

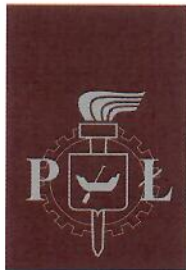
Łódź, 2024-03-15

Recenzja Pracy Doktorskiej zatytułowanej

**“Zastosowanie technologii chemii mikrofalowej i przepływowej w opracowaniu
innowacyjnego inhibitora drobnocząsteczkowego o wysokiej aktywności
przeciwnowotworowej przeciwko ostrej białaczce szpikowej (AML)”
przygotowana przez Panią mgr Natalię Piórkowską**

Podstawą wydania opinii o rozprawie doktorskiej Pani mgr Natalii Piórkowskiej jest pismo Pani prof. dr hab. Iwony Łakomskiej, Dziekana Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu z dnia 18 stycznia 2024 r.

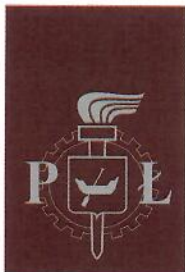
Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Natalii Piórkowskiej została wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Promotorem rozprawy doktorskiej jest Pan prof. dr hab. Jacek Ścianowski, a promotorem pomocniczym dr Adbrllah Yamani. Przedstawiona mi do recenzji praca wykonana została w ramach programu Ministerstwa Edukacji i Nauki „Doktorat wdrożeniowy” zgodnie z trójstronną umową pomiędzy Panią Natalią Piórkowską, firmą Celon Pharma S.A., a Uniwersytetem Mikołaja Kopernika w Toruniu. Pani Piórkowska jest współautorką trzech prac naukowych opublikowanych w *European Journal of Medicinal Chemistry*, *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* oraz *Frontiers in Oncolog*, bardzo dobrych czasopismach chemicznych o zasięgu międzynarodowym o sumarycznym współczynniku oddziaływań $IF_{2023} = 13.2$. Ponadto wyniki badań wchodzące w skład rozprawy, Doktorantka prezentowała na konferencjach naukowych krajowych, jak i międzynarodowych, a także uczestniczyła w licznych szkoleniach podnosząc swoje kompetencje. Była również beneficjentką grantów wydziałowych w latach 2020 oraz 2021.



Pracę doktorską mgr Natalii Piórkowskiej przeczytałam z uwagą i zainteresowaniem. Dysertacja ta jest bardzo obszerna, została przygotowana w sposób klasyczny i liczy 294 strony, drukowane pojedynczo. Składa się z ośmiu rozdziałów wśród których najważniejsze to: Cel pracy, wprowadzenie w tematykę pracy (stanowiące część literaturową pracy i liczące 60 stron), omówienie wyników badań własnych (zawierające się na 20 stronach), część doświadczalna wraz z opisami widm NMR (licząca 88 stron), rozdział dotyczący optymalizacji ścieżki syntezy (zawierający się na 84 stronach – rozdział ten według mnie powinien się znaleźć w części doświadczalnej czy nawet badaniach własnych, a nie stanowić oddzielną część) a także spis literatury cytowanej (który obejmuje 148 doskonale dobranych pozycji odnoszących się do aktualnych artykułów literaturowych związanych z omawianą tematyką badawczą). Ten fragment rozprawy został przygotowany bardzo starannie i nie zawiera błędów edytorskich. Ponadto w skład rozprawy wchodzi streszczenia w języku polskim i angielskim oraz wykaz skrótów stosowanych w pracy.

Część literaturowa dysertacji została poświęcona scharakteryzowaniu choroby nowotworowej jaką jest ostra białaczka szpikowa. Ten fragment pracy otwiera rozdział dotyczący omówienia tej choroby, oraz sposobów jej leczenia z uwzględnieniem chemio- i radioterapii a także transplantacji komórek krwiotwórczych. Kolejne podrozdziały odnoszą się następujących zagadnień: rola i budowa kinazy FLT3 – kinazy tyrozynowej (która jest odpowiedzialna za komunikację pomiędzy komórkami), a także jej mutację z uwzględnieniem roli i znaczenia jej inhibitorów, które możemy podzielić na inhibitory I, II oraz nowszej generacji.

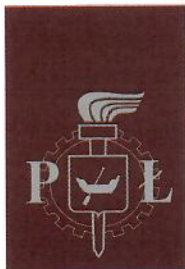
W dalszej części Doktorantka omówiła wykorzystanie reaktorów przepływowych oraz mikrofalowych w syntezie chemicznej. Przedstawione podejścia posiadają wiele zalet i stanowią ciekawe alternatywy dla tradycyjnych metod. Ich zalety to: 1) szybkość - reaktory przepływowe umożliwiają ciągłą produkcję, co jest korzystne w przypadku reakcji o krótkim czasie życia; natomiast mikrofalowe pozwalają na błyskawiczną syntezę materiałów, w tym nanomateriałów; 2) precyzja - dzięki stałemu przepływowi reagentów można uzyskać lepszą kontrolę nad warunkami reakcji; 3) bezpieczeństwo -



minimalizacja ryzyka awarii i niekontrolowanej wymiany ciepła; 4) skalowalność - możliwość łatwego zwiększenia skali syntezy; 5) efektywność - realizowane z udziałem reaktorów mikrofalowych reakcje są wydajne i ekonomiczne. Wykorzystanie podejścia flow i reaktorów mikrofalowych może znacząco poprawić efektywność i jakość syntezy związków biologicznie ważnych, jednocześnie ograniczając koszty i ryzyka procesowe.

