

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

Sosnowiec, 14.11.2022

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr Dawida Maliszewskiego

Tytuł:

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

Recenzja została przygotowana w związku z pismem prof. Wojciecha Miltyka, Dziekana Kolegium Nauk Farmaceutycznych, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (pismo z dnia 3.11.2022r)

Informacje ogólne

Pan mgr Dawid Maliszewski jest absolwentem studiów chemicznych, Uniwersytetu w Białymstoku, specjalności chemia organiczna. Studia pierwszego stopnia ukończył w 2015 r., a studia drugiego stopnia w 2017 r. Studia doktoranckie rozpoczął w 2018 r. na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku. W czasie swojej edukacji uzyskał uprawnienia nauczycielskie. Od 2018 r. pracuje jako nauczyciel chemii i pedagog w Szkole Podstawowej Nr 30 w Białymstoku. Realizując prace badawcze w trakcie studiów doktoranckich odbył miesięczny staż naukowy w Instytucie Chemii Organicznej Politechniki Łódzkiej. W latach 2019 - 2021 realizował dwa projekty badawcze dotyczące s-triazyn (w roli kierownika projektu) oraz był współwykonawcą projektu statutowego N/ST/ZB/18/001/2204.

Doktorant posiada w swoim dorobku 5 publikacji naukowych o łącznym wskaźniku IF = 21,053. Prace zostały opublikowane w czasopiśmie: *Pharmaceuticals*, *Molecules*,

Investigational New Drugs i Journal of Antibiotic. Jest współautorem 12 prezentacji na sympozjach naukowych ogólnopolskich i międzynarodowych. Publikacja: Maliszewski Dawid, Drozdowska Danuta, „Recent advances in the biological activity of s-Triazine core compounds” zaprezentowana w czasopiśmie *Pharmaceuticals* jest pracą przeglądową i została dołączona w skład rozprawy doktorskiej. Zaprezentowany dorobek jest bardzo znaczący i imponujący.

Ocena rozprawy

Rozprawa doktorska Pana mgr Dawida Maliszewskiego została przygotowana w języku angielskim. Promotorem rozprawy doktorskiej jest dr hab. Danuta Drozdowska oraz prof. dr. Rasime Damirel z Eskisehir Technical University, Turcja.

Część syntetyczna badań zrealizowana została w Katedrze Chemii Organicznej, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku i Instytucie Chemii Organicznej, Politechniki w Łodzi, natomiast część badań biologicznych była wykonywana w: Eskisehir Technical University, Turcja (badania mikrobiologiczne), Katedrze Analizy Farmaceutycznej i Biofarmaceutycznej oraz Katedrze Diagnostyki Hematologicznej (badania przeciwnowotworowe) Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. W rozprawie nie zostały wskazane jednostki, gdzie zostały wykonane badania biologiczne inhibicji acetylocholinoesterazy i β -sekretazy.

Badania Doktoranta poruszają aktualną, aplikacyjną i ważną tematykę naukową. Dotyczą syntezy i analizy aktywności: przeciwbakteryjnych, przeciwgrzybiczych, przeciwnowotworowych, antyneurodegeneracyjnych nowych, bogatych w azot pochodnych s-triazyny. Tematyka ta dobrze wpisuje się w nowoczesne trendy chemii medycznej, skupiające uwagę na poszukiwaniu nowych biologicznie aktywnych związków, skutecznych w terapiach chorób cywilizacyjnych.

