



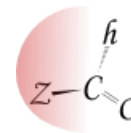
Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej

Katedra Chemii Organicznej

ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa

dr hab. inż. Włodzimierz Buchowicz, prof. uczelni

tel.: +48 22 234 5150; e-mail: wladzimierz.buchowicz@pw.edu.pl



Warszawa, 5.11.2024

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej pana magistra inżyniera Przemysława Biegańskiego zatytułowanej
„Metaloorganiczne pochodne typu „click” erlotynibu oraz AZT – synteza i aktywność
biologiczna”

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana pod opieką profesora dr hab. Konrada Kowalskiego na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego w Katedrze Chemii Organicznej.

Rozprawa doktorska pana mgr. inż. Biegańskiego ma formę zbioru powiązanych tematycznie publikacji z komentarzem i częścią doświadczalną. W skład rozprawy wchodzi kopie dwóch artykułów opublikowanych w bardzo dobrych międzynarodowych czasopismach (*Bioorganic Chemistry* oraz *Inorganic Chemistry*) stanowiących podstawę tej rozprawy, a także oświadczenia współautorów tych publikacji. Już po złożeniu rozprawy została przyjęta do druku w *Organometallics*, z datą 8 lipca 2024, trzecia praca składająca się na rozprawę doktorską pana mgr. inż. Biegańskiego. Należy podkreślić, że wszystkie trzy publikacje są wieloautorskie i mają charakter interdyscyplinarny, a ich istotną wartość naukową stanowią badania aktywności biologicznej otrzymanych związków. Dwie z tych publikacji, to jest oznaczona jako P1 (*Bioorganic Chemistry*) oraz praca P3 w *Organometallics* dotyczą pochodnych erlotynibu, a trzecia, oznaczona jako P2 (*Inorganic Chemistry*), jest poświęcona pochodnym azydodotymidyny (AZT). We wszystkich trzech publikacjach pan mgr. inż. Biegański jest pierwszym autorem. Po zapoznaniu się z deklaracjami współautorów publikacji składających się na recenzowaną pracę doktorską można jednoznacznie stwierdzić, że głównym zadaniem badawczym Doktoranta była synteza i identyfikacja spektroskopowa nowych metaloorganicznych koniugatów erlotynibu oraz azydodotymidyny (AZT).

Jednym z wiodących kierunków badań w chemii biometaloorganicznej jest projektowanie, synteza i badanie właściwości nowych połączeń ferrocenu lub innych, trwałych kompleksów metali przejściowych, ze związkami organicznymi o znanej aktywności terapeutycznej. Jedną z najczęściej stosowanych reakcji do tworzenia takich hybryd nieorganiczno-organicznych jest „click chemistry”, czyli dipolarna cykloaddycja [3+2] alkinu i azydku. Ta reakcja jest zwykle katalizowana jonami miedzi lub rutenu i charakteryzuje się wysoką selektywnością, prowadząc do izomerów 1,4 lub 1,5 1,2,3-triazoli, zależnie od zastosowanego katalizatora. Rozprawa doktorska pana mgr. inż. Biegańskiego bardzo trafnie wpisuje się w ten aktualny nurt badawczy. Za obiekt swoich doświadczeń Doktorant wybrał erlotynib, czyli lek stosowany przeciwko nowotworom płuc. Modyfikacje tego związku mogą doprowadzić do odkrycia nowych, bardziej skutecznych farmaceutyków, co jest szczególnie istotne wobec powstawania lekooporności komórek nowotworowych. Znacząca część pracy i jedna z publikacji jest poświęcona połączeniom AZT, czyli leku przeciwwirusowego, stosowanego w leczeniu AIDS. Również w przypadku tego związku, główną metodą syntetyczną wybraną przez Doktoranta jest dipolarna cykloaddycja [3+2] „click chemistry”, co jest zrozumiałe z uwagi na obecność azydku w cząsteczce AZT. W tym miejscu chciałem

zwrócić uwagę na fakt, że Doktorant niezbyt obszernie uzasadnił, dlaczego w jego rozprawie połączono pochodne tych dwóch związków, to jest erlotynibu i AZT. Lektura tej rozprawy wskazuje, że takie podejście wynikało przede wszystkim ze stosowania tej samej metody syntetycznej, to jest „*click chemistry*”.

