

prof. dr hab. Jacek Ścianowski

Toruń, 18 listopada, 2024r.

Katedra Chemii Organicznej, Wydział Chemii,

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

87-100 Toruń, ul. Gagarina 7

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Przemysława Biegańskiego pt. *„Metaloorganiczne pochodne typu „click” erlotynibu oraz AZT – synteza i aktywność biologiczna”*, wykonana zgodnie z uchwałą Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki chemiczne z dnia 11 września 2024 roku. Praca była realizowana pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Konrada Kowalskiego w Katedrze Chemii Organicznej Uniwersytetu Łódzkiego i przedstawiona jako monotematyczny zbiór publikacji i materiałów wysłanych do publikacji wraz z komentarzem.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pana mgr inż. Przemysława Biegańskiego składa się z dwóch publikacji oraz materiału zawartego w trzeciej pracy wysłanej do druku. Na etapie składania pracy doktorskiej trzecia publikacja była w recenzji, natomiast już w trakcie recenzji dysertacji została wydrukowana. Materiał wchodzący w skład pracy doktorskiej został opublikowany w latach 2022-2024, w renomowanych czasopismach *Bioorganic Chemistry* (IF = 5,10), *Inorganic Chemistry* (IF = 4,60) i *Organometallics* (IF = 2,80), znajdujących się na liście A Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Σ = 340 pkt. MNiSW). Sumaryczny IF i punkty MNiSW świadczą o dobrym poziomie recenzowanej pracy. Do publikacji został załączony 89 stronicowy komentarz składający się z wprowadzenia literaturowego w tematykę badawczą, hipotezy badawczej i uzasadnienia podjęcia badań, omówienia wyników badań własnych z podziałem na poszczególne prace, podsumowania i wniosków końcowych, części doświadczalnej dotyczącej trzeciej publikacji i bibliografii. W nadesłanych materiałach znajdują się również streszczenia w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów, życiorys oraz informacja o przebiegu pracy naukowej i organizacyjnej Doktoranta. Z załączonych informacji

wynika, iż Doktorant jest dodatkowo współautorem jednej pracy przeglądowej w *RSC Chemical Biology* (IF = 4,10). Był stypendystką w grantie NCN Opus 15 i kierownikiem grantu NCN PRELUDIUM 20 „Zwalczanie raka płuc za pomocą metaloorganicznych koniugatów erlotynibu – synteza i badania *in vitro*”. Wyniki badań prezentował na konferencjach o zasięgu krajowym i międzynarodowym w formie 2 komunikatów ustnych i 4 posterów. Do pracy dołączone zostały kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wraz z oświadczeniami współautorów, z których wynika, iż doktorant miał wiodącą rolę w prowadzonych eksperymentach dotyczących syntezy nowych pochodnych metaloorganicznych, ustalaniu struktury otrzymanych związków w oparciu o analizę spektroskopową i przygotowywaniu danych do publikacji. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż jest pierwszym autorem we wszystkich przedstawionych do oceny pracach.

Celem badań zaprezentowanych w ramach pracy doktorskiej była synteza nowych pochodnych metaloorganicznych, przebadanie ich właściwości fizykochemicznych oraz zbadanie właściwości antynowotworowych i antywirusowych. Tematyka ta wpisuje się w badania prowadzone od lat w grupie prof. dr hab. Konrada Kowalskiego dotyczące syntezy połączeń metaloorganicznych, w tym pochodnych ferrocenowych oraz ich aplikacji w syntezie i chemii medycznej. Problematyka podjęta w ramach pracy doktorskiej jest bardzo aktualna. Poszukiwanie nowych efektywnych leków, szczególnie wykorzystywanych w terapii leczenia nowotworów płuc i opracowanie nowoczesnych leków do leczenia zakażeń wirusami SARS-CoV-1/2 to współczesne wyzwania cywilizacyjne.

Badania doświadczalne Doktorant zaprezentował w formie dwóch opublikowanych prac i jednej pracy w przygotowaniu do druku. Głównym celem badań było opracowanie metaloorganicznych pochodnych znanych leków erlotynibu i AZT z wykorzystaniem katalizowanej miedzią lub rutenem reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji pomiędzy azydkami i alkinami tzw. reakcji „click”. Drugi etap badań to głównie przebadanie właściwości antynowotworowych i antywirusowych otrzymanych pochodnych oraz podjęcie próby wyjaśnienia mechanizmu ich działania.

