

Sosnowiec, 15.11.2022r.

Ocena pracy doktorskiej pt.

***Synthesis and investigation of biological activities of the new 1,3,5-triazine derivatives***

wykonanej przez  
**mgr Dawida Maliszewskiego**

w Zakładzie Chemii Organicznej  
**Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej  
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku**

w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki  
farmaceutyczne

Katedra i Zakład Chemii  
i Analizy leków

Wydział Nauk Farmaceutycznych  
w Sosnowcu

Śląski  
Uniwersytet Medyczny  
w Katowicach

ul. Jagiellońska 4  
41-200 Sosnowiec  
www.chemialekow.sum.edu.pl

Dr hab.n.farm.  
Artur Beberok, prof. SUM  
tel.: (+48 32) 364 16 91  
abeberok@sum.edu.pl

SEKRETARIAT  
tel./fax: (+48 32) 364 16 11  
chemlek@sum.edu.pl

W rozwoju chemii medycznej, w tym poszukiwaniu związków o wielokierunkowej aktywności biologicznej, pierścień s-triazynowy (1,3,5-triazyna) stanowiący zazwyczaj rdzeń cząsteczki, znalazł szerokie zastosowanie w sieciowaniu materiałów polimerowych oraz łączeniu właściwości różnych podstawników. Cząsteczka s-triazyny ze względu na możliwość podstawienia trzech podstawników daje możliwość uzyskania hydrydowych związków o różnorodnej aktywności. Na uwagę zasługuje szerokie spektrum aktywności biologicznych pochodnych s-triazyny, które jest wielokierunkowe i obejmuje m.in. działanie przeciwbakteryjne, przeciwrzybicze, przeciwnowotworowe a także przeciwneurodegeneracyjne. Potwierdzeniem tego faktu są liczne pochodne które zostały wprowadzone na rynek farmaceutyczny, w tym altretamina, decytabina czy Almitryna oraz liczne koniugaty znajdujące się w fazie badań zarówno przedklinicznych jak i klinicznych.

Starzenie się społeczeństwa oraz rozwój skutecznych metod leczenia i profilaktyki schorzeń układu krążenia powodują zmiany w strukturze przyczyn umieralności. Dlatego do najistotniejszych wyzwań współczesnej medycyny należą choroby nowotworowe, choroby neurodegeneracyjne czy postępująca antybiotykooporność. Niezwykle istotne w tym kontekście wydają się być badania ukierunkowane na poszukiwanie nowych leków, co stanowi jeden z nadrzędnych celów nauk farmaceutycznych. Nie ulega wątpliwości, iż jest to proces wieloetapowy wymagający współpracy wielu naukowców i praktyków z kilkunastu dyscyplin.



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Uzasadnionym zatem celem badań, przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej mgr Dawida Maliszewskiego, było zaprojektowanie, synteza i ocena aktywności biologicznej pochodnych 1,3,5-triazyny zawierających dipeptyd, 2-etylopiperazynę i grupę metoksylową jako podstawniki. Warto podkreślić, iż realizacja założeń projektu o charakterze interdyscyplinarnym możliwa była dzięki podjętej współpracy i koordynowaniu prac badawczych przez Promotorów pracy doktorskiej w osobie Pani Dr. hab. Danuty Drozdowskiej i Pana Prof. Dr. Rasime Demirela. W części chemicznej zaprojektowano i otrzymano nowe związki hybrydowe, dla których w ramach badań biologicznych określono potencjalną aktywność przeciwbakteryjną, przeciwgrzybiczą, przeciwnowotworową oraz zbadano zdolność pochodnych 1,3,5-triazyny do hamowania enzymów AChE i BACE1. Uzupełnieniem badań było określenie za pomocą techniki dokowania molekularnego możliwości oddziaływania nowych koniugatów z gyrazą DNA *E. coli* i *S. aureus*.

Tytuł dysertacji Doktoranta został prawidłowo sformułowany i w pełni odzwierciedla cel badań. Wybór tematu pracy doktorskiej uważam za trafny, zgodny z kierunkiem współczesnych badań naukowych i aktualnym stanem wiedzy. Podejmowany problem uważam za uzasadniony, niezwykle ważny zarówno: i/ z punktu widzenia naukowego (w tym rozwoju chemii medycznej), ii/ znaczenia medycznego oraz iii/ społecznego, z uwagi na fakt iż choroby cywilizacyjne stanowią główną przyczynę zgonów na świecie. Dlatego jednym z priorytetów celów dzisiejszej medycyny jest poszukiwanie aktywnych, selektywnych leków o ograniczonej cytotoksyczności w stosunku do prawidłowych komórek organizmu.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska obejmuje 98 stron tekstu wraz z piśmiennictwem i dołączonym załącznikiem - publikacja przeglądowa, w której Doktorant jest pierwszym autorem. Tekst pracy zawiera typowe dla opracowań naukowych rozdziały, z zachowaniem właściwych proporcji. Dodatkowo w pracy zamieszczono wykaz skrótów stosowanych w tekście pracy, co bardzo ułatwia ocenę dysertacji.

