Śląski Uniwersytet
Medyczny w Katowicach

prof. dr hab. n. farm. Beata Morak-Młodawska,
Katedra i Zakład Chemii Organicznej
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec
bmlodawska@sum.edu.pl
tel. 32 364 16 04

Sosnowiec, 18.12.2023

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Żurawskiej zatytułowanej:

„Synteza heterocyklicznych pochodnych monosacharydów i ich wpływ na żywotność komórek nowotworowych"

przedstawiona Radzie Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej w Gliwicach

Recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Żurawskiej została przygotowana w Katedrze Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii, Wydziału Chemicznego, Politechniki Śląskiej w Gliwicach, pod opieką promotorską Pana prof. dr hab. n. chem. inż. Krzysztofa Walczaka i opieką promotora pomocniczego Pani dr inż. Anny Kasprzyckiej.

Dysertacja została przygotowana w sposób tradycyjny, w formie 185-stronicowej rozprawy doktorskiej zawierającej: *Streszczenie w języku polskim i angielskim, Część literaturową, Cele i założenia rozprawy doktorskiej, Omówienie wyników badań, Podsumowanie, Część eksperymentalną i Wstępną cenę aktywności biologicznej.* Praca zawiera spis cytowanej literatury oraz wykaz skrótów. Na pierwszych stronach Doktorantka złożyła podziękowanie Promotorom oraz wszystkim osobom zaangażowanym w pomoc podczas realizacji doktoratu, co ukazuje dojrzałość Doktorantki i pełną świadomość trudnej pracy w zespole badawczym. W rozprawie znajduje się wykaz osiągnięć Doktorantki w skład którego wchodzi:

- ✓ współautorstwo publikacji (z lat 2021-2023) o zasięgu międzynarodowym, zaprezentowanych w czasopismach o sumarycznym wskaźniku oddziaływania IF = 28,271 (zgodnie z rokiem publikacji):
  a. *K. Żurawska, M. Skonieczna, D. Burdalska, A. Byczek-Wyrostek, A. Dawicka, A. Kasprzycka, K. Walczak „Glycoconjugates of mucochloric acid – synthesis and biological activity", Pharmaceuticals. 2023, 16(4), 525.*
  b. *K. Żurawska, M. Stokowy, P. Kapica, M. Olesiejuk, A. Kudelko, K. Papaj, M. Skonieczna, W. Szeja, K. Walczak, A. Kasprzycka "Synthesis and preliminary anticancer activity assessment of N-glycosides of 2-amino-1,3,4-thiadiazoles", Molecules. 2021, 26, 7245.*
  c. *K. Papaj, P. Spychalska, K. Hopko, P. Kapica, A. Fisher, M. A. Lill, W. Bagrowska, J. Nowak, K. Szleper, M. Smieško, A. Kasprzycka, A. Góra "Investigation of thiocarbamates as potential inhibitors of the SARS-CoV-2 Mpro". Pharmaceuticals. 2021, 14, 1153.*
  d. *R. Kitel, A. Byczek-Wyrostek, K. Hopko, A. Kasprzycka, K. Walczak "Effect of Selected Silyl Groups on the Anticancer Activity of 3,4-Dibromo-5-Hydroxy-Furan-2(5H)-One Derivatives". Pharmaceuticals. 2021, 14, 1079.*
  e. *M. Bzówka, K. Mitusińska, K. Hopko, A. Góra "Computational insights into the known inhibitors of human soluble epoxide hydrolase". Drug. Discov. 2021, 26, 1914-1921,*
- ✓ cztery komunikaty konferencyjne,
- ✓ współautorstwo zgłoszenia patentowego: *Kasprzycka A., Szeja W., Szeja W., Żurawska K., Woźniak M., Makuch S., Wiśniewski J., Cichoń T., Pilny E.; Prolek – Glikokoniugat pochodny gemcytabiny, jako nowy związek o działaniu przeciwnowotworowym, sposób otrzymywania i zastosowanie; zgłoszenie patentowe, 2022, P.442924 [WIPO ST 10/C PL442924],*
- ✓ udział w konferencjach naukowych,
- ✓ udział w projekcie w roli wykonawcy, OPUS 2016/21/B/NZ7/01766 pt. „Nowe pochodne 2(5H)-furanonu z modulacją hydrofobowości podstawników - synteza, cele molekularne, mechanizm działania i aktywność przeciwnowotworowa *in vitro* w liniach komórkowych raka piersi".

Powyższy dorobek naukowy oceniam bardzo wysoko, a publikacje, w których Doktorantka jest współautorem zostały już odnotowane w literaturze, co jest wysokim osiągnięciem jak na młodego badacza.

Rozprawa doktorska rozpoczyna się przejrzyście napisanym rozdziałem: „Przegląd literaturowy". Do przygotowania tej części rozprawy Doktorantka wykorzystała 63 pozycje literaturowych (na 129 wszystkich cytowanych prac). Rozdział ten powstał w oparciu o literaturę ostatnich 10 lat, co wskazuje, iż ten nurt badań jest bardzo aktualny.