Pierwsza praca omawia syntezę pochodnych ferrocenyliowych erlotynibu. Nowe związki zostały otrzymane w wyniku reakcji erlotynibu z odpowiednimi azydkowymi pochodnymi ferrocenu. W zależności od użytego katalizatora miedziowego lub rutenowego tworzyły się pochodne 1-4 lub 1-5 podstawione w układzie triazolowym. Strukturalnie

otrzymane pochodne różniły się również budową łącznika pomiędzy fragmentem ferrocenowym, a pierścieniem triazolowym (ilością grup CH₂ i ugrupowaniem C=O). Produkty zostały otrzymane z wydajnościami od 46-82%. Budowa ich została potwierdzona analizą widm IR, ¹H, ¹³C NMR oraz HRMS i analizą elementarną. Przebadana została aktywność przeciwnowotworowa otrzymanych pochodnych na liniach komórkowych raka płuc A549, H1395, H1975 i H1650. W badaniach biologicznych wykazano, że najbardziej aktywne antynowotworowo związki posiadały łącznik zawierający ugrupowanie karbonylowe i dwie grupy metylenowe. Niektóre związki wykazywały niską aktywność wobec komórek zdrowych. Ponadto zbadano, że mechanizm aktywności przeciwnowotworowej otrzymanych pochodnych polega w głównej mierze na generowaniu reaktywnych form tlenu prowadząc do apoptozy komórek rakowych i możliwym wiązaniu się z receptorem EGFR.

Druga praca opisuje badania dotyczące syntezy pochodnych AZT i (3-azydopropanoilo) ferrocenu z etynyloferrocenem wobec CuI, NBS i DIPEA. Struktury wybranych pochodnych zostały potwierdzone analizą rentgenograficzną. Otrzymane pochodne triazolowe mono i diferrocenyłowe przebadano metodami woltamperometrycznymi i EPR. Związki, które po reakcji miały podstawione dwie grupy ferrocenyłowe w pierścieniu triazolowym zaklasyfikowano do tzw. II grupy związków o mieszanej wartościowości według klasyfikacji Robina i Day'a i wykazano, że są bardzo efektywnymi generatorami reaktywnych form tlenu. Ponadto zbadano aktywność przeciwnowotworową otrzymanych pochodnych wobec komórek nowotworowych raka płuc A549 i H1975. Diferrocenyłowa pochodna AZT wykazywała dużo lepszą aktywność niż cis-platyna i charakteryzowała się niską aktywnością wobec komórek nienowotworowych. Związek generował zwiększony poziom reaktywnych form tlenu w komórkach nowotworowych.

Materiał zawarty w trzeciej pracy to kontynuacja badań zawartych w pierwszej publikacji dotyczącej modyfikacji erlotynibu. Opracowane zostały nowe pochodne ferrocenowe jak również rutenocenyłowe. Otrzymano również analog zawierający zamiast podstawnika ferrocenyłowego podstawnik fenyłowy, jak i pochodne z łącznikiem amidowym. Opracowana metodologia syntezy łącznika amidowego posłużyła do syntezy pochodnych direnowych. Przeprowadzono pomiary fotofizyczne dla pochodnych direnowych wykazując ich właściwości fosforescencyjne. Badania aktywności przeciwnowotworowej wykazały, że jedynie pochodne ferrocenyłowe wykazują aktywność wobec ludzkich komórek nowotworów

płuc A549 i Calu-3, jednakże są również wysoce toksyczne wobec komórek niezmiennych nowotworowo. Zbadano, że pochodna z grupą fenylową zamiast fragmentu ferrocenyłowego była 13-krotnie mniej aktywna wobec linii komórek nowotworowych A549. Wykazano, że mechanizm działania pochodnych ferrocenyłowych polega zarówno na generowaniu reaktywnych form tlenu jak i wiązaniu się z receptorem EGFR. Bardzo ciekawą obserwacją był fakt, że rutenocenyłowa pochodna z łącznikiem zawierającym 3 grupy CH_2 i grupę C=O wykazuje zdolność do inhibicji wejścia wirusów SARS-CoV-1/2 do komórek ludzkich HEK-293T.

