



POLITECHNIKA ŚLĄSKA

WYDZIAŁ CHEMICZNY

Katedra Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii

Prof. dr hab. inż. Krzysztof Walczak

Ul. B. Krzywoustego 4
44-101 Gliwice
Tel. (+48) 32 237-13-08
Faks: (+48) 32 237-20-94
krzysztof.walczak@polsl.pl

Gliwice, 17 maja 2018 r.

Recenzja

Pracy doktorskiej mgr Marty Rejmund pt. "Projektowanie i synteza nowych analogów tiosemikarbazonów, jako potencjalnych farmaceutyków"

Postęp we współczesnej chemii medycznej znacznie przyspieszył tempo odkrywania i wprowadzania na rynek nowych leków. Nie oznacza to jednak, że stosowane terapie zawsze kończą się sukcesem. Obserwowana lekooporność w infekcjach wirusowych, bakteryjnych i nie zawsze skuteczne terapie antynowotworowe zmuszają do poszukiwań nowych, bardziej skutecznych i selektywnych związków o działaniu terapeutycznym. Istnieją różne metody podejścia do projektowania substancji o aktywności adresowanej dla konkretnego typu patogenu. Poszukuje się struktury wiodącej analogicznej do już stosowanych leków, często wykorzystując, jako pierwowzór związku pochodzenia naturalnego. Inne, nadal bardzo popularne podejście to badania przesiewowe, polegające na poddaniu możliwie szerokiego panelu patogenów działaniu substancji podejrzewanej o możliwą czynność biologiczną. Racjonalne projektowanie leków w oparciu o zdefiniowany cel biologiczny z wykorzystaniem modelowania molekularnego to obecnie jedna z chętnie stosowanych strategii w poszukiwaniu coraz to skuteczniejszych leków. W ten nurt poszukiwań nowych związków bioaktywnych, wpisuje się recenzowana praca wykonana przez Panią mgr Martę Rejmund w zespole prof. Jarosława Polańskiego w Instytucie Chemii Uniwersytetu Śląskiego. Zespół ten od lat ma ugruntowaną pozycję naukową wśród specjalistów zajmujących się chemią medyczną. Osiągnięcia Profesora Polańskiego i jego współpracowników są dobrze znane zespołom badawczym zajmującym się chemią medyczną.

Praca ma typowy układ, składa się z trzech części: części literaturowej, omówienia badań własnych i części eksperymentalnej. Część literaturową poprzedza jednostronicowy tekst, w którym Doktorantka w sposób bardzo zwięzły określiła cel i zakres swoich badań. Celem badań jest synteza tiosemikarbazonów różnie sfunkcjonalizowanych związków karbonylowych. Ze względu na znane właściwości inhibujące reduktazę rybonukleotydową tiosemikarbazonu 3-aminopirydyno-2-karbaldehydu, jego analogii poddano szczegółowej analizie typu struktura-reaktywność. Stałym elementem strukturalnym badanych tiosemikarbazonów jest heterocykliczny pierścień z jednym lub dwoma atomami azotu związany z atomem węgla grupy tiokarbonylowej.

Część literaturowa oparta jest o 117 pozycji źródłowych, na ogół pochodzących z ostatnich dwudziestu lat i podzielona na siedem podrozdziałów. Pozostałymi pozycjami (29) Kandydatka posiłkowała się w trakcie dyskusji wyników. W tej części Kandydatka omówiła, jej zdaniem, najważniejsze zagadnienia związane z właściwościami tytułowych związków w kontekście ich aktywności biologicznej. Układ tej części jest na pewno subiektywny i zdaniem recenzenta kolejność poszczególnych części mogła być inna: projektowanie leków, synteza tiosemikarbazonów i ich właściwości chemiczne, pochodne piperazyny, właściwości chelatujące tiosemikarbazonów i odpowiedź biologiczna. Część ta jest napisana bardzo zwięźle a nieliczne uwagi dotyczące redakcji tego fragmentu rozprawy zawarłem na końcu mojej opinii.

