

---

Wydział Farmaceutyczny  
Katedra Chemii Bioorganicznej i Biokoordynacyjnej  
Zakład Chemii Bioorganicznej  
**dr hab. n. chem. Dorota Gabriela Piotrowska**

---

Łódź 6 lipca 2015

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Joanny Skiby zatytułowanej**

***„Metalocenyłowe pochodne zasad nukleinowych oraz antybiotyków  $\beta$ -laktamowych – nowe biometalokoniugaty o właściwościach przeciwnowotworowych i przeciwbakteryjnych”* przedstawiona Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego w celu uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w Katedrze Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem dr hab. Konrada Kowalskiego, prof. nadzw. UŁ, którego zainteresowania naukowe koncentrują się wokół syntezy metalocenowych pochodnych związków organicznych o założonych właściwościach oraz poszukiwaniu ich praktycznych zastosowań.

Łączenie dwóch i więcej fragmentów farmakoforowych w nowe związki hybrydowe należy do strategii obecnie powszechnie stosowanych w poszukiwaniu związków o potencjalnie wyższej aktywności biologicznej. Opisane przed Doktorantką koniugaty metalocenów ze sfunkcjonalizowanymi pochodnymi zasad nukleinowych doskonale wpisują się w ten wysoce aktualny, zwłaszcza w chemii medycznej, nurt badań.

Rozprawa doktorska mgr Joanny Skiby została przygotowana w formie 34-stronicowego autoreferatu zawierającego wprowadzenie w podjętą tematykę, opis przeprowadzonych prac badawczych wraz z kompletem publikacji, w których opisane są wyniki. Całość uzupełnia ogólna charakterystyka dorobku naukowego Doktorantki.

Przedstawiony do oceny materiał przygotowany został w sposób przejrzysty i staranny, dobrze podkreśla osiągnięcia, a załączone publikacje dokumentują uzyskane wyniki z uwzględnieniem zaproponowanych metod syntezy, dowodów strukturalnych nowatorsko zaprojektowanych i otrzymanych związków oraz badań ich właściwości biologicznych. Oświadczenia współautorów jednoznacznie określają ich udział we wspólnych interdyscyplinarnych pracach i nie

Katedra Chemii Bioorganicznej i Biokoordynacyjnej  
Zakład Chemii Bioorganicznej

90-151 Łódź | ul. Muszyńskiego 1  
tel. (042) 677 92 35  
e-mail: dorota.piotrowska@umed.lodz.pl  
www.umed.pl

pozostawiają wątpliwości, że autorami koncepcji przedstawionych badań są Promotor oraz Doktorantka i to Oni byli inicjatorami współpracy kilku zespołów.

Autoreferat rozpoczyna krótki, ale bardzo przejrzyste napisany, podrozdział dotyczący kwasów nukleinowych, co jednoznacznie wskazuje, która klasa związków jest w przeprowadzonych badaniach najważniejsza. Kolejny fragment pracy wprowadza czytelnika w chemię biometaloorganiczną, a następnie Doktorantka przedstawia stan wiedzy na temat ferrocenyowych pochodnych nukleozasad oraz metaloorganicznych antybiotyków  $\beta$ -laktamowych, co stanowi dobre wprowadzenie w podjętą tematykę badawczą. Wyniki przeprowadzonych prac eksperymentalnych Doktorantka opisała w podrozdziale „Badania własne”, który zawiera trzy zasadnicze części. Najpierw przedstawiła opracowane przez siebie procedury, wg których otrzymywała nowe związki chemiczne, a następnie ustaliła budowę chemiczną nowosyntetyzowanych połączeń udowadniając biegłość w interpretacji widm NMR i wykorzystaniu danych spektralnych w analizie strukturalnej. W dalszej części zbadano właściwości elektrochemiczne otrzymanych pochodnych. W ostatnim fragmencie Doktorantka zestawiała wyniki badań aktywności przeciwnowotworowej i przeciwbakteryjnej nowych biometalokoniugatów przeprowadzonych w ramach wielośrodkowej współpracy z University of South Florida, Technische Universität Braunschweig, Narodowym Instytutem Zdrowia Publicznego w Warszawie oraz Katedrą Termobiologii w Uniwersytecie Łódzkim.