Po zapoznaniu się z przedłożonym materiałem stwierdzam, że cele założone w dysertacji zostały w pełni zrealizowane. Do istotnych elementów nowości pracy należy zaliczyć:

- a) opracowanie syntezy pochodnych metaloorganicznych erlotynibu i AZT na drodze reakcji typu „click”,
- b) wykazanie, iż najlepsze właściwości przeciwko komórkom nowotworowym raka płuc wykazują pochodne ferrocenyłowe (układy zawierające ruten i ren były nieaktywne), a brak fragmentu ferrocenyłowego istotnie zmniejsza aktywność przeciwnowotworową,
- c) ustalenie, że długość i rodzaj łącznika pomiędzy fragmentem erlotynibowym a ferrocenowym może mieć wpływ na aktywność przeciwnowotworową,
- c) ustalenie prooksydacyjnych mechanizmów działania antynowotworowego opracowanych pochodnych i możliwości oddziaływania ich z receptorem EGFR,
- d) wykazanie, że rutenocenyłowa pochodna erlotynibu inhibuje wejście wirusów Sars-Cov-1/2 do ludzkich komórek linii HEK-293T.

Do prac eksperymentalnych został dołączony 89 stronicowy komentarz. Pierwsza część to wprowadzenie literaturowe w tematykę badawczą. Na 34 stronach Doktorant zaprezentował podstawowe informacje dotyczące chorób płuc, a w szczególności nowotworów płuc, w tym czynniki wywołujące nowotwory, leki stosowane w terapii przeciwnowotworowej i inhibitory receptora EGFR ulegającego nadekspresji w przypadku niedrobnokomórkowego raka płuc. Następnie omówił informacje dotyczące erlotynibu oraz AZT i ich pochodne metaloorganiczne. Dodatkowo zaprezentował informacje dotyczące reakcji typu „click” katalizowane solami miedzi i rutenu oraz metaloorganiczne pochodne triazolowe o aktywności przeciwnowotworowej. Część literaturową zakończył informacjami na temat wirusa SARS-CoV-2, mechanizmami jego wchłaniania i związkach o aktywności

przeciwwirusowej. Ta część jest bardzo ciekawa i świadczy o dobrej orientacji Doktoranta w uprawianej tematyce badań. Kolejny fragment komentarza to cele i uzasadnienie podjęcia badań oraz prezentacja wyników zawartych w publikacjach i materiale nieopublikowanym, wysłanym do recenzji. Ten fragment zakończony jest podsumowaniem i wnioskami. Dodatkowo zamieszczona została także część doświadczalna dotycząca materiału nieopublikowanego. Opisy syntez są jednoznaczne a struktury otrzymanych pochodnych zostały potwierdzone analizami widm ^1H , ^{13}C NMR, HRMS, FTIR i analizą elementarną. Całość kończy spis literatury obejmujący 143 pozycje. W mojej opinii komentarz napisany jest poprawnie i pokazuje dobrą orientację Doktoranta w prowadzonych badaniach.

W trakcie pisania Doktorant nie uniknął pewnych drobnych błędów, które jednakże nie wpływają na ogólną bardzo dobrą ocenę pracy np. brak numeru **1** przy cytowaniu cis-platyny str. 25 i następne, oksaliPt **19** str.32, brak wydajności dla pochodnej **109** Schemat 13 str.62, brak jednostek dla wartości IC_{50} na str. 63, brak informacji na temat użytego rozpuszczalnika, gdy związek był wydzielany na drodze chromatografii kolumnowej SiO_2 np. str.73, w pozycji literaturowej [33] nazwa artykułu powinna być napisana skrótem, to samo dotyczy pozycji [49], w pozycji [59] brak jest numeru tomu.

Podsumowując uzyskane rezultaty chciałbym podkreślić duży wkład Doktoranta w badania nad syntezą nowych połączeń metaloorganicznych. Opracowane pochodne wykazują ciekawe właściwości biologiczne. Niektóre z nich wykazują działanie względem komórek chorych a jednocześnie w znacznie mniejszym stopniu oddziałują na komórki niezmienione chorobowo. W mojej opinii przedstawiona rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wnosi istotne elementy do badań nad współczesnymi chorobami cywilizacyjnymi.

Stwierdzam, że recenzowana praca doktorska mgr inż. Przemysław Biegańskiego spełnia w pełni wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z ustawą z dnia 20 lipca 2018 roku „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” [Dz. U. 2018 poz. 1668, z późn. zm.]. W związku z tym, wnoszę o dopuszczenie mgr inż. Przemysław Biegańskiego do dalszych etapów postępowania o nadanie mu stopnia doktora nauk chemicznych. Wnioskuje również o wyróżnienie recenzowanej pracy.

Grzegorz Świątek