



Prof. dr hab. Grzegorz Schroeder

Poznań, 29.05.2017 r.

RECENZJA

pracy doktorskiej pani mgr Elżbiety Magdaleny Wnuk pt. „Synteza nowych pochodnych 9,10-antrachinonu zawierających heterocykliczne fragmenty amin oraz badania właściwości elektrochemicznych, spektroskopowych i biologicznych wybranych pochodnych” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Tadeusza Ossowskiego.

Choroby nowotworowe stanowią jedną z najczęstszych przyczyn śmierci. Według raportu Światowej Organizacji Zdrowia na świecie, co roku na choroby nowotworowe umiera ponad 7 milionów osób, co stanowi 13% wszystkich przypadków śmierci. Poszukiwanie nowych chemioterapeutyków selektywnie działających na komórki nowotworowe jest jednym z kierunków w chemii i farmacji, który bazując na znanych lub nowo syntetyzowanych związkach chemicznych testuje je w terapii nowotworów w badaniach *in vivo* i *in vitro*. Na podstawie literatury chemicznej i medycznej wiadomo, że antrachinony wykazują działanie antyoksydacyjne i przeciwnowotworowe. Obecnie pochodne antrachinonów stosowane są już w chemioterapii niektórych nowotworów, czego przykładem mogą być antybiotyki antracyklinowe.

Przedłożona praca doktorska pani mgr Elżbiety, Magdaleny Wnuk pt. „Synteza nowych pochodnych 9,10-antrachinonu zawierających heterocykliczne fragmenty amin oraz badania właściwości elektrochemicznych, spektroskopowych i biologicznych wybranych pochodnych” wpisuje się w nurt badań poszukujących nowych, potencjalnych cytostatyków. Praca obejmuje swoim zakresem zarówno syntezę nowych pochodnych antrachinonu, jak i fizykochemiczne badania podstawowe oraz badania aktywności biologicznej na wybranych liniach komórkowych.

ul. Umultowska 89b, 60-780 Poznań
Tel. 604-817-938
NIP 777 00 06 350, REGON 000001293
wchem@amu.edu.pl

www.chemia.amu.edu.pl

Praca doktorska została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Tadeusza Ossowskiego oraz promotora pomocniczego dr Pawła Niedziałkowskiego w Katedrze Chemii Analitycznej, Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego.

Praca doktorska została przygotowana w tradycyjnej formie, liczy 174 strony maszynopisu i jest podzielona na klasyczne rozdziały. W części literaturowej rozprawy doktorskiej obejmującej 50 stron maszynopisu, Doktorantka przedstawiła podstawowe informacje dotyczące:

- właściwości i zastosowania 9,10-antrachinonu i jego pochodnych,
- chorób nowotworowych, oraz
- procedury badań *in vitro* potencjalnych chemioterapeutyków.

W ocenie Recenzenta w tej części rozprawy doktorskiej Autorka pracy zbyt mało uwagi poświęciła ważnemu zagadnieniu jakim jest rozgraniczenie pojęć nowotwór i rak. Nowotwór to proces rozrostu komórek, który nie podlega naturalnym mechanizmom kontroli. Komórki dzielą się, tworzą skupiska i wytwarza się guz nowotworowy. W tym przypadku możemy mieć do czynienia z dwoma rodzajami nowotworów: nowotworem niezłośliwym i złośliwym. Rak to termin często używany dla określenia nowotworu, oznacza on jednak tylko jeden z jego typów, który rozwija się z komórek naskórka albo komórek nabłonkowych różnych organów ciała takich jak: skóra, gruczoły, błona śluzowa, błona wyściełająca układ pokarmowy, tarczyca czy trzustka. Z punktu widzenia profilaktyki i metod leczenia nowotworów to rozgraniczenie jest niezmiernie istotne.

Ważnym rozdziałem tej części pracy jest fragment dotyczący właściwości i zastosowania piperydyny i piperazyny oraz ich pochodnych w farmakologii. Część literaturowa jest przygotowana w oparciu o 121 prac przeglądowych i oryginalnych, obejmujących najważniejsze prace z tego zakresu głównie z okresu ostatnich dwudziestu lat.

