
Wydział Farmaceutyczny
Katedra Chemii Bioorganicznej i Biokoordynacyjnej
Zakład Chemii Bioorganicznej
dr hab. n. farm. Iwona Elżbieta Głowacka

Łódź 25 maja 2017

Recenzja pracy doktorskiej mgr. Łukasza Szczupaka

pt. „*Metaloorganiczne pochodne chromonu oraz 7-ADCA: synteza, struktura i aktywność biologiczna*”

przedstawiona Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego w celu uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w Katedrze Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem dr. hab. Konrada Kowalskiego, prof. nadzw. UŁ, którego zainteresowania naukowe koncentrują się między innymi na syntezie nowych związków metaloorganicznych o potencjalnej aktywności biologicznej.

Od wielu lat związki pochodzenia naturalnego odgrywają znaczącą rolę w poszukiwaniu i projektowaniu nowych połączeń o żądanych właściwościach zarówno fizykochemicznych jak i farmakologicznych. Intensywnie badaną grupą związków są flawonoidy i ich pochodne, które ze względu na ich wielokierunkową aktywność biologiczną stanowią przedmiot szeregu modyfikacji strukturalnych. W ostatnim czasie obserwuje się coraz większe zainteresowanie związkami metaloorganicznymi jako potencjalnymi farmaceutykami, które mogłyby znaleźć zastosowanie zarówno w diagnostyce jak i w chemioterapii. W zespole dr. hab. Konrada Kowalskiego, prof. nadzw. UŁ, prowadzone są intensywne badania dotyczące syntezy tego typu połączeń. Przedstawione przez mgr. Szczupaka wyniki prac nad syntezą oraz oceną aktywności biologicznej koniugatów metalocenów z chromonem jak również kwasem 7-aminodezacetoksycefalosporanowym (7-ADCA) doskonale wpisują się w ten wysoce aktualny, zwłaszcza w chemii medycznej, nurt badań.

Przedstawiona do oceny rozprawa stanowi spójny tematycznie cykl 6 współautorskich prac opublikowanych w latach 2013–2017, poprzedzony 62-stronicowym autoreferatem zawierającym wprowadzenie w podjętą tematykę, krótki opis przeprowadzonych prac badawczych z kompletem publikacji wraz z dołączonymi materiałami uzupełniającymi

Katedra Chemii Bioorganicznej i Biokoordynacyjnej
Zakład Chemii Bioorganicznej

90-151 Łódź | ul. Muszyńskiego 1
tel. (042) 677 92 35
e-mail: iwona.glowacka@umed.lodz.pl
www.umed.pl

(Supplementary Information), podsumowanie wyników, oświadczenia wszystkich współautorów, które nie pozostawiają wątpliwości co do dominującego udziału Doktoranta w wykonaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników. Całość uzupełnia krótki życiorys Doktoranta z podkreśleniem jego osiągnięć naukowych i dydaktycznych. Na dorobek Doktoranta oprócz 6 prac stanowiących podstawę dysertacji składają się dodatkowo dwie publikacje, które nie wchodzą w skład rozprawy doktorskiej oraz doniesienia i komunikaty konferencyjne (29) zaprezentowane na zjazdach krajowych i międzynarodowych. Pan magister Łukasz Szczupak brał udział w realizacji 2 projektów badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki. W dokumentacji znalazły się również szczegółowe dane bibliometryczne, takie jak współczynniki oddziaływania (sumaryczny IF = 24,283), liczba cytowań prac Doktoranta (30 bez autocytowań) oraz wartość indeksu Hirscha (H = 4). Są to bardzo zadowalające parametry, jak na tak młodego naukowca i ten etap kariery naukowej.

Przed przystąpieniem do oceny wyników uzyskanych przez mgr. Szczupaka trzeba podkreślić, że zostały one już opublikowane w renomowanych czasopismach z tzw. Listy Filadelfijskiej i merytorycznie ocenione przez niezależnych recenzentów. Niemniej jednak obowiązkiem recenzenta jest zapoznanie się z opublikowanym materiałem w celu określenia jego wartości merytorycznej. Moje zadanie jako recenzentki sprowadza się do oceny zakresu i tematyki prowadzonych badań, a w niniejszej recenzji skoncentruję się również na merytorycznej ocenie wstępu teoretycznego oraz komentarzy do publikacji.

