

Prof. dr hab. Andrzej Gzella
Katedra i Zakład Chemii Organicznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytetu im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu
ul. Rokietnicka 3, 60-806 Poznań



e-mail: akgzella@ump.edu.pl
tel.: +4861 641 85 07, +48 500 273 095

Poznań, dnia 6 października 2024

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Beaty Donarskiej
pt. ” Projektowanie i synteza nowych inhibitorów elastazy pochodnych talidomidu i ich
aktywność przeciwnowotworowa”
wykonanej na Wydziale Farmaceutycznym Collegium Medicum w Bydgoszczy,
Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu
pod kierunkiem dr. hab. Krzysztofa Z. Łączkowskiego, prof. UMK

Na rozprawę doktorską mgr Beaty Donarskiej składa się zbiór spójnych tematycznie czterech publikacji wydanych drukiem w recenzowanych czasopismach naukowych, dwie w Bioorganic Chemistry (2021 i 2023 r.) oraz po jednej w International Journal of Molecular Sciences (2023 r.) i Future Medicinal Chemistry (2020 r.). Trzy pierwsze publikacje posiadają charakter oryginalnych prac twórczych, czwarta, ostatnia charakter pracy przeglądowej. Wszystkie wyżej wymienione czasopisma znajdują się na „Liście Filadelfijskiej”. Łączna wartość współczynnika oddziaływania (ang. *impact factor*) wynosi 18,515, zaś liczba punktów MEiN 480. We wszystkich publikacjach składających się na rozprawę doktorską mgr Donarska jest pierwszym autorem. Fakt ten wraz z załączonymi oświadczeniami współautorów wskazują, iż Doktorantka jest również głównym wykonawcą prac. Do odbitek publikacji stanowiących podstawę postępowania doktorskiego mgr Donarska dołączyła komentarz w języku polskim obejmujący 83 strony maszynopisu oraz oświadczenia współautorów dotyczące ich udziału w pracach badawczych i opracowaniu manuskryptów.

Doktorantka w swojej pracy podjęła się zaprojektowania i opracowania syntezy „nowych pochodnych znanego leku przeciwnowotworowego talidomidu”, obierając metodę zwaną hybrydyzacją molekularną, zakładającą zaprojektowanie cząsteczek hybrydowych, składających się z dwóch lub więcej jednostek farmakoforowych. W oparciu o tę metodę otrzymuje się związki wykazujące aktywność farmakologiczną wobec kilku celów molekularnych jednocześnie. W tym miejscu warto zauważyć, iż zastosowanie w terapii leków pozyskanych metodą hybrydyzacji molekularnej pozwala na zwiększenie skuteczności leczenia oraz zmniejszenie ryzyka nawrotów choroby.

Przed rozpoczęciem badań eksperymentalnych Doktorantka dokonała przeglądu najnowszej literatury odnoszącej się do nowych inhibitorów enzymu elastazy. Efektem Jej

wysiłków był artykuł przeglądowy pt. „Recent advances in the development of elastase inhibitors” wydrukowany w recenzowanym czasopiśmie naukowym *Future Medicinal Chemistry*. Artykuł ten można traktować jako przygotowanie teoretyczne do przeprowadzenia w sposób kompetentny i wiarygodny badań opisanych w późniejszym cyklu trzech publikacji o charakterze prac twórczych.

Mgr Donarska zaprojektowała pięć serii (A – E) związków, zawierających w swojej strukturze pary znanych układów farmakoforowych ftalimidowy i tiazolowy (związki serii A – D), ftalimidowy(1-oksoizindolowy) i azetyldyno-2,4-dionu (związki serii E) oraz wiązanie iminowe (związki serii A – C). Cząsteczki związków serii A – C zawierają ponadto układy dichlorofenyłowe, zaś cząsteczki związków serii D układy niepodstawiony 1-naftyłowy oraz fenyłowy zawierający jeden, dwa lub trzy podstawniki. Łącznie Autorka zaprojektowała i otrzymała na drodze syntezy 29 związków o spodziewanej aktywności antyproliferacyjnej wybranych linii komórek nowotworowych i hamujących działanie ludzkiej elastazy neutrofilowej, enzymu proteolitycznego należącego do proteaz serynowych.

