

Recenzja pracy doktorskiej Pani Wiolety Cieřlik

Praca doktorska pod Tytułem "Badania spektrum aktywności biologicznej wybranych pochodnych chinoliny", której autorką jest Pani mgr Wioleta Cieřlik jest poświęcona projektowaniu, syntezie i badaniu aktywności biologicznej ponad 50 związków zawierających odpowiednio podstawiony układ chinoliny jak uprzywilejowany motyw strukturalny. Ważnym, jeśli nie najważniejszym aspektem rozprawy jest analiza relacji struktura a aktywność oraz toksyczność (i inne właściwości) wybranych do badań związków. Badania Pani magister Cieřlik są kontynuacją wieloletnich studiów prowadzonych w Zakładzie Chemii Organicznej nad poszukiwaniem nowych leków wśród molekuł zawierających motyw chinolinowy jako wiodący, o którym wiadomo, że szczególnie często występuje w lekach syntetycznych i związkach naturalnych. Nie ma więc wątpliwości, że tematyka, w której mieści się recenzowana dysertacja jest ważna, a miejsce jej realizacji jest ze wszech miar właściwe. Gromadzenie wiedzy podstawowej odnośnie do relacji struktura a właściwości jest bowiem jednym z głównych zadań zespołów naukowych pracujących w uniwersytetach, podczas gdy wdrażanie nowych farmaceutyków do praktyki medycznej to domena działalności wielkich koncernów farmaceutycznych.

W rozdziale pierwszym Doktorantka przedstawiła cel i zakres swojej dysertacji. Podziwiam zwięzłość tego fragmentu pracy - dwa zdania, łącznie niespełna 6 linijek! Wolałbym nieco szersze przedstawienie pracy, np. na jedną stronę, ale przyznaję, że hasłowo wszystkie elementy badań zostały wymienione.

W rozdziale drugim Autorka na 30 stronach przedstawiła stan wiedzy odnośnie do problemu lekoodporności drobnoustrojów, metod poszukiwania nowych leków, roli tzw. struktur wiodących, w tym szczególną uwagę zwróciła na znaczenie obecności motywu chinolinowego w wielu lekach (i związkach będących w fazie badań) oraz w związkach pochodzenia naturalnego, a więc zagadnień i problemów, którymi zajmowała się w swoich badaniach. Rozdział ten zawiera wszystkie niezbędne elementy, został napisany interesująco, z uwzględnieniem najnowszej literatury. Jedyna uwaga dotyczy sformułowania na stronie 16, moim zdaniem niefortunnego, a dotyczącego porównania chininy i chinidyny. Otóż zmiana konfiguracji na dwóch centrach stereogenicznych to zmiana fundamentalna, szczególnie gdy chodzi o działanie na organizmy żywe. Byłoby zatem dziwne, gdyby aktywności biologiczne chininy i chinidyny były zbliżone.

Rozdział trzeci, liczący 40 stron jest najważniejszy dla całej dysertacji - jest to bowiem opis badań własnych Doktorantki, w tym przede wszystkim komentarze do uzyskanych wyników. W rozdziale 3.1.1. przedstawiono krótkie ale przekonujące uzasadnienie wyboru styrylochinolin do badań pokazując podobieństwo do alliloamin, podkreślając rolę motywu 8-hydroksychinoliny oraz rolę podstawników halogenowych dla aktywności biologicznej w odniesieniu do znanych oraz projektowanych i następnie badanych przez Autorkę związków. Dalej, w rozdziale 3.1.2. Pani Magister opisała otrzymywanie styrylochinolin oraz metody analityczne potwierdzające strukturę otrzymanych związków. Wszystkie otrzymane związki umieszczono w tabeli, jednakże należało wyraźnie pokazać, które są nowe, a które już znane. Można się tego domyślić po lekturze części eksperymentalnej - brak literatury topnienia sugeruje nowy związek, ale tak nie powinno być (recenzenci nie lubią się domyślać). W tabeli tej powinny się również znaleźć wydajności syntez, temperatury topnienia i odnośniki