W części wprowadzającej autoreferatu mgr Łukasz Szczupak przedstawił zwięzłą charakterystykę chromonu uwzględniając budowę, klasyfikację, metody syntezy oraz aktywność biologiczną i znaczenie terapeutyczne tej klasy związków. Kolejny rozdział to bardzo krótkie, ale wyczerpujące wprowadzenie w tzw. chemię biometaloorganiczną, w którym zaprezentowano między innymi znaczenie modyfikacji stosowanych klinicznie cząsteczek leków z fragmentami metaloorganicznymi. W kolejnych rozdziałach tej części pracy Doktorant przedstawił obecny stan wiedzy na temat syntezy i aktywności biologicznej metaloorganicznych pochodnych chromonu oraz antybiotyków β -laktamowych, co doskonale uzasadnia zakres badań realizowanych przez Doktoranta, jak również stanowi bardzo dobre wprowadzenie w podjętą tematykę. Podsumowując tę część pracy uważam, że jest ona logiczna i spójna pod względem merytorycznym i została przygotowana bardzo starannie.

W rozdziale „Badania własne” mgr Szczupak w bardzo zwięzły sposób przedstawił podsumowanie wyników przeprowadzonych prac syntetycznych i badań aktywności biologicznej. W pracy doktorskiej mgr Szczupaka można wyróżnić trzy części. Pierwsza dotyczy syntezy i oceny właściwości biologicznych metaloorganicznych pochodnych chromonu, w tym kompleksów ferrocenyłowych, kobaltu i złota. Druga część opisuje ferrocenyłowe pochodne

zawierające rdzeń pterokarpenu i kumestanu, zaś trzeci wątek to metalocenyłowe modyfikacje kwasu 7-aminodezacetoksycefalosporanowego (7-ADCA).

Należy podkreślić, że Doktorant opracował proste procedury syntezy nowych metaloorganicznych pochodnych chromonu, które pozwoliły na otrzymanie w dość krótkim czasie wielu różnorodnych strukturalnie produktów, co z punktu widzenia chemii medycznej ma duże znaczenie. W pierwszym etapie badań, wykorzystując reakcję Hecka winyloferrocenu z pochodnymi 6-bromochromonu, mgr Szczupak otrzymał cztery ferrocenylochromony (oznaczone w autoreferacie jako związki **111a-d**). Na podstawie analizy spektroskopowej i rentgenostrukturalnej ustalił, że zarówno w roztworze jak również w ciele stałym związki te występują jako izomery *E*. Przeprowadzone badania właściwości przeciwnowotworowych i przeciwbakteryjnych potwierdziły aktywność uzyskanych połączeń, co zainspirowało Doktoranta do dalszych modyfikacji strukturalnych w obrębie kwasu 6-bromochromono-3-propanowego (związek **110d**) oraz jego ferrocenyłowej pochodnej (związek **111d**).

Mgr Szczupak postanowił sprawdzić jak zmiana położenia grupy ferrocenyłowej, a także wprowadzenie fragmentu $\text{Co}_2(\text{CO})_6$ wpłynie na aktywność biologiczną otrzymanych połączeń. Aby znaleźć odpowiedź na nurtujące pytania Doktorant zajął się funkcjonalizacją grupy karboksylowej w związkach **110d** i **111d** otrzymując dwie pochodne ferrocenyłowe (związki **115b** i **117**), pochodną kobaltową (związek **116a**) oraz bimetaliczny addukt **116b**. Dla koniugatów wykonane zostały badania aktywności przeciwnowotworowej na 4 liniach komórkowych: MCF-7, MDA-MB-231, HepG-2 i CCRF-CEM. Dla dwóch pochodnych o najwyższej aktywności zostały przeprowadzone szczegółowe badania, które potwierdziły właściwości genotoksyczne oraz zdolność hamowania cyklu komórkowego MDA-MB-231, HepG-2 i CCRF-CEM w fazie G2/M. Mgr Szczupak wykazał więc, że modyfikacja grupy karboksylowej ferrocenyłowej pochodnej chalkonu **111d** prowadzi do otrzymania struktur o szerszym spektrum aktywności i lepszym indeksie terapeutycznym. Dlatego też jak najbardziej słusznym posunięciem było wykorzystanie przez Doktoranta otrzymanych wcześniej alkinów **115a**, **115b** oraz 6-etynylo-2-fenylochromonu (związek **118**) w syntezie kompleksów złota (związki **119**, **120** i **121**). Również w tym przypadku mgr Szczupak uzyskał pozytywne wyniki badań biologicznych. Zsyntetyzowane kompleksy złota wykazują właściwości bakteriobójcze zarówno wobec antybiotykoopornych jak i klinicznych szczepów *S. aureus*; są również cytotoksyczne wobec komórek nowotworowych CCRF-CEM na poziomie aktywności substancji referencyjnej.