Autorka zaprezentowała doniesienia naukowe tyczące mechanizmów nowotworzenia, cyklu komórkowego, programowanej śmierci komórki czyli apoptozy, funkcję fukozylotransferazy jak i jej inhibitorów oraz obraz fukozylotransferazy 8 jako celu molekularnego w projektowaniu substancji o potencjale przeciwnowotworowym. Rozdział ten jest wprowadzeniem i swoistą zapowiedzią obszarów tematycznych realizowanych w późniejszych częściach rozprawy. Doktorantka mając na uwadze doniesienia literaturowe podjęła badania w obszarze projektowania nowych molekuł mogących być efektywnymi jak i selektywnymi inhibitorami fukozylotransferazy 8, tym samym wpisując się w nurt naukowy poszukiwania związków chemicznych pozwalających walczyć z chorobą cywilizacyjną jaką jest choroba nowotworowa. Wyniki przeprowadzonych prac badawczych Pani mgr Katarzyna Żurawska podzieliła na dwie części: chemiczną i biologiczną. Wyniki badań chemicznych zostały zawarte w rozdziale „*Część eksperymentalna*" a ich omówienie Doktorantka opisała w rozdziale „*Omówienie wyników*" i „*Podsumowanie*". Osobną część rozprawy stanowi rozdział „*Wstępna ocena aktywności biologicznej*" zakończony podsumowaniem. Pewien niedosyt pozostawia recenzentowi brak jasno wyodrębnionego rozdziału „*Wnioski*".

W ramach badań obejmujących część chemiczną Doktorantka skupiła uwagę na: otrzymaniu związków przypominających stan przejściowy reakcji enzymatycznej tj. 2,3-nienasyconych pochodnych L-fukozy i L-ramnozy oraz 2-deoksy-2-fluoropochodnych L-fukozy. W kolejnym etapie mając na uwadze aktywność inhibicyjną barwników triazynowych Cibacron Blue 3Ga i Reactive Red 120, podjęła decyzję o ich defragmentacji i połączeniu poszczególnych elementów z pochodnymi cukrów, w celu określenia, który z tych elementów może odpowiadać za ich potencjał biologiczny. W następnym obszarze badań chemicznych Doktorantka otrzymała nowe cukrowe pochodne azoli, które na podstawie informacji literaturowych mogą być inhibitorami enzymów z grupy fukozylotransferazy. Pani mgr Katarzyna Żurawska otrzymała strukturalnie różne związki organiczne, do których należą:

substraty cukrowe tj: glikale, 2-deoksy-2-fluorocukry, azydki cukrowe; substraty niecukrowe tj. pochodne antrachinonu, 1,2,3-triazyny, 1,2,4-triazolu, 1,3,4-oksadiazolu, 1,3,4-tiadiazolu, furan-2(5*H*)onu, 2*H*-pirol-2-onu oraz glikokoniugaty. Każdorazowo została omówiona wieloetapowa synteza organiczna, analiza strukturalna wykonana z użyciem widm spektroskopii NMR (^{1}H, ^{13}C NMR) oraz spekrometrii mas MS ESI. Autorka w swych badaniach opracowała szereg procedur, wg których otrzymywała w wieloetapowych syntezach nowe związki chemiczne. Bardzo wysoko doceniam ogrom pracy syntetycznej wykonany przez Doktorantkę w laboratorium chemii organicznej jak i umiejętność dokonywania żmudnych i trudnych analiz strukturalnych. Pragnę zwrócić uwagę, że warsztat chemiczny został zaprojektowany wnikliwie i logicznie z dużą wiedzą związaną z mechanizmami przebiegających reakcji i został zrealizowany w sposób profesjonalny. Wyniki badań zostały opisane rzetelnie bez pominięcia negatywnych rezultatów, ukazano wyniki niesatysfakcjonujących wydajności reakcji chemicznych i sposoby wprowadzania innych warunków poprawiających tą wydajność, co jako recenzent bardzo szanuję. Ponadto Autorka podjęła trud wyjaśnienia chemicznego mechanizmu biegnących reakcji, który tłumaczy prawidłowość danej syntezy i uzyskanie związków o określonej budowie. Doktorantka w grupie nowych związków chemicznych otrzymała substancje będące czystymi anomerami jak i mieszaniny anomeryczne. Tu rodzi się moje pytanie, czy została podjęta próba rozdziału mieszanin anomerów α i β, oraz w jaki sposób można byłoby wytłumaczyć wynik reakcji otrzymywania czystego N-glikozydu Glu10 czy Glu3 porównując te wyniki z syntezą mieszanin anomerycznych Glu8 i Glu9. Dodatkowo chciałabym zapytać czym można byłoby wytłumaczyć niską wydajność syntezy otrzymywania pochodnych Ram 41 i Ram42?