W rozdziale drugim zatytułowanym „Badania własne” Kandydatka omówiła zastosowaną metodę syntezy tytułowych tiosemikarbazonów oraz ich właściwości chemiczne. Wyjściowe N-podstawione tiosemikarbazydy otrzymała w dwuetapowej reakcji. Tioformylowanie pierwszorzędowej grupy aminowej w glicynie lub drugorzędowej w piperazynie 1,1'-tiokarbonylodiimidazolem prowadzi do pochodnych 1-imidazoliotiokarbonylowych, które traktowane hydrazyną tworzą N3-podstawione tiosemikarbazydy. Te ostatnie w reakcji ze związkami karbonylowymi tworzą odpowiednie tiosemikarbazony. Prosta procedura syntezy pozwoliła na otrzymanie 102 pochodnych na ogół z dobrymi i bardzo dobrymi wydajnościami. Strukturę otrzymanych produktów określono na podstawie analizy widm ^1H i ^{13}C NMR oraz MS. Charakterystykę fizykochemiczną uzupełniają wyliczone na podstawie dostępnych programów wartości współczynnika podziału logP. Szkoda, że otrzymanych wartości nie zweryfikowano, przynajmniej częściowo, dostępnymi metodami eksperymentalnymi (HPLC, TLC w fazach odwróconych). Wyniki metod obliczeniowych w zależności od zastosowanego programu mogą różnić się dość znacznie wartościami. Z otrzymanego zbioru tiosemikarbazonów Doktorantka wybrała analogii Triapiny, które poddała kolejnym badaniom. Wyznaczyła stałe protonowania a także zbadała właściwości kompleksotwórcze tych pochodnych w odniesieniu do jonów żelaza Fe(III) i miedzi Cu(II). Szkoda, że autorka nie pokusiła się o przedstawienie struktur o różnym stopniu protonowania badanych pochodnych. W tekście (s. 55) Autorka wspomina o czterech lub pięciu miejscach protonowania, natomiast analiza rys. 16 i 17 sugeruje jedynie przyłączenie trzech protonów. W badaniach tworzenia kompleksów wybranych pochodnych nie podano informacji o rodzaju soli zastosowanych w tych eksperymentach.

Ważnym fragmentem badań własnych są przeprowadzone badania biologiczne w odniesieniu do kilku klasycznych linii komórek nowotworowych, bakterii i grzybów. Za szczególnie obiecujące uważam wyniki badań w panelu pięciu linii komórek nowotworowych, gdzie uzyskane wartości IC_{50} jednoznacznie wskazują na dużą aktywność antyproliferacyjną zsyntezowanych związków. Analiza cyklu komórkowego wskazuje na prawdopodobne zakłócenie przejścia G1/S i indukowanie apoptozy.

To z kolei zmniejsza frakcję komórek zdolnych do podziału w fazie mitozy, zmniejszając tym samym ich proliferację. Szczególnie wrażliwe wydają się być komórki nowotworu piersi MCF7. Na podstawie badań cytotoksyczności otrzymanych tiosemikarbazonów można stwierdzić, że najaktywniejsze związki zawierają, jako rdzeń 2-chinoliokarbaldehyd lub 3-aminopirydylo-2-karbaldehyd. Obecność fragmentu piperazynowego w strukturze tiosemikarbazonu aldehydu 2-aminopirydynowego znacznie zwiększa aktywność przeciwnowotworową tych pochodnych w porównaniu z Triapiną. Niska cytotoksyczność w odniesieniu do zdrowych komórek fibroblastów ludzkich wskazuje na dużą selektywność otrzymanych pochodnych. Badania aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej pozwoliły także wskazać związki o wzmożonej aktywności dla tych patogenów.

Rozdział ten napisany jest lakonicznie, chociaż stanowi najważniejszą część pracy doktorskiej. Prosiłbym o wyjaśnienie, dlaczego w przypadku pochodnych Triapiny zastosowano nową numerację związków ($L^1 - L^{12}$), chociaż w tabeli 7 ponownie stosowane są przyjęte na początku numery porządkowe. Wprowadza to nieco zamęt, gdyż wymaga porównywania różnie oznaczonych związków.

Największą objętościowo część pracy stanowi część eksperymentalna. Zawiera ona opis otrzymywania oraz dane spektroskopowe poszczególnych pochodnych. Zastosowanie przepisów ogólnych znacznie skróciłoby objętość tej części, tym bardziej, że poszczególne typy syntez prowadzono z tych samych ilości molowych substratów. W części tej nie uwzględniono opisu doświadczalnego wyznaczania pK_a i tworzenia kompleksów. W części eksperymentalnej zabrakło również opisu protokołów badań biologicznych lub przynajmniej odnośników do źródłowych opisów.

