

Recenzja
rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Fedorowicz
pt. „Synteza i zastosowania izoksazolo[3,4-*b*]pirydyn-3(1H)-onów”
przedłożonej Radzie Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki
Medycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
celem uzyskania stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych



UNIwersYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze Chemii Organicznej Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, pod kierunkiem dr. hab. Jarosława Sączewskiego.

Odkrywanie nowych leków oraz sond molekularnych do śledzenia losu leków w organizmie, które obejmuje projektowanie cząsteczek z zastosowaniem metod obliczeniowych, kolejno otrzymywanie zaprojektowanych związków metodami chemii organicznej, ocenę aktywności biologicznej i interpretacji wyników badań oraz określenie nowych aplikacji dla wypracowanej technologii, jest zadaniem niezwykle ambitnym, wymagających pogłębionej wiedzy z zakresu chemii, biologii, czy fizyki.

Takiego zadania podjęła się Doktorantka, koncentrując swoje badania na możliwości wielokierunkowego zastosowania nowych pochodnych barwników *Safirinium* P i *Safirinium* Q, w projektowaniu związków o potencjalnej aktywności przeciwdrobnoustrojowej oraz sond molekularnych do analiz biomedycznych.

Punktem wyjścia do sformułowania celu pracy były wyniki badań ostatnio prowadzonych w Katedrze Chemii Organicznej, nad unikalnymi właściwościami fizycznymi i biologicznymi pochodnych izoksazolo[3,4-*b*]pirydyn-3(1H)-onu oraz izoksazolo[3,4-*b*]chinolin-3(1H)-onu. Część badań jest jednym z produktów programu badawczego finansowego ze środków Narodowego Centrum Nauki, grant Preludium 2016/21/N/NZ7/03464 pt. „Poszukiwanie związków przeciwbakteryjnych o unikatowym podwójnym mechanizmie działania”.

Układ rozprawy jest typowy dla tego typu opracowań; składa się ze wstępu wprowadzającego w tematykę pracy, założeń i celu pracy, omówienia wyników i dyskusji, podsumowania i wniosków, części eksperymentalnej, streszczeń w języku polskim i angielskim. Na końcu zamieszczono wykaz aktualnego piśmiennictwa oraz atlas wybranych widm NMR, MS, UV. Autorka zamieszcza informację, że większa część uzyskanych wyników badań została opublikowana w 5 pracach o łącznym współczynniku oddziaływania IF = 14,656.

Wprowadzając w przedmiot rozprawy, Autorka wykazała się dogłębną znajomością strategii projektowania związków hybrydowych opartych na rdzeniu różnie podstawionego kwasu 6-fluoro-4-okso-chinolino-3-karboksylowego.

Rozdział II prezentuje cel wykonanej pracy, który zostaje określony jako „zaprojektowanie struktury i otrzymanie biblioteki nowych związków o potencjalnym działaniu przeciwbakteryjnym oraz zweryfikowanie hipotezy, iż możliwe jest połączenie struktury antybiotyków (fluoro)chinolinowych z czwartorzędowymi solami amoniowymi o strukturze triazoliniowej”, po czym Autorka rozszerza zakres badań o dodatkowe etapy badawcze obejmujące: zaprojektowanie i syntezę serii N-podstawionych pochodnych izoksazonów o potencjalnym działaniu grzybobójczym, badanie tautomerii izoksazolo[3,4-*b*]chinolin-3(1H)-onów i otrzymanie ich pochodnych alkilowych i acylowych, ocenę reaktywności analogów *Safirinium* P i Q z akceptorami Michaela,

Wydział Farmaceutyczny

Katedra Chemii

Farmaceutycznej

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48 12 620 54 50

fax +48 12 620 54 58

www.farmacja.cm-uj.krakow.pl

syntezę i ocenę właściwości optycznych nowych chromoforów *Safirinium*, syntezę nowych związków fluorescencyjnych jako znaczników w badaniach analitycznych lub biochemicznych, ocenę możliwości zastosowania nowosyntetyzowanych znaczników w analizach biomedycznych (mikroskopowe obrazowanie wpływu ksenobiotyków na skórę, oznaczanie amin biogennych, jako wzmacniaczy jonizacyjnych w analizach masowych lizatów białkowych).