Pochodne piperydyny i piperazyny wykazują dużą, ale również zróżnicowaną aktywność biologiczną w stosunku do układów biologicznych i z tego powodu stanowią ważny składnik preparatów farmakologicznych. Na podstawie dotychczasowych badań i wiedzy medycznej wydaje się, że dużą aktywność biologiczną powinny posiadać związki zawierające w swojej strukturze pochodne 9,10-antrachinonu oraz fragmenty heterocyklicznych amin (pirydyny i piperazyny). W tym nurcie badań sformułowano cel pracy doktorskiej. Doktorantka zaplanowała opracowanie wydajnych metod syntezy pochodnych 9,10-antrachinonu

zawierających różne ilości i rozmieszczenie podstawników aminowych w strukturze 9,10-antrachinonu oraz opracowanie metody syntezy i otrzymanie związków zawierających fragmenty aminokwasów przyłączonych do atomu azotu w pozycji 4 pierścienia piperazyny w strukturze 1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinonu. Dla nowo otrzymanych związków zaplanowano przeprowadzenie podstawowych badań fizykochemicznych w zakresie spektroskopii UV-Vis i elektrochemii oraz badań aktywności na liniach komórkowych HL-60 i HL-60/MX2 ludzkiej białaczki. Badania zaplanowano i przeprowadzono w ramach współpracy z dr hab. Joanną Wietrzyk w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Badaniami objęto 5 pochodnych 9,10-antrachinonu oznaczonych symbolem S1-S5. Badania prowadzono również, w tym samym ośrodku, na liniach komórek ludzkiego gurczoraka jelita grubego LoVo i LoVo/DX w celu ustalenia wpływu nowo otrzymanych związków (S12-S31) na zahamowanie zdolności namnażania komórek, czyli proliferację komórek tych linii. Jako układ referencyjny stosowano cytostatyki komercyjne: cisplatynę, mitoksanton i doxorubicynę.

Część eksperymentalna to 47 stronicowe opracowanie przedstawiające przede wszystkim metody syntezy 31 nowych pochodnych 9,10-antrachinonu, techniki badań aktywności biologicznej na liniach komórkowych i procedury pomiarów fizykochemicznych.

Rozdział „Dyskusja i omówienie wyników”, obejmuje 62 strony maszynopisu. W tej części pracy pani mgr Elżbieta Wnuk szczegółowo omówiła proces optymalizacji metod syntezy nowych pochodnych 9,10-antrachinonu. W przypadku syntezy piperydynowych (S1-S5) pochodnych udało się otrzymać nowe związki z wydajnościami od 26-97%, natomiast w przypadku pochodnych piperazynowych (S6-S11) z wydajnościami od 12-86%. Pozostałe związki (S12-S31) otrzymywano z podobnymi wydajnościami. Zaproponowane metody syntezy opierają się głównie na reakcji substytucji aminy do odpowiednio podstawionego 9,10-antrachinonu.

W tego typu reakcjach wydajność procesu można bardzo łatwo podwyższyć przeprowadzając syntezę nie w warunkach klasycznych, a prowadząc reakcje w znacznie krótszym czasie, w łaźni mikrofalowej. Czy takie próby optymalizacji były podjęte?

Kolejna grupa związków otrzymywana w wyniku reakcji 1-(piperazyn-1-ylo)-9,10-antrachinonu i aminokwasów jest bardzo interesująca, ponieważ otrzymane układy są funkcjonalizowanymi aminokwasami ze zmodyfikowaną grupą aminową lub kwasową. Takie

struktury winny wykazywać potencjalnie dużą aktywność biologiczną. Takie układy mogą być łatwo użyte do znakowania peptydów i białek antrachinonem. Aminokwasy i ich pochodne to związki optycznie czynne o konfiguracji L lub D, których aktywność biologiczna zależy od typu konfiguracji. Planując syntezę związków o dużej aktywności biologicznej warto przeprowadzić syntezę z każdą z tych form niezależnie, w celu ustalenia, który izomer D czy L wykazuje wyższą aktywność biologiczną. Czy w trakcie realizacji pracy takie badania były prowadzone?