We Wstępie Doktorant w oparciu o obszerne piśmiennictwo przedstawił aktualną wiedzę z zakresu charakterystyki zatwierdzonych i objętych badaniami pochodnymi s-triazyny. Warto podkreślić, iż ostatni podrozdziały tej części pracy Autor poświęcił omówieniu korzyści płynących z projektowania innowacyjnych leków o wielokierunkowym mechanizmie działania. Zagadnienia omówione na 16 stronach Wstępu zostały dodatkowo uzupełnione 13 rycinami. Przedstawione we Wstępie pracy zagadnienia świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu Doktoranta do podjęcia badań, będących podstawą pracy doktorskiej, a także stanowią wprowadzenie do postawionego celu badań.

Przedstawiony przez mgr Dawida Maliszewskiego cykl badań stanowi starannie zaplanowany i dobrze przemyślany panel eksperymentalny umożliwiający analizę złożonej hipotezy badawczej. Realizując postawiony cel pracy, Doktorant dokonał syntezy nowych pochodnych 1,3,5-triazyny oraz prowadził badania z wykorzystaniem modelu *in vitro* i/ na bakteriach chorobotwórczych, drożdżach i grzybach strzępkowych oraz ii/na hodowlach komórek raka piersi (komórki estrogenozależne linii MCF-7 oraz nieestrogenozależne linii MDA-MB-231 jako model potrójnie negatywnego raka piersi). Dodatkowo mgr Dawid Maliszewski ocenił potencjał hamujący wobec acetylocholinoesterazy AChE (kolorymetryczna metoda Ellman'a) oraz  $\beta$ -sekretazy BACE1 (metoda FRET).

Na uwagę zasługuje fakt iż eksperymenty *in vitro* z wykorzystaniem hodowli komórkowych raka piersi zostały przeprowadzone we współpracy z Zakładem Analizy i Bioanalizy Leków oraz Zakładem

Diagnostyki Hematologicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. W przypadku badań *in vitro* na modelu bakterii chorobotwórczych, grzybów oraz drożdży analizy zostały wykonane we współpracy z Zakładem Biologii Uniwersytetu Technicznego (Eskisehir) w Turcji.

Szczegółowy opis zastosowanych metod badawczych został zamieszczony w rozdziale Materiały i metody. Przedstawione metody są co do zasady aktualne i adekwatne do rozwiązywanych problemów naukowych i nie budzą żadnych wątpliwości. Pojawiło się jednak zagadnienie, które w mojej opinii wymaga wyjaśnienia lub przedyskutowania:

i/ co stanowiło kryterium wyboru dla zastosowanego modelu komórkowego *in vitro*?

ii/ czy Doktorant uczestniczył w badaniach *in vitro* (panel mikrobiologiczny) w ramach międzynarodowego charakteru pracy?

Sformułowanie powyższego pytania wynika jedynie z przywileju recenzenta, z którego skorzystałem i w żadnym wypadku nie ma charakteru uwag krytycznych. Powyższe zagadnienie może natomiast stanowić wskazówki w kierunku doskonalenia warsztatu badawczego oraz interesujący przedmiot dyskusji na polu naukowo-akademickim.

Uzyskane wyniki badań zostały zredagowane na 19 stronach pracy w rozdziale „Wyniki” oraz udokumentowane szczegółowo w 8 tabelach zbiorczych i 4 rycinach. W części poświęconej dyskusji, Autor dokonuje zasadniczego omówienia wyników jak i również wysuwa po każdym cyklu badań wnioski cząstkowe. Rozdział ten świadczy o bardzo dobrej znajomości zagadnienia oraz dobrym przygotowaniu do realizacji badań. Na uwagę zasługuje fakt, iż Doktorant dokonuje konfrontacji dla uzyskanych wyników pracy własnej z licznymi wynikami badań prac innych autorów.