Postawiony sobie cel Doktorantka osiągnęła na drodze wielokierunkowej współpracy z kilkoma zespołami badawczymi. Po pierwsze, bazując na wynikach badań dr. hab. J. Sączewskiego, przeprowadziła rozważania teoretyczne, zaprojektowała i zsyntetyzowała 151 nowych, nieopisanych związków, w tym 16 hybrydowych i 14 N1-podstawionych pochodnych 4,6-dimetyloizoksazolo[3,4-*b*]pirydyn-3(1*H*)onu o potwierdzonej aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Zakres badań syntetycznych obejmuje szerokie spektrum preparatyki organicznej. Doktorantka wykazała się bardzo dobrym opanowaniem tego trudnego warsztatu. Struktury wszystkich połączeń zostały potwierdzone szczegółową analizą spektralną (NMR, MS, UV), często analizą rentgenostrukturalną. Dla wielu z uzyskanych nowych sond fluorescencyjnych Doktorantka przeprowadziła ocenę widm absorpcyjnych i emisyjnych. Najbardziej interesujące związki hybrydowe, wytypowane w oparciu o badania skryningowe, wykazały cechy słabych inhibitorów gyrazy ($IC_{50} < IC_{50}$ cyprofloksacyny), równocześnie wykazując wymagający dalszego potwierdzenia efekt przeciwbiofilmowy. Natomiast połączenia o charakterze N1-benzoilowych pochodnych *Safirinium* P wykazały wyższą aktywność przeciwgrzybiczą względem klinicznych szczepów drożdżopodobnych, w porównaniu do flukonazolu, zastosowanego jako kontrola pozytywna.

Każdy spośród etapów pracy, zaprezentowany w rozdziałach III.3-III.7, został szczegółowo opisany i zilustrowany przy pomocy stosownych wykresów, tabel i rysunków. Część badawcza, we wszystkich rozdziałach, omawia zastosowanie adekwatnych metod. Jest zaopatrzona w niezwykle bogate przykłady piśmiennictwa źródłowego (łącznie aż 394 w całej monografii). Moją szczególną uwagę zwróciły wyniki dotyczące oceny reaktywności izoskazo[3,4-*b*]pirydyn-3(1*H*)-onów z akceptorami Michaela, opublikowane w prestiżowym czasopiśmie *Journal of Organic Chemistry*.

Dwa rozdziały III.8 i III.9 poświęcono kolejnym zastosowaniom barwników *Safirinum* w znakowaniu amin biogennych oraz jako znaczników jonizacyjnych w analizach masowych hydrolizatów białkowych. Moim zdaniem rozdziały te należałoby uznać za „przedobrze”, bo, chociaż wartościowe, to będąc zrealizowanymi przy znaczącym udziale kooperantów, nie pomagają mi jako recenzentowi, w szerszej ocenie osiągnięć i umiejętności badawczych Autorki, którymi wykazała się w rozdziałach III.1 –III.7.

Nie ulega wątpliwości, że Autorka w swojej dysertacji zaprezentowała wysokie kompetencje do pracy obliczeniowo-syntetyczno-analitycznej w dziedzinie chemii organicznej z elementami chemii leków. Wywiązując się z obowiązku recenzenta potwierdzam wysoką staranność w opracowaniu i prezentacji wyników badań. Rozprawa została napisana profesjonalnym językiem, nie budzącym zastrzeżeń co do stylu; niestety niektóre informacje, w szczególności zaprezentowane we wstępie liczącym 77 stron, przedstawiono w sposób zbyt szczegółowy. Ze względu na fakt opublikowania znacznej części materiału w czasopismach naukowych treści zawarte w opracowaniu mogłyby ograniczyć się do najważniejszych tez i konkluzji. Poniżej przedstawiam kilka uwag dotyczących monografii, które wymagają wyjaśnienia i mogą posłużyć w realizacji dalszych badań:



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Wydział Farmaceutyczny

Katedra Chemii

Farmaceutycznej

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48 12 620 54 50

fax +48 12 620 54 58

www.farmacja.cm-uj.krakow.pl

- 1) czy tytuł dobrze konweniuje z zakresem badań prezentowych w rozprawie – ta dotyczy bowiem związków będących analogami izoksazolo[3,4-*b*]pirydyn-3(1H)-onu oraz izoksazolo[3,4-*b*]chinolin-3(1H)-onu?
- 2) w aktualnej wersji, cel pracy zaprezentowany w rozdziale II, przez wprowadzenie szerokiego zakresu badań, nie został jednoznacznie zdefiniowany; nasuwa się pytanie – czy cel monografii nie mógłby zostać doprecyzowany, nabierając brzmienia jak przedstawiono w streszczeniu na stronie 13?
- 3) większość z prezentowanych związków o budowie hybrydowej wykazuje niższą aktywność w porównaniu do wyjściowych fluorochinolonów, również niższe wartości hamowania aktywności gyrazy; nasuwa się pytanie co do koncepcji łączenia dwóch fragmentów strukturalnych o różnym punkcie uchwytu, jednego odpowiedzialnego za zaburzenie integralności błony i drugiego opartego na hamowaniu gyrazy, enzymu zlokalizowanego w jądrze komórkowym?
- 4) czy projektując cząsteczki podjęto próby symulacji przenikania związków przez błony biologiczne?
- 5) czy weryfikowano aktywność przeciwrzybiczą *Safirinium P* i *Safirinium Q*?
- 6) jakimi metodami analizowano czystość i jednorodność próbek zsyntetyzowanych związków?
- 7) ponieważ odczynniki **25a**, **26a** są aktywne w wodzie, czy możliwe jest ich zastosowanie do eksperymentów prowadzonych *in vivo*? Czy na tym etapie weryfikowano chemoselektywność tego typu połączeń?

Podsumowując, rozprawa doktorska Pani Joanny Fedorowicz, stanowiąc opracowanie wielokierunkowych badań chemiczno-biologicznych, kompleksowo weryfikuje hipotezę o możliwości zastosowania układów izoksazolo[3,4-*b*]pirydyn-3(1H)-onu oraz izoksazolo[3,4-*b*]chinolin-3(1H)-onu w projektowaniu związków o potencjalnych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych oraz sond molekularnych o cechach znaczników fluorescencyjnych. Potwierdza to opanowanie przez Autorkę warsztatu badawczego w zakresie metod obliczeniowych, syntezy organicznej, oceny właściwości fizykochemicznych, zaś wskazane powyżej uwagi, głównie dotyczące organizacji monografii, nie umniejszają wartości rozprawy. W świetle przytoczonych przez Doktorantkę danych, podjęta tematyka dysertacji wnosi wiele nowych elementów o znaczeniu poznawczym.

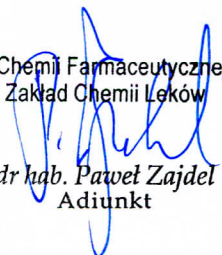
Przedstawiona do oceny rozprawa spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim, zatem zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pani mgr Joanny FEDOROWICZ do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, z uwagi na szeroki zakres zrealizowanych badań o charakterze interdyscyplinarnym oraz przeprowadzoną analizę wyników, wnioskuję o wyróżnienie ocenianej rozprawy.

Kraków, 31.10.2018 r.

Dr hab. Paweł Zajdel
Zakład Chemii Leków
Katedra Chemii Farmaceutycznej UJCM
tel. 012 620 54 59
e-mail : pawel.zajdel@uj.edu.pl

Katedra Chemii Farmaceutycznej UJ CM
Zakład Chemii Leków


dr hab. Paweł Zajdel
Adiunkt



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Wydział Farmaceutyczny

Katedra Chemii

Farmaceutycznej

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48 12 620 54 50

fax +48 12 620 54 58

www.farmacja.cm-uj.krakow.pl