Mimo tych braków pracę uważam za bardzo wartościową. Praca lokuje się na pograniczu chemii i biologii. Wymaga to od Kandydatki nie tylko znajomości chemii, ale także i dość szerokiej wiedzy z zakresu biologii. Pani Rejmund swobodnie porusza się w obu tych obszarach, co widać zwłaszcza w części literaturowej, gdzie omówienie procesów komórkowych stanowi jej znaczącą część. W serii prostych reakcji Pani Rejmund otrzymała kilkadziesiąt związków, które odznaczają się interesującą aktywnością w odniesieniu do trzech grup patogenów: komórek nowotworowych, bakterii i grzybów. Uzyskane wyniki zapewne zainspirują do dalszych badań, zwłaszcza w zakresie poszukiwań celu molekularnego. Główny cel badań Kandydatki „projektowanie i synteza nowych analogów tiosemikarbazonów, jako potencjalnych farmaceutyków” został, zatem spełniony. Kandydatka wykazała się umiejętnościami oczekiwanymi u młodych badaczy: zdolnością do zaprojektowania eksperymentu, jego przeprowadzenia i prawidłowej interpretacji wyników. Uzyskane wyniki syntez są wystarczająco udokumentowane w części eksperymentalnej. Dobrym uzupełnieniem części syntetycznej, są badania biologiczne. Pani Rejmund dobrze sobie poradziła i w tym obszarze, a przedstawiona analiza danych aktywności biologicznej na tym etapie badań jest przekonująca. Dobrą rekomendacją wartości recenzowanej pracy jest fakt częściowego

opublikowania jej wyników w czasopismach z listy JCR (2 publikacje). Uzyskane wyniki wnoszą wkład w rozwój wiedzy chemicznej, a zatem spełniają kryterium ustawowe stawiane kandydatom do stopnia doktora nauk chemicznych (ustawa z dn. 14 marca 2003 r. o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki wraz z późniejszymi zmianami). Wnoszę, zatem do Rady Instytutu Chemii Uniwersytetu Śląskiego o dopuszczenie mgr Marty Rejmund do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lista uwag edytorskich

W trakcie czytania rozprawy znalazłem nieliczne niejasności lub błędy redaktorskie, proszę o ustosunkowanie się do poniższych uwag.

Lokacja	Jest	Uwagi
Skróty: CPX	cyclopiroks	Zapisane rozwinięcie skrótu: ciclopiroxolamine, to zawiesina cyklopiroksu w etanoloaminie
skrót	EGFR	czy nie raczej jako receptory nabłonkowego czynnika wzrostu
skrót	Flucytozyna	5-fluorocytozyna
skrót	INH-Izoniazyd	Hydrazyd kwasu pirydyno-4-karboksylowego (pirydyno-4-karbohydrazyd
s.18 l. 7	tj. wątroba czy śledziona	wątroby czy śledzionej
s.19. l.10	Dysocjację kwaśnego protonu	tzn. którego?
s.19 l. 22	Nowe właściwości stereochemiczne	Proszę uściślić
s. 22 linia ostatnia	3H tymidyny	³ H tymidyny
s.23 l.13	Tlen singlowy	Tlen singletowy
s.24 l.4	delikatne miejsca w genomie	tzn. jakie pary zasad uchodzą za szczególnie wrażliwe
s.25 l.18	detoksyrybonukleotydów	deoksyrybonukleotydów
s.27 l. ostatnia	przez tworzenie ROS przez kompleksy	co to znaczy?
s.28 l.3 od dołu	aż do porów przenikania przepuszczalności	co to znaczy?
s.29 l. 14	powoduje redukcję jednego lub więcej trifosforanów deoksyrybonukleotydowych	co to znaczy?
s.61. l. ostatnia	NHDF: Normal Human Dermal Fibroblasts	Do wykazu skrótów: zdrowe ludzkie fibroblasty skórne
s.62. l. 16	pierścień pirydynowy wytworzył pochodną	?

-prof. Krzysztof Walczak-