Autor podzielił dysertację na XIII rozdziałów: Wstęp, Cel pracy, Materiały i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski oraz Abstrakty: anglo- i polskojęzyczne, Referencje i spis rysunków, schematów i tabel. Dysertacja liczy 97 stron, w których 19 ostatnich stron stanowi Annex 1 (XIII rozdział, przeglądowa publikacja z *Pharmaceuticals* 2022). W części literaturowej Autor pokazuje metodę syntezy układu 1,3,5-triazyny (s-triazyny) oraz różne perspektywy aktywności biologicznych tych pochodnych jako wielocelowych substancji leczniczych. Ukazuje związki będące już lekami, nowe pochodne w różnym stadium badań biologicznych oraz dokonuje wstępnych analiz SAR. Do tej części rozprawy Pan Maliszewski

wykorzystał 74 doniesienia literaturowe, w większości związane z najnowszymi publikacjami ogólnoświatowymi. Następnie zostaje ukazany cel i założenia pracy. W tym rozdziale Autor wskazuje, że temat doktoratu jest kontynuacją wcześniej rozpoczętych badań w obszarze s-triazyn jakie prowadzone były w Katedrze Chemii Organicznej UM w Białymstoku. Doktorant przeprowadził kilkietapową syntezę prowadzącą do wydajnego otrzymania finalnych 1,3,5-triazyny z podstawnikami: 2-chloroetylopiperazynowym, metoksyowym i ugrupowaniami dipeptydowymi. Autor otrzymał 8 nowych, nieopisanych wcześniej pochodnych s-triazyn **4a-4h**, których strukturę potwierdził analizami spektroskopowymi ^1H NMR, ^{13}C NMR oraz HR MS. Związki te oraz ich substraty **3a-3h** zostały zebrane w tabeli 1. W tym miejscu chciałabym zapytać dlaczego Doktorant ograniczył syntezę tylko do takiej ilości pochodnych oraz dlaczego dla związków **3a-3h** nie zostały wykonane analizy spektrometrii mas HR MS potwierdzające ich czystość. Recenzent wskazuje również, iż dobrze byłoby przypisać poszczególne przesunięcia chemiczne atomów węgla, co można wykonać z zastosowaniem dostępnych technik 2D NMR. Należy zwrócić także uwagę na prawidłowe zapis: wyrażen ^1H NMR i ^{13}C NMR, ponieważ pojawiły się nieścisłości na stronie 27, 64, nazwy podstawnika 2-chloroetylopiperazynowego a nie 2-etylopiperazynowego (strona 64) oraz zapis dichlorometanu jako DCM (strona 27).

Otrzymane finalne nowe pochodne s-triazyny **4a-4h** zostały poddane badaniom aktywności przeciwbakteryjnej (wraz z analizą inhibicji gyrazy), aktywności przeciwwgrzybiczej, przeciwnowotworowej i analizie inhibicji acetylocholinoesterazy, β -sekretazy. Przeprowadzono także modelowanie molekularne inhibicji gyrazy bakteryjnej oraz wstępne badania strukturalne *in silico* (tabela 9).

Do badań aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwwgrzybiczej Autor dołączył związki **5a-7c**, które w 2016 r. zostały opisane przez zespół Frączyk at al. i wcześniej zostały otrzymane w zespole Pani Promotor. W tym miejscu rodzi się moje pytanie w jakim celu Autor dołączył te związki do badań biologicznych gdyż nie zostało to jasno sprecyzowane w rozdziale cele i założenia. W trakcie badań aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwwgrzybiczej zostały wyłonione najbardziej aktywne pochodne **4c** i **4d**. Określono cel molekularny w teście hamowania gyrazy bakteryjnej, co dodatkowo zostało potwierdzone i zobrazowane modelowaniem molekularnym.

W kolejnym etapie zostały przeprowadzone badania aktywności przeciwnowotworowej w stosunku do komórek nowotworów piersi: MCF-7 i MDA-MB-231 dla związków **4a-4h**. Dla