Podstawowym warunkiem realizacji założeń projektu było opracowanie dogodnej drogi syntezy zaprojektowanych związków. Autorka w sposób zasługujący na uznanie wywiązała się z tego zadania. Otrzymane zostały zróżnicowane strukturalnie cztery serie związków, koniugatów metalocenów z podstawionymi nukleozasadami, w których jako łącznik pomiędzy metaloceniem a wybraną nukleozasadą zastosowano prosty lub odpowiednio sfunkcjonalizowany łańcuch alifatyczny.

Pochodne zawierające jako łącznik ugrupowanie oksoalkilowe (oznaczone w autoreferacie jako związki **80**) zsyntetyzowano w sekwencji reakcji obejmujących acylowanie metalocenu chlorkiem 3-chloropropionylowym w warunkach reakcji Friedla-Craftsa, utworzenie akryloilowej pochodnej metalocenu w wyniku eliminacji chlorowodoru i addycję Michaela zasady nukleinowej do akryloilometalocenu. Doktorantka zauważyła, że wyodrębnianie akryloilometalocenu nie jest konieczne i tym samym efektywnie uprościła procedurę otrzymywania związków **80**.

W dalszej części pracy Doktorantka zajęła się przekształceniami otrzymanych przez siebie adduktów Michaela **80** wykorzystując reaktywność ugrupowania karbonylowego. Tym samym w sposób przemyślany zrealizowała syntezy serii analogów z łącznikiem hydroksyalkilowym (związki **84**) oraz alkilowym (związki **86**) wykorzystując odpowiednio: reakcje redukcji

Katedra Chemii Bioorganicznej i Biokoordynacyjnej  
Zakład Chemii Bioorganicznej

90-151 Łódź | ul. Muszyńskiego 1  
tel. (042) 677 92 35  
e-mail: dorota.piotrowska@umed.lodz.pl  
www.umed.pl



egzocyklicznej grupy karbonylowej borowodorkiem sodowym z utworzeniem alkoholi **84** oraz redukcję za pomocą PEMB (boranu 5-etylo-2-metylopirydyny) prowadzącą do powstania alkilowych pochodnych **86**. Równolegle racemiczne pochodne hydroksylowe **84** posłużyły jako prekursorzy w syntezie pochodnych z wiązaniem podwójnym (związki **85**). W tym miejscu mam jedynie uwagę dotyczącą poprawności użytego przez Doktorantkę terminu „wysoka regioselektywność” w odniesieniu do redukcji grupy karbonylowej, gdyż z uwagi na obecność w rozważanych układach tylko jednej grupy karbonylowej trudno w tym miejscu mówić o regioselektywności reakcji.

Doktorantka słusznie uznała, że w zaplanowanych badaniach biologicznych wystarczające będzie użycie racemicznych alkoholi **84**. Ciekawym i ważnym z punktu widzenia przemian stereochemicznych byłoby natomiast rozpoznanie możliwości transformacji prochiralnych ketonów **80** do alkoholi **84** w obecności chiralnych odczynników redukujących (synteza enancjoselektywna). Uwaga niniejsza ma jedynie charakter ogólny, ale być może zainspiruje Doktorantkę do zajęcia się tym wątkiem badawczym w przyszłości.

Spośród wszystkich otrzymanych związków ferrocenylowych Doktorantka wskazała kilka pochodnych różnie sfunkcjonalizowanych zarówno w obrębie łącznika jak i nukleozasady, które przekazała do badań aktywności przeciwnowotworowej (badania na sześciu liniach komórkowych: MCF-7, MDA-MB-231, HT-29, CCRF-CEM, SKOV-3 i L929). W tabeli 2 w rozdziale 9.1 autoreferatu Doktorantka podaje cytotoksyczność ( $IC_{50}$ ) wobec trzech linii MDA-MB-231, HT-29 i MCF-7. Wprawdzie analiza danych zawartych w załączonych publikacjach pozwala wnioskować, że Doktorantka w tabeli 2 przedstawiła jedynie wybrane wyniki, ale w tym miejscu brakuje trochę krótkiej informacji wyjaśniającej tę niespójność, która na pierwszy rzut oka wyglądać może jak niekompletność danych. Szkoda, że nie jest znana toksyczność badanych związków wobec komórek prawidłowych.

Z punktu widzenia analizy zależności struktura–aktywność biologiczna (SAR), ciekawe uzupełnienie serii metalocenowych pochodnych zasad nukleinowych stanowią pochodne wielordzeniowe **88**. Doktorantka otrzymała je w reakcji Sonogashiry pochodnych 5-jodouracylu **80** z etynyloferrocenem. Porównanie uzyskanych wartości  $IC_{50}$  dla badanych związków pozwoliło doktorantce wskazać najaktywniejsze, tzw. „struktury wiodące” do dalszych modyfikacji (związki **86c** i **88a**).