Komentarz rozpoczyna się od rozdziału poświęconego wprowadzeniu do tematyki badawczej. Doktorant opisuje tutaj zagadnienia związane z chorobami nowotworowymi i najczęściej stosowanymi terapiami w ich leczeniu. W dalszych podrozdziałach Doktorant przedstawia własności erlotynibu i opisane dotychczas w literaturze metaloorganiczne pochodne tego związku. Kolejny rozdział jest poświęcony azydodotymidynie i w szerszym ujęciu znanym metaloorganicznym pochodnym nukleozydów. Wstęp jest napisany bardzo poprawnie i przejrzysto, co świadczy o znakomitym zrozumieniu tej tematyki przez Doktoranta.

Hipoteza badawcza jest zwięźle przedstawiona w osobnym rozdziale rozprawy. Szczególnie interesujące jest to, że Doktorant założył, że projektowane przez niego metaloorganiczne koniugaty erlotynibu mogą wykazywać podwójny mechanizm działania. Pierwszy, polegający na inhibicji receptorów EGFR, czyli taki jak dla erlotynibu, i drugi, polegający na generowaniu aktywnych form tlenu. Ten drugi mechanizm jest często postulowany dla wyjaśnienia cytotoksyczności pochodnych ferrocenu. Należy jednak zwrócić uwagę, że mechanizm aktywności biologicznej pochodnych ferrocenu często pozostaje dyskusyjny, a w wielu przypadkach autorzy publikacji ograniczają swoje wyniki do stwierdzenia cytotoksyczności, bez prób zrozumienia jej przyczyn. Osiągnięcie takiej addytywności w działaniu potencjalnego leku byłoby niewątpliwie sukcesem i mogło zwiększyć skuteczność terapii przeciwnowotworowych. Uzasadnienie podjęcia badań nad ferrocenyłowymi pochodnymi AZT jest niezbyt przekonujące. Zastosowanie reakcji dipolarnej cykloaddycji [3+2] do osiągnięcia tych ambitnych celów syntetycznych jest w pełni zrozumiałe ze względu na obecność odpowiednich grup funkcyjnych w substratach, to jest etynylowej w erlotynibie i azydku w AZT.

Wyniki własne zostały zwięźle przedstawione w szóstym rozdziale komentarza, zgodnie z podziałem na trzy publikacje składające się na recenzowaną rozprawę. Syntezy ferrocenyłowych pochodnych erlotynibu, oznaczonych w komentarzu numerami 104-108, przebiegły zgodnie z oczekiwaniem. Produkty tych reakcji zostały scharakteryzowane standardowymi technikami spektroskopowymi.

Na schemacie 16 Doktorant przedstawił bardzo ciekawe i zaskakujące wyniki reakcji, w której otrzymał trzy pochodne AZT, to jest związki 119, 120 i 121. Wynik tej syntezy nie jest zgodny z dwuetapową koncepcją otrzymania związku 119, przedstawioną na schemacie 15, w której należało zastosować reakcję Sonagashiry. W kolejnych doświadczeniach Doktorant starał się wyjaśnić w jaki sposób powstaje związek 119 (schematy 18 i 19), jednak bez powodzenia. Zastanawiające jest to, że jodopochodne 121 i 123 nie reagowały z etynyloferrocenem w warunkach reakcji Sonagashiry. Szkoda, że Doktorant nie podjął dalszych prób wyjaśnienia tego zagadnienia. W publikacji P2 również nie znalazłem szerszego komentarza na ten temat. Wydaje się, że wobec wyodrębnienia jodopochodnej 121 z niską wydajnością można było przeprowadzić badania kinetyczne tej reakcji, na przykład za pomocą spektroskopii NMR, w celu sprawdzenia czy rzeczywiście związek 119 powstaje z pochodnej 121 środowisku reakcji. Oczekiwałbym podjęcia tego tematu w czasie publicznej obrony rozprawy.

Na stronie 69 komentarza Autor stwierdza, że w przypadku związków 119 i 122 wykryto obecność dwóch konformerów w cieple stałym za pomocą badań rentgenograficznych

monokryształów. Jednak nie określił czym różnią się te konformery, na przykład przez podanie wielkości kątów torsyjnych dla wiązań, które są w tej kwestii istotne. Odpowiednie rysunki 34 i 35 są niezbyt czytelne i trudno jest dostrzec różnice pomiędzy tymi konformerami. Nieco więcej informacji na ten temat dostarcza publikacja P2, a w szczególności materiał uzupełniający do niej. Z ciekawości naukowej chciałbym dowiedzieć się w czasie publicznej obrony czy dla związków 119 i 122 podjęto próby pomiarów niskotemperaturowych NMR (w innym rozpuszczalniku niż DMSO) w celu zaobserwowania dynamiki konformacyjnej tych cząsteczek w roztworze.