Przeprowadzone badania pozwoliły na sformułowanie uzasadnionych wniosków, korespondujących z założonym celem pracy i wnoszących nowe istotne informacje do aktualnego stanu wiedzy. W mojej opinii najistotniejszymi efektami prowadzonych badań było wykazanie iż:

i/ zastosowaną metodykę syntezy pochodnych 1,3,5-triazyny cechuje wysoka wydajność oraz czystość otrzymanych związków,

ii/ pochodne s-triazyny zawierające dipeptyd, 2-etylopiperazynę i grupę metoksyłową jako podstawnik cechuje wysoka aktywność przeciwbakteryjna i przeciwgrzybicza,

iii/ nowe związki hybrydowe wykazują zdolność do oddziaływania z bakteryjną gyrazą DNA jako cel molekularny,

iv/ poddane ocenie nowe pochodne cechuje wysoka aktywność przeciwnowotworowa i zdolność do modulowania aktywności acetylocholinoesterazy i  $\beta$ -sekretazy co potwierdza wielofunkcyjny charakter związków jako potencjalnie nowych leków, w których układ 1,3,5-triazyny stanowi ważny element strukturalny.

W tym miejscu, z uwagi na w pełni uzasadnione osiągnięcia naukowe Doktoranta oraz aplikacyjny charakter przedstawionych wyników badań, pozwolę sobie zadać pytanie o wskazanie możliwych kierunków dalszych badań w temacie syntezy i oceny aktywności biologicznej nowych związków hybrydowych zawierających układ 1,3,5-triazyny. Czy planowane są dalsze prace eksperymentalne z wykorzystaniem komórek prawidłowych celem wykazania potencjalnej selektywności ich działania.

Cytowane przez Doktoranta 106 pozycji piśmiennictwa naukowego odzwierciedla rzetelnie stan wiedzy w obrębie omawianego tematu. Warto podkreślić, iż większość pozycji wszystkich danych

literaturowych to doniesienia z ostatnich 10 lat, a spośród nich 52/106 pozycji (około 50%) to prace opublikowane w ciągu ostatnich 5 lat, co wskazuje na dużą aktualność podjętego do oceny przez Doktoranta problemu naukowo-medyczno-społecznego. Rozprawa doktorska została zakończona Streszczeniem w języku polskim i angielskim.

Uzyskane przez Doktoranta wyniki są oryginalne i zaprezentowane w rzetelny sposób. Autor posługuje się fachowym słownictwem, co świadczy o dobrej orientacji w badanej dziedzinie. Treść pracy napisana jest starannie, zwięźle i utrzymana jest w logicznej sekwencji.

Z dużą satysfakcją pragnę podkreślić wartości poznawcze przedstawionych do oceny badań naukowych i ich znaczenie dla zrozumienia mechanizmów i możliwości leczenia chorób cywilizacyjnych. Potwierdzeniem wysokiej wartości merytorycznej przedstawionej do recenzji dysertacji jest opublikowanie części wyników badań, w formie oryginalnych prac - w czasopismach posiadających znaczący współczynnik oddziaływania Impact Factor (*Pharmaceuticals - Impact Factor: 5,215; Punktacja MNiSW: 100; Molecules - Impact Factor: 4,927 Punktacja MNiSW: 140*). Należy także podkreślić, iż w przypadku obu publikacji Doktorant jest pierwszym Autorem. Na uwagę zasługuje również fakt, iż wyniki przedłożonej do recenzji dysertacji zostały zaprezentowane na międzynarodowych konferencjach naukowych (*Swiss Chemical Society ONLINE, 2021, French Medicinal Chemistry Society : Caen, France, 2020*).

Reasumując, przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pana mgr Dawida Maliszewskiego włącza się w niezwykle istotny zarówno z punktu widzenia naukowego, jak i medycznego, nurt badań poświęconych poszukiwaniu potencjalnych nowych form terapeutycznych chorób cywilizacyjnych. Ponadto uważam, że przedłożona przez Doktoranta rozprawa, z uwagi na zaprezentowany poziom naukowy i wartości poznawcze oraz oparcie wysuniętych wniosków na obszernym materiale eksperymentalnym w pełni odpowiada wymogom ustawowym stawianym rozprawom doktorskim.

Potwierdzeniem wysokiej wartości merytorycznej przedstawionej do recenzji dysertacji jest opublikowanie wyników badań w formie oryginalnych prac, w czasopismach posiadających znaczący współczynnik oddziaływania Impact Factor.

Jednocześnie, zważywszy na nowe elementy poznawcze zawarte w ocenianej rozprawie, zastosowanie złożonego panelu eksperymentalnego, a także bardzo ważne znaczenie praktyczne przedstawionych badań, proponuję wyróżnienie pracy.

Podsumowując, w nawiązaniu do powyższego, wyrażam opinię, że przedstawiona do recenzji praca odpowiada wymogom stawianym rozprawom na stopień naukowy doktora, co w konsekwencji upoważnia mnie do wystąpienia z wnioskiem do Kolegium Nauk Farmaceutycznych Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pana mgr Dawida Maliszewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

PROFESOR SUM BADAWCZO-DYDAKTYCZNY  
Katedry i Zakładu Chemii i Analizy Leków  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

*Artur Beberok*

dr hab. n. farm. Artur Beberok prof. SUM 4