Wszystkie otrzymane związki oczyszczano w skali preparatywnej metodą HPLC na fazach odwróconych. Tabele 12 i 14 zawierają zbiorcze zestawienie warunków oczyszczania związków. Budowę związków potwierdzano metodami spektroskopowymi stosując: ^1H NMR, FTIR oraz spektrometrię mas (MALDI). Czystość i trwałość związków chemicznych w różnych środowiskach w badaniach biologicznych ma fundamentalne znaczenie. Powstaje pytanie, dlaczego nie wykonano pomiarów ^{13}C NMR oraz jaka jest trwałość związku w czasie, zwłaszcza w takim rozpuszczalniku jak stosowany DMSO?

Przeprowadzone badania przez panią mgr Elżbietę Wnuk można podsumować w następujących stwierdzeniach:

1. opracowano metody syntezy i otrzymano 31 piperydynowych i piperazynowych pochodnych 9,10- antrachinonu;
2. przeprowadzono badania *in vitro* na wybranych liniach komórkowych dla wszystkich otrzymanych układów w celu ustalenia ich aktywności biologicznej. Najwyższe aktywności biologiczne wykazywały związki oznaczone symbolami (S1, S6, S8, S12-14, S29-31);
3. wyznaczono podstawowe parametry spektroskopowe dla wszystkich syntetyzowanych związków;
4. wyznaczono potencjał redukcyjno-utleniający, techniką cyklicznej voltamperometrii, w roztworach dimetylosulfotlenku dla badanych układów oraz ustalono mechanizm tych przemian;
5. na podstawie wyznaczonych właściwości elektrochemicznych dla wybranych układów charakteryzujących się dużą aktywnością biologiczną próbowano znaleźć korelację pomiędzy parametrami elektrochemicznymi a aktywnością biologiczną.

Pomimo, że aktywność biologiczna badanych związków w stosunku do komórek nowotworowych jest zróżnicowana, ale i niższa w stosunku do komercyjnie obecnie stosowanych leków (cisplatyny, mikoksantonu), to praca wnosi dużo bardzo ważnych informacji o działaniu tej grupy związków na komórki nowotworowe. Otrzymanie i przebadanie takiej szerokiej gamy pochodnych 9,10-antrachinonu jest dla dalszych badań poszukiwania nowych skuteczniejszych cytostatyków istotne.

Cała praca doktorska napisana jest poprawnym językiem uwzględniającym fachowe słownictwo chemiczne. Rezultaty pracy doktorskiej wskazują, że cel pracy postawiony we wstępie rozprawy został w pełni zrealizowany, a uzyskane wyniki znacznie poszerzają wiedzę o chemii antrachinonów, zarówno z zakresu syntezy, jak i potencjalnego zastosowania tych związków, jako leków przeciwnowotworowych.

Dorobek naukowy pani mgr Elżbiety Wnuk składa się z: trzech prac oryginalnych, opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej (Acta Cryst, Spectrochimica Acta) oraz co warto szczególnie podkreślić dziewięciu polskich zgłoszeń patentowych dotyczących sposobu otrzymywania nowych pochodnych 9,10-antrachinonu. We wszystkich zgłoszeniach patentowych pani mgr E. Wnuk jest pierwszym autorem.

Przedstawiona rozprawa doktorska udowodniła, że Doktorantka posiadała umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz interpretacji uzyskanych wyników. Postępowanie doktorskie prowadzone jest w postępowaniu o nadaniu stopnia doktora w zakresie nauk chemicznych, dyscyplina chemia.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska pani mgr Elżbiety Magdaleny Wnuk pt. „Synteza nowych pochodnych 9,10-antrachinonu zawierających heterocykliczne fragmenty amin oraz badania właściwości elektrochemicznych, spektroskopowych i biologicznych wybranych pochodnych” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Tadeusza Ossowskiego oraz promotora pomocniczego dr Pawła Niedziałkowskiego spełnia zwyczajowe i prawne wymogi stawiane pracom doktorskim zgodnie z przepisami ustawy z dnia 14 marca 2003 roku „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” (Dz. U. nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami) i wnioskuję do Rady Wydziału Chemii, Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

G. Schroeder

Prof. dr hab. G. Schroeder