Drugą częścią badań, które zostały zaprezentowane w dysertacji są badania aktywności przeciwnowotworowej otrzymanych nowych pochodnych. Ta część badań została wykonana w kooperacji z dr hab. Magdaleną Skonieczną, prof. PŚ i dr inż. Katarzyną Papaj z Centrum Biotechnologii PŚ. Zostały wykonane testy cytotoksyczność w stosunku do linii komórek nowotworowych: jelita grubego HCT116 i piersi MCF-7, badania analizy cyklu komórkowego w tychże liniach oraz badania z udziałem α-1,6-fukozylotransferazy tj.: oznaczenie temperatury denaturacji kompleksu enzym-badany związek (TSA) i termoforeza mikroskalowa (MST). Otrzymane wyniki pokazały obiecujący potencjał przeciwnowotworowy grupy nowych pochodnych otrzymanych przez Doktorantkę. Dodatkowo zostały niepominięte, a wskazane pewne problemy związane z rozpuszczalnością nowych pochodnych w tej części badań, co jako

recenzent doceniam. W tym miejscu chciałabym poprosić aby Doktorantka wyjaśniła swój udział w realizowanych badaniach biologicznych. Dodatkowo chciałabym zapytać dlaczego do badań tych nie została włączona linia komórek prawidłowych w celu określenia cytotoksyczności czy też indeksu selektywności, dlaczego zostały wytypowane te dwa rodzaje linii komórek nowotworowych i w jaki sposób można rozwiązać problemy tyczące rozpuszczalności tych pochodnych.

Wnikliwa analiza całości ocenianej dysertacji upoważnia recenzenta do zwrócenia uwagi na pewne uchybienia formalne. Uwagi te dotyczą następujących zagadnień:

- ✓ w spisie treści jak i pracy brak rozdziału nr 4 natomiast jest rozdział 5 *Wstępna Ocena Aktywności Biologicznej*,
- ✓ brak odrębnego rozdziału wnioski oraz spisu rycin, tabel czy schematów,
- ✓ w spisie skrótów brak skrótu wyjaśniającego: $SOCl_2$ czy też NH_4Cl, choć nazwy tych związków dla chemika są oczywiste,
- ✓ została podana błędna nazwa antrachinonu na str. 30,
- ✓ pojawiły się pewne niedociągnięcia stylistyczne np. str. 34 „...wprowadzenie atomu fluoru w pozycję C-2 cukru" powinno być raczej „...wprowadzenie atomu fluoru w położenie węgla C-2 cukry" ,
- ✓ w rozprawie powinny być stosowane zapisy ułamków dziesiętnych zgodne z językiem polskim czyli stosujące przecinek, a nie kropkę tak jak to ma miejsce w języku angielskim.

Wskazane przez recenzenta niedociągnięcia nie umniejszają w żaden sposób walorom merytorycznym przedstawionej dysertacji. Jako recenzent pragnę również zwrócić uwagę, iż dobrze byłoby wykonać wstępne badania profilu farmakokinetycznego nowych cząsteczek czy też związków najbardziej obiecujących, który wskazałby na ich biodostępność.

Podsumowując rozprawę doktorską przygotowaną przez Panią mgr Katarzynę Żurawską należy podkreślić, iż została ona przygotowana w sposób bardzo przejrzysty, rzetelny, a szczególną uwagę przykuwają bardzo staranne ryciny i schematy. Dobrze zostały uwypuklone uzyskane wyniki z uwzględnieniem zaproponowanych metod syntezy, dowodów strukturalnych, nowatorsko zaprojektowanych i otrzymanych związków oraz badań ich aktywności biologicznych. Można śmiało stwierdzić, iż uzyskane wyniki są nowatorskie i obiecujące. Jestem przekonana, iż zebrany w dysertacji materiał stanie się tematem kilku publikacji naukowych w poczytnych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Dodatkowo

przeprowadzone badania bardzo właściwie wpisują się w aktualną tendencję związaną z projektowaniem nowych substancji bioaktywnych, które mogą zostać wykorzystane w walce z chorobami cywilizacyjnymi.

Podsumowanie

Stwierdzam, iż rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Żurawskiej, spełnia wszelkie wymagania stawiane pracom doktorskim, określone w art. 187 ust. 1 i 2, ustawy o Tytule Naukowym i Stopniach Naukowych a tym samym znacząco przyczynia się do rozwoju dyscypliny nauk chemicznych. Wnoszę do Wysokiej Rady Nauki Chemiczne, Politechniki Śląskiej w Gliwicach o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę nowatorskie wyniki, charakter aplikacyjny rozprawy, wykonanie badań w interdyscyplinarnym zespole naukowym jak i wysoki dorobek naukowy Doktorantki wnoszę wniosek o wyróżnienie powyższej rozprawy doktorskiej.

PROFESOR BADAWCZO-DYDAKTYCZNY
Katedry i Zakładu Chemii Organicznej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
Podpisano odręcznie przez autora
prof. dr hab. n. farm. Beata Morak-Młodawska

Sosnowiec, dnia 18 grudnia 2023r.

prof. dr hab. n. farm. Beata Morak-Młodawska