Kontynuując prace badawcze w dziedzinie połączeń metaloorganicznych mgr Szczupak w kolejnej pracy przedstawił syntezę ferrocenyłowych pochodnych zawierających rdzeń pterokarpenu i kumestanu oraz kompleksu renu. W trakcie prac eksperymentalnych, podczas oczyszczania produktu reakcji Sonagashiry 3-bromochromonu **124a** z etynyloferrocenem,

Doktorant oprócz oczekiwanego produktu reakcji wydzielił dodatkowy związek, który zidentyfikował jako pochodną kumestanu **129**. Następnie mgr Szczupak tak zmodyfikował warunki reakcji, aby głównym produktem była pochodna kumestanu **129** i zaproponował mechanizm tej reakcji, co świadczy o docieklivości i zaangażowaniu Doktoranta w rozwiązywanie problemów badawczych, a biorąc pod uwagę początkowy etap kariery naukowej zasługuje to na szczególną pochwałę. Przeprowadzone badania biologiczne wykazały aktywność przeciwnowotworową otrzymanych pochodnych wobec wybranych linii komórkowych. Natomiast kompleks renu został wykorzystany jako sonda bioluminescencyjna.

Bibliotekę otrzymanych przez Doktoranta związków dopełniają metalocenyłowe koniugaty kwasu 7-aminodezacetoksycefalosporanowego. Badania aktywności mikrobiologicznej wykazały, że związki te są lepszymi inhibitorami DD-karboksypeptydazy niż penicylina G. Ponadto badania biokrytalograficzne pochodnej **134b** umożliwiły poznanie oddziaływań pomiędzy rutenocenyłową pochodną a CTX-M- β -laktamazą oraz oznaczenie struktury kompleksu **134b** w analizowanym kryształ. Badania właściwości zsyntetyzowanych koniugatów zostały uzupełnione o pomiary elektrochemiczne, które pozwoliły ocenić potencjał utleniania/redukcji.

Tak zaplanowany tok badań i umiejętność wyciągania wniosków świadczą o dojrzałości naukowej mgr. Szczupaka. Należy podkreślić, że ustalając budowę chemiczną nowosyntetyzowanych połączeń Doktorant wykazał się biegłością w interpretacji widm NMR i wykorzystywaniu danych spektralnych w analizie strukturalnej. Wszystkie zsyntetyzowane przez mgr. Szczupaka związki zostały w pełni scharakteryzowane w oparciu o analizę spektroskopową, elementarną, a w ośmiu przypadkach dodatkowo wykonana została analiza rentgenostrukturalna monokryształów. Badania aktywności przeciwnowotworowej i przeciwbakteryjnej nowych biometalokoniugatów przeprowadzone zostały w ramach szerokiej współpracy z naukowymi ośrodkami w kraju jak i zagranicą, zapewniając tym samym interdyscyplinarny charakter prowadzonych prac.

Uważam, że część pracy dotycząca przeprowadzonych badań napisana została poprawnie. Jednak w mojej ocenie niektóre fragmenty omówienia wyników należałoby rozbudować. Ponadto analizę uzyskanych wyników utrudnia brak bezpośrednich odwołań do publikacji wyszczególnionych przez Autora jako osiągnięcie. Pomocne byłoby ich niezależne ponumerowanie zamiast włączenia ich w spis literatury zawierający 122 pozycje. Drobne błędy edytorskie (literówki, niewłaściwa numeracji związków w tekście, ten sam opis dla różnych skrótów w wykazie skrótów itd.) nie umniejszają wartości merytorycznej ocenianej rozprawy.

Chciałabym podkreślić, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr. Łukasza Szczupaka prezentuje wysoki poziom. W mojej ocenie wyniki uzyskane przez mgr. Szczupaka

Katedra Chemii Bioorganicznej i Biokoordynacyjnej
Zakład Chemii Bioorganicznej

90-151 Łódź | ul. Muszyńskiego 1
tel. (042) 677 92 35
e-mail: iwona.glowacka@umed.lodz.pl
www.umed.pl



mają dużą wartość naukową i to zarówno w aspekcie poznawczym jak i aplikacyjnym. Dotychczasowe osiągnięcia Doktoranta wskazują, że jest on młodym dobrze zapowiadającym się naukowcem. W świetle oświadczeń współautorów podkreślających wiodący wkład Doktoranta nie tylko w syntezę i interpretację wyników badań biologicznych, ale również w przygotowanie manuskryptów nieco zaskakującym jest, że w żadnej z nich Doktorant nie jest pierwszym autorem.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr. Łukasza Szczupaka spełnia wymagania ustawowe (Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, Dz.U. z 2003r. Nr 65, poz. 595). Wnoszę zatem do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Iwona Głowacka