literaturowe (dla związków znanych). W przypadku niektórych syntez wydajności czystego produktu były bardzo małe, nawet poniżej 10% - to mankamenty tych syntez. Sądzę, iż należało przetestować inne metody zabezpieczania grup hydroksylowych obecnych w substratach - np. poprzez etery allilowe, silylowe lub benzylowe. Tego rodzaju grupy zabezpieczające można łatwo usunąć w łagodnych warunkach, w przeciwieństwie do grup acylowych, w przypadku których deprotekcja jest trudna, co sama Autorka zauważyła. Stwierdzenie, że ^1H NMR (wartość stałej sprzężenia) potwierdza, iż powstają styrylochinoliny o konfiguracji E jest nieco nadmierne. Produkt Z może być bowiem obecny na poziomie 1% a to będzie trudne do zauważenia. Także wynik analizy rentgenostrukturalnej nie stanowi potwierdzenia, iż konfiguracja produktu jest wyłącznie E. Dowodzi ona, że uzyskano monokryształ styrylochinoliny o konfiguracji E; produkt Z mógł nie krystalizować. Otrzymane styrylochinoliny testowano następnie na aktywność przeciwgrzybiczą wobec kilku gatunków grzybów uzyskując zróżnicowane wyniki, w tym w kilku przypadkach bardzo obiecujące. Co ważne struktura najaktywniejszych pochodnych potwierdziła założenia Autorki o decydującej roli podstawników takich jak grupa hydroksylowa i atomy chloru (we fragmencie chinolinowym) oraz grupa etyksylowa (w podstawniku fenylowym) dla aktywności lub jej braku w odniesieniu do testowanych związków. Chodzi przy tym nie tylko o obecność podstawników, ale także ich rozmieszczenie w strukturze testowanych związków. To ważne osiągnięcia ocenianej dysertacji. W rozdziale 3.1.4 Pani Magister opisała testy odnośnie do zdolności hamowania procesu fotosyntetycznego transportu elektronów przez styrylochinoliny wykazując, jakie parametry wynikające ze struktury badanych związków są istotne, co jest godne podkreślenia. W podrozdziale 3.1.5. przedstawiono wyniki testów aktywności przeciwbakteryjnej zsyntezowanych styrylochinolin wykazując istotne zależności pomiędzy strukturą a aktywnością, co również jest ważnym osiągnięciem pracy. Co ciekawe i ważne, stanowiące istotne osiągnięcie naukowe pracy, i poszerzające (ugruntowujące) wiedzę o relacjach struktura a aktywność dla tej grupy związków potwierdzono, że szkielet hydroksydichlorochinoliny jest kluczowy dla właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych tej klasy połączeń. Z kolei w podrozdziale 3.1.6. Doktorantka omówiła właściwości przeciwnowotworowe oraz cytotoksyczność styrylochinolin zwracając szczególną uwagę na relacje struktura a właściwości, co jest istotą tego rodzaju badań. Za ważne uznać należy wykazanie, iż rodzaj i położenie podstawników w strukturach testowanych związków ma decydujący wpływ na ich aktywność przeciwnowotworową i toksyczność (znów motyw hydroksydichlorochinoliny okazał się najciekawszy). Jednakże wniosek, że im słabszy efekt rezonansowy podstawnika tym większa aktywność jest nadmierny. Po pierwsze nie zbadano wpływu podstawników takich jak NO_2 i CN (co sama Autorka przyznaje) i po drugie efekt rezonansowy to tylko część efektu elektronowego podstawnika (jest jeszcze efekt indukcyjny). Dopiero superpozycja obu tych efektów (jakże różna np. dla grupy MeO w pozycji para i meta pochodnych benzenu) daje pogląd na elektronowe oddziaływanie podstawnika na centrum reakcji (centrum oddziaływania). W rozdziale 3.2. opisano projektowanie, otrzymywanie oraz testy aktywności przeciwgrzybiczej nowych analogów terbinafiny i butenafiny. Gdy chodzi o syntezę to zwracam uwagę, iż stosowanie określeń "odczyn zasadowy" czy też kompleks fosfonowo-palladowy jest niewłaściwe. Otrzymane pochodne okazały się nieaktywne, jednak Autorka zaproponowała przekonujące wyjaśnienie braku aktywności badanych związków co jest godne odnotowania i uznania. W rozdziale 3.3. Doktorantka omówiła projektowanie, syntezę i właściwości biologiczne triazoli zawierających motyw chlorochinolinowy. Gdy chodzi o otrzymywanie to drobne uwagi: cp to cyklopentadienyl a nie cyklopentadien; dipodstawione a nie dwupodstawione (triazole). Testy biologiczne pokazały, że połączenie motywu chinolinowego oraz triazolowego nie dało spodziewanego efektu gdy chodzi o aktywność przeciwgrzybiczą. Nie jest to jednak z mojej strony uwaga krytyczna; wiadomo bowiem, że skuteczność projektowania aktywnych układów jest nadal ograniczona. Badane związki wykazały jednak znaczące właściwości hamujące względem bakterii z rodziny *Mucobakterium* (Prątki), to jednak jest raczej efekt przypadku a nie projektowania. Ta uwaga także nie ma

charakteru krytycznego - gratuluję trafnego wyboru obiektów badawczych, bez względu na uzasadnienie.