porównania aktywności przeciwnowotworowej zostały przywołane aktywność literaturowe IC₅₀ chlorambucylu jako substancji referencyjnej. Wśród pochodnych najbardziej aktywną okazała się pochodne **4a** z IC₅₀ = 18.99 μM, a pozostałe pochodne wykazywały zasadniczo niższą aktywność. Porównywalną aktywność z chlorambucylem wykazywały pochodne **4b** i **4d** w stosunku do komórek MDA-MB-231. Jako Recenzent chciałabym zadać pytanie dlaczego do panelu tych badań nie użyto prawidłowych komórek ludzkich aby sprawdzić pełną cytotoksyczność, dodatkowo dlaczego zostały wytypowane tylko dwa rodzaje komórek nowotworowych i czy nie warto byłoby sprawdzić aktywność tych pochodnych w stosunku do innych nowotworów. Pozostawiam również do rozważenia zbadanie mechanizmu aktywności przeciwnowotworowej dla najbardziej obiecującej pochodnej. Do wyników tych badań niezbędne jest także dołączenie analizy statystycznej, której w tej części zabrakło. Następnie Autor sprawdził wpływ otrzymanych związków **4a-4h** na inhibicję acetylocholinoesterazy i β-sekretazy, jako enzymów pełniących istotną rolę w procesie neurodegeneracyjnym. Autor nie wskazał jednak jednostki gdzie były wykonywane tego rodzaju badania. Czy w domyśle można rozumieć, że były one wykonywane w Katedrze Chemii Organicznej? Wśród otrzymanych pochodnych związków **4a** wykazywał inhibicję porównywalną z substancją referencyjną jaką był donepezyl. Doktorant przeprowadził również wstępną analizę deskryptorów molekularnych jak i sprawdził zgodność z regułą pięciu Lipinskiego programem BIOVIA. Wyniki zostały zebrane w tabeli 9 w rozdziale dyskusja. Uważam, iż tabela 9 powinna znaleźć się w rozdziale wyniki wraz z jasnym wskazaniem serwera internetowego, z którego Autor korzystał i który również powinien zostać odnotowany w referencjach.

W końcowej części rozprawy Pan Maliszewski precyzuje wnioski z wykonanych prac badawczych oraz potwierdza pozytywną weryfikację hipotezy badawczej.

Jako Recenzent doceniam prace syntetyczne zrealizowane w laboratorium chemii organicznej, umiejętność dokonywania trudnych analiz strukturalnych jak i szeroki panel badań biologicznych. Z obowiązku Recenzenta wspomnieć muszę o niektórych błędach edytorskich, które pojawiły się w rozprawie: referencje cytowane są w nawiasach ale także jako indeks górny (str. 42), nr związków na str. 52 nie zostały zaznaczone pogrubieniem, czy podstawnik 2-chloroetylopiperazynowy został omyłkowo nazwany 2-etylopiperazynowym (str. 62,64). Niedociągnięcia te nie umniejszają wartości przedstawionych wyników.

Podsumowanie

Przeprowadzone badania właściwie wpisują się w aktualną tendencję związaną z projektowaniem nowych substancji bioaktywnych, które mogą zostać wykorzystane w przyszłości w leczeniu chorób cywilizacyjnych. Zaprezentowany wcześniej dorobek naukowy Doktoranta jest znaczący i wysoce obiecujący. Wyniki zebrane w rozprawie doktorskiej z pewnością mogą stać się tematem kilku publikacji naukowych w znaczących w chemii medycznej czasopismach. Rozprawa doktorska Pana Maliszewskiego w pełni prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną jak i umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Podsumowując stwierdzam, iż rozprawa doktorska Pana mgr Dawida Maliszewskiego, znacząco przyczynia się do rozwoju dyscypliny nauki farmaceutycznej i spełnia wszelkie wymagania stawiane pracom doktorskim. Zwracam się do Kolegium Nauk Farmaceutycznych, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie rozprawy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Sosnowiec, dnia 14 listopad 2022 r. Dr hab. n. farm. Beata Morak-Młodawska, prof. SUM

PROFESOR SUM BADAWCZO-DYDAKTYCZNY
Katedry i Zakładu Chemii Organicznej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
Beata Morak-Młodawska
Dr hab. n. farm.
Beata Morak-Młodawska prof. SUM