztatowo i wnosi nowe elementy poznawcze w zakresie poszukiwania związków przeciwbakteryjnych i anty-mitotycznych w obrębie hydrazynowych pochodnych 3-formylochromonu.

Upoważnia mnie to do wystąpienia z wnioskiem do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, o dopuszczenie mgr Krzysztofa Słomiaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Chemii Leków

prof. dr hab. Jerzy Palka