Rozdział 4 będący podsumowaniem wyników badań jest napisany komunikatywnie, jasno pokazano najważniejsze wyniki badań; szczególnie ważny jest wniosek 9. Uwagi krytyczne i polemiczne: w punkcie 4 Doktorantka stwierdza, że "Dodatkowo korzystny dla aktywności jest podstawnik elektronodonorowy w pozycji orto pierścienia fenyłowego". Może to dotyczyć grupy hydroksylowej i etoksyłowej ale nie chloru. Wniosek 6 jest nieuprawniony; chodzi o efekt elektronowy (a nie tylko rezonansowy) podstawników, a to jest bardziej złożone. Analiza tego efektu jest nieco zbyt powierzchowna.

W części eksperymentalnej pracy, na prawie 50 stronach Doktorantka opisała otrzymywanie, w tym oczyszczanie badanych związków oraz przedstawiła dane potwierdzające ich czystość i strukturę. Ta część pracy jest napisana w zasadzie bardzo dobrze, zasadniczo nie ma wątpliwości odnośnie do czystości i struktury zsyntezowanych pochodnych chinoliny, triazolu i innych związków otrzymanych przez Panią Magister. Są dane ^1H i ^{13}C NMR, MS i HRMS oraz temperatury topnienia i niekiedy czystość oznaczona za pomocą HPLC (podawana ze zbyt dużą dokładnością). Użyłem określenia "w zasadzie" ponieważ w kilku przypadkach mam wątpliwości - proszę o ich wyjaśnienie. Np. związek 22: t.t. = 281°C (z rozkładem), podczas gdy literatura podaje 195°C (nie wiadomo, czy z rozkładem). Związek 24: t.t. = 235°C , gdy literatura podaje $215\text{-}217^\circ\text{C}$ - a więc niższą! Dodatkowo czystość związku 24 jest umiarkowana (94%) co zupełnie nie koresponduje z wyższą od literaturowej temperaturą topnienia. Również t.t. związku 28 znacznie różni się od literaturowej (o 11°C), ale być może otrzymano bardziej czysty preparat. Podawanie czystości HPLC z dokładnością do czterech miejsc po przecinku nie jest zasadne, szczególnie, że nie stosowano, jak sądzę, wzorców. Także temperatury topnienia powinny być zawsze podane w formie przedziału "od - do"; topnienie "w punkcie" jest praktycznie niemożliwe.

Rozdział szósty to cytowana literatura, w sumie 160 pozycji, w tym doniesienia z roku 2014 i 2015, co świadczy dobrze o śledzeniu przez Doktorantkę najnowszych osiągnięć innych zespołów. Znajduję tu drobne uchybienia - druk rozstrzelony w przypadkach cytowania stron internetowych oraz błędy w kilku skrótach nazw czasopism, ale to mało istotne.

Reasumując, moja oceny pracy doktorskiej Pani mgr Wiolety Cieślik jest bardzo wysoka co oznacza, iż zawarte w recenzji uwagi krytyczne i polemiczne nie umniejszają jej wartości naukowej. Zaprojektowano, zsyntezowano a następnie poddano różnorodnym testom na aktywność biologiczną ponad 50 nowych pochodnych chinoliny. Wyniki testów poddano pogłębionej analizie, dzięki której poszerzono wiedzę odnośnie do relacji struktura a właściwości, co jest szczególnie istotne. Niektóre z testowanych związków wykazały wysoką aktywność co jest kolejną zaletą i sukcesem pracy, a co wcale nie musiało się zdarzyć. Wyniki badań prezentowano na wielu konferencjach naukowych (krajowych i międzynarodowych) oraz opublikowano w dobrych i bardzo dobrych czasopismach. Efektem badań są także patenty i zgłoszenia patentowe co potwierdza ich innowacyjność. Godnymi uznania elementami dorobku naukowego Doktorantki są również staże naukowe odbyte w kraju i za granicą, stypendia naukowe oraz w szczególności uzyskanie grantu "Preludium". Nie ma więc wątpliwości, iż praca doktorska Pani mgr Wiolety Cieślik spełnia wszystkie formalne i zwyczajowe wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Wobec powyższego rekomenduję Radzie Naukowej Instytutu Chemii Uniwersytetu Śląskiego dopuszczenie Pani mgr Wiolety Cieślik do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, zważywszy na wymienione przeze mnie osiągnięcia Pani Magister wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej dysertacji.