Wybrane metalocenowe pochodne zasad nukleinowych Doktorantka przekazała do badań ich aktywności przeciwbakteryjnej wobec Gram-dodatnich antybiotykowrażliwych (MSSA) i antybiotykkoopornych (MRSA i VRSA) szczepów gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*) oraz szczepu *Staphylococcus epidermidis*. Najaktywniejszym spośród badanych okazał się

związek **80c**, pochodna 5-fluorouracylu, dla którego wartości MIC mieściły się w granicach 16-32 µg/mL.

Bibliotekę otrzymanych przez Doktorantkę związków dopełniają metalocenyłowe koniugaty antybiotyków β-laktamowych, które zaprojektowane zostały z zamysłem zbadania ich właściwości przeciwbakteryjnych, co jest w pełni uzasadnione biorąc pod uwagę obecność aktywnego komponentu β-laktamowego. Otrzymane zostały metalocenyłowe pochodne kwasu 6-aminopenicylanowego (związki **89**) oraz pochodne ampicyliny (związki **90**). W tej grupie związków najaktywniejszym, spośród badanych był koniugat rutenocenyłowy z kwasem 6-aminopenicylanowym **89c**, który wobec metycyliny-wrażliwych bakterii *Staphylococcus aureus* oraz szczepu *Staphylococcus epidermidis* (MIC odpowiednio 2 i 4 µg/mL) wykazywał aktywność 100-krotnie wyższą w porównaniu z samym kwasem 6-aminopenicylanowym (MIC odpowiednio 200 i 400 µg/mL).

Analiza materiałów uzupełniających do załączonych publikacji (Supplementary Information) dowodzi, że prace syntetyczne należy ocenić wysoko. Zawierają one komplet widm otrzymanych związków, które potwierdzają ich wysoką czystość. Świadczy to bardzo dobrze o technice pracy Doktorantki i jej doskonałym przygotowaniu warsztatowym.

Podsumowując część autoreferatową przygotowaną przez mgr Joannę Skibę należy podkreślić, że została ona napisana starannie, poprawnym językiem, a na pochwałę zasługuje staranna korekta edytorska. Z obowiązku recenzenta wspomnieć muszę jedynie o drobnych błędach w nazewnictwie:

- związek **81a** to akryloilferrocen a nie „akroilferrocen”
- **FcCH<sub>2</sub>Fc** to grupa ferrocenyłometyloferrocenyłowa” a nie „diferrocenyłometanowa”

Wspomniane w tym miejscu drobne niedociągnięcia w niczym nie umniejszają wartości przedstawionej rozprawy, która w opinii recenzenta zasługuje na wysoką ocenę.

Całkowity dorobek naukowy Doktorantki, w którego skład wchodzi 6 prac oryginalnych opublikowanych w pełnej wersji w latach 2012–2015 o sumarycznym IF=23.513 uważam za bardzo dobry. Prace te już zostały zauważone w literaturze, co znajduje swoje odzwierciedlenie w liczbie cytowań oraz wysokim, jak na tak młodego naukowca wskaźniku Hirscha (3). W swoim dorobku posiada również 17 komunikatów zjazdowych zaprezentowanych na zjazdach krajowych i międzynarodowych. Pani mgr Skiba w czasie krótkiego okresu studiów doktoranckich odbyła również staż w zespole prof. dr hab. Bartłomieja Furmana w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie co pozytywnie wpłynęło na jej rozwój naukowy.

Katedra Chemii Bioorganicznej i Biokoordynacyjnej  
Zakład Chemii Bioorganicznej

90-151 Łódź | ul. Muszyńskiego 1  
tel. (042) 677 92 35  
e-mail: dorota.piotrowska@umed.lodz.pl  
www.umed.pl



Doktorantka miała również okazję doskonalenia swoich umiejętności dydaktycznych prowadząc zajęcia ze studentami z przedmiotów chemia organiczna i chemia kosmetyczna.

**Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Joanny Skiby spełnia wymagania ustawowe (Ustawa o Tytule Naukowym i Stopniach Naukowych). Wnoszę zatem do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

**Biorąc pod uwagę oryginalność przedstawionych badań oraz ich multidyscyplinarny charakter jak również ogólny wysoki dorobek naukowy Doktorantki zwracam się do wysokiej Rady Wydziału Chemii z wnioskiem o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr Joanny Skiby.**