Kolejny rozdział to Badania własne, który otwiera krótki wstęp. W dalszej części Doktorantka identyfikuje cele syntetyczne czyli związki, które dzięki swojej strukturze powinny efektywnie wiązać się z receptorem. Początkowo korzystając z metod bioinformatycznych, Doktorantka stworzyła wirtualną bibliotekę składającą się z 700 związków, a po przeanalizowaniu bazy PDB wytypowała około 110 związków do dalszej syntezy. Jako modelowe układy wybrała sfunkcjonalizowane pochodne pirymidyny oraz pirolopirymidyny, gdyż te motywy strukturalne są obecne w wielu lekach. Otrzymane związki zostały następnie poddane badaniom biochemicznym oraz komórkowym *in vivo*, co pozwoliło na wyznaczenie wartości IC_{50} . Czyli stężenia inhibitora potrzebnego do zmniejszenia określonej aktywności biologicznej związku o 50%. Dzięki temu Doktorantka wybrała dwie wiodące struktury pirolopirymidyny o numerach **69** i **129**, które są obecnie w fazie badań przedklinicznych. Wytypowane układy swoją strukturę oraz sposób oddziaływania mają podobne do związków referencyjnych. Struktury wiodące poddano badaniom stabilności metabolicznej u ludzi i myszy, rozpuszczalności oraz przepuszczalności przez błony komórkowe, a związek **69** przebadano na modelach komórkowych KASUMI-1, NOMO-1 oraz MOLM-13 i jest on bardziej aktywny w porównaniu do układu referencyjnego.

Kolejny fragment rozprawy to część doświadczalna, w której Autorka opisała syntezy docelowych pochodnych pirymidyny i pirolopirymidyny. W sposób precyzyjny zostały przedstawione przepisy preparatywne i dane spektralne otrzymanych związków. Opisy widm NMR charakteryzują się wysoką jakością, co potwierdza Jej wiedzę w tym zakresie. Niemniej jednak w tym rozdziale brakuje mi ogólnych schematów reakcji, które



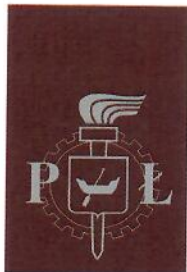
ułatwiłyby łatwiejsze prześledzenie tej części pracy i znalezienie wymaganych informacji.

Ostatnia część pracy, która według mnie powinna stanowić ważny fragment badań własnych gdyż jest ona bezpośrednio związana z tematem rozprawy doktorskiej, dotyczy opracowania warunków syntezy inhibitora UNC2025 przy wykorzystaniu reaktorów przepływowych oraz mikrofalowych. Doktorantka przeprowadziła bardzo dużo eksperymentów i wykazała, że użycie obu tych technologii skraca czas całej syntezy i ma również wiele korzyści ekonomicznych. Chciałabym zwrócić uwagę, że pierwsza część pracy dotycząca syntezy biblioteki związków i następcze zbadanie ich właściwości, nie jest bezpośrednio związana z tematem pracy doktorskiej, który według mnie powinien być sformułowany w bardziej ogólny sposób. Należy się zastanowić czy opracowane warunki reakcji z wykorzystaniem reaktorów przepływowych oraz mikrofalowych nie powinny być zaaplikowane do syntezy wytypowanych związków wiodących **69** i **129**.

Podczas lektury pracy moją uwagę zwróciły pewne zagadnienia, które wymieniam poniżej:

- 1) Z czego wynika wykorzystanie jako związków referencyjnych UNC2025 i MRX-2843, czy one są stosowane w terapii antynowotworowej?
- 2) Z czego wynikają różnice w wydajności reakcji sprzęgania Sonogashiry, dla przykładu związek **66** został otrzymany ze 100% wydajnością (co w mojej ocenie nie jest możliwe), podczas gdy związki **68**, **69** czy **73** z wydajnościami odpowiednio 30%, 11%, 21%. Poproszę o komentarz w tej kwestii.
- 3) Produkty reakcji Suzuki **100**, **101**, **108**, **109** zostały otrzymane z wydajnościami 2 - 7%, proszę o informację, co jest głównym produktem tych reakcji?

W mojej opinii rozprawa doktorska Pani mgr Natalii Piórkowskiej stanowi rozwiązanie interesującego problemu badawczego i poszerza zestaw narzędzi syntetycznych służących otrzymaniu inhibitora drobnocząsteczkowego, posiadającego szeroką aktywność antynowotworową przeciwko białaczce szpikowej AML. Praca jednoznacznie potwierdza umiejętności preparatywne jak i analityczne



Politechnika Łódzka

Wydział Chemiczny

dr hab. inż. Anna Albrecht, prof. PŁ

Doktorantki. Koncepcja pracy jest dojrzała i przemyślana. Na uznanie zasługuje staranność widoczna zarówno w pracy eksperymentalnej jak i w edycyjnym przygotowaniu rozprawy. Wymienione w recenzji uwagi mają charakter formalny lub polemiczny i nie wpływają na moją wysoką ocenę przygotowanej rozprawy doktorskiej. Podsumowując pragnę stwierdzić, że cel pracy został zrealizowany, a przedstawiona mi do oceny praca doktorska spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2022 r. poz. 574 z późn. zm.) i zwracam się z wnioskiem do Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie Pani mgr Natalii Piórkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. inż. Anna Albrecht, prof. PŁ

Anna Albrecht