W publikacji P3 doktorant otrzymał ferrocenylowe, rutenocenylowe i renowe pochodne erlotynibu. Analiza schematów 22-29 wskazuje, że zaplanowane syntezy przebiegły zgodnie z oczekiwaniem i z zadowalającymi wydajnościami. Otrzymane związki scharakteryzowano standardowymi technikami spektroskopowymi (^1H i ^{13}C NMR, ESI HRMS, IR, analizy elementarne).

Część doświadczalna komentarza jest napisana tylko dla związków przedstawionych w pracy P3, podczas gdy pozostałe szczegóły eksperymentalne można odszukać w publikacjach P1 i P2. Części doświadczalne w publikacjach P1 i P2 oraz część doświadczalna komentarza są napisane bardzo starannie i dokładnie. Identyfikacja związków nie budzi moich wątpliwości, a kopie widm NMR są dostępne w materiałach uzupełniających do wspomnianych wyżej publikacji.

Z obowiązku recenzenta chciałbym zwrócić uwagę na nieliczne niedociągnięcia edytorskie w komentarzu. Numeracja związków jest niekonsekwentna: na wielu schematach związek o niższym numerze został otrzymany ze związku o wyższej numeracji, na przykład na schemacie 11, związki 104 i 105 otrzymano odpowiednio ze związków 109 i 110. Taka kolejność numerowania związków nieco komplikuje przejrzystość śledzenia postępów w pracy syntetycznej Doktoranta. Podobnie synteza związku 111 jest opisana dopiero na schemacie 14, podczas gdy związek 111 pojawia się po raz pierwszy na schemacie 12. Ponadto, wydajności produktów byłoby lepiej zapisywać bezpośrednio na schematach, na przykład obok numerów związków, zamiast w oddzielnych tabelach, które w wielu przypadkach znajdują się dopiero na kolejnej stronie komentarza. Inne drobne niedociągnięcia dostrzeżone przeze mnie w części doświadczalnej to: symbolem mililitra jest mL (nie ml), symbole wielkości fizycznych powinny być pisane kursywą (δ , m/z). Nie podano temperatury w jakiej rejestrowano widma NMR i nie zmierzono temperatur topnienia dla związków wyodrębnionych jako ciała stałe. Poza tym komentarz jest napisany bardzo starannie, czytelnie i poprawnie pod względem edytorskim oraz językowym.

Podsumowanie jest napisane zwięźle, w punktach i stanowi przede wszystkim powtórzenie najważniejszych sukcesów syntetycznych uzyskanych przez Doktoranta. W tym miejscu są też informacje, które z otrzymanych pochodnych wykazują aktywność przeciwnowotworową lub przeciwwirusową, razem z postulowanym mechanizmem ich działania, ale bez podania konkretnych wartości liczbowych, takich jak IC_{50} . W tym miejscu komentarza zabrakło mi szerszego spojrzenia na tematykę rozprawy i wyniki opisane w pracy, w szczególności wskazania kierunków dalszych badań. Czy zdaniem Doktoranta można zwiększyć aktywność biologiczną ferrocenylowych pochodnych erlotynibu i AZT, a jeżeli tak to w jaki sposób? Jak wygląda aktywność otrzymanych pochodnych na tle innych znanych w literaturze ferrocenylowych hybryd organiczno-nieorganicznych, na przykład ferrocifenoli?

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska reprezentuje bardzo wysoki poziom naukowy i spełnia wymagania zwyczajowe i ustawowe

stawiane pracom doktorskim w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku "Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce" (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późniejszymi zmianami).

Wobec tego wnioskuję do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki chemiczne o dopuszczenie pana magistra inżyniera Przemysława Biegańskiego do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Ponadto, mając na uwadze wysoki poziom dyskusji naukowej, opublikowanie wyników wiodących czasopismach o szerokim zasięgu, *Bioorganic Chemistry*, *Inorganic Chemistry*, a także już po złożeniu rozprawy w *Organometallics*, interdyscyplinarny charakter publikacji, współpracę międzynarodową, oraz zastosowanie zaawansowanych technik badawczych, a także znaczenie i aktualność badanej tematyki, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.

Z wyrazami szacunku

dr hab. inż. Włodzimierz Buchowicz, prof. uczelni