W artykule pt. „Effect of the dichloro-substitution on antiproliferative activity of phthalimide-thiazole derivatives. Rational design, synthesis, elastase, caspase 3/7, and EGFR tyrosine kinase activity and molecular modeling study” Doktorantka przedstawiła syntezę trzech serii związków oznaczonych symbolami A – C, w tym sześciu związków (5a–5f) serii A, sześciu związków (6a–6f) serii B oraz dwóch związków (7a i 7b) serii C, wszystkie zawierające w swojej strukturze układy farmakoforowe ftalimidu i tiazolu oraz wszystkie o charakterze zasady Schiffa. W syntezie związków trzech serii (A – C) za materiał wyjściowy posłużył Autorce ftalimid. Aby otrzymać związki 5a–5f (seria A) wymieniony substrat Autorka poddała reakcji addycji nukleofilowej Michaela do wiązania podwójnego metylowinyloketonu. Otrzymany produkt pośredni 2-(3-oksobutylo)ftalimid poddała kolejnej reakcji bromowania w celu otrzymania α -bromoketonu, to jest 2-(4-bromo-3-oksobutylo)ftalimidu, zaś ten ostatni reakcji kondensacji z tiosemikarbazonami dichlorobenzaldehydu. Związki 6a–6f (seria B) zawierające w swej strukturze dodatkowo ugrupowanie chloroacetamidowe mgr Donarska otrzymała w reakcji acetylowania związków 5a–5f serii A chlorkiem chloroacetylu. Natomiast ażeby otrzymać związki 7a i 7b serii C, w dwóch ostatnich etapach reakcji Autorka zastosowała odwrotną kolejność w odniesieniu do reakcji otrzymywania związków 5a–5f serii A. A mianowicie produkt pośredni 2-(3-oksobutylo)ftalimid wspólny dla reakcji otrzymywania związków serii A i C Doktorantka poddała najpierw reakcji z tiosemikarbazydem, a dopiero potem utworzony hydrazonokarbotioamid reakcji z α -bromoketonami (dichloropochodnymi bromoacetofenonu). Autorka otrzymała w ten sposób produkty 7a i 7b w których układy ftalimidowy i tiazolu są połączone linkerem 3-(hydrazono)butylowym, zaś układy dichlorofenyłowy i tiazolu łączą się z sobą bezpośrednio.

W artykule pt. „Spectrofluorimetric and computational investigation of new phthalimide derivatives towards human neutrophil elastase inhibition and antiproliferative activity” Doktorantka przeprowadziła badania związków 4a–4i serii D zawierających, podobnie jak związki serii A – C, układy farmakoforowe ftalimidu i tiazolu połączone linkerem etylenowym, jednak bez wiązania iminowego. Wymienione związki serii D Autorka otrzymała, posługując się metodą prowadzącą do utworzenia związków 5a–5e serii A, z tą różnicą, że w trzecim, ostatnim etapie reakcji miejsce tiosemikarbazonów dichlorobenzaldehydu zajęły pochodne

N-fenylomocznika podstawione w pierścieniu fenylovym jednym lub kilkoma podstawnikami, jak F, Cl, CF₃, OCH₃, CH₃, SO₂NH₂ i O=CCH₃.

W artykule pt. „Thalidomide derivatives as nanomolar human neutrophil elastase inhibitors: Rational design, synthesis, antiproliferative activity and mechanism of action” ostatnim w cyklu prac eksperymentalnych składających na rozprawę doktorską mgr Donarska zaprezentowała związki **4a–4f** serii **E** o strukturach, w których podstawowy rdzeń cząsteczki stanowi połączenie ftalimidu z 3,3-dietyloazetydino-2,4-dionem. Cztery związki (**4a–4d**) tej ostatniej serii Doktorantka otrzymała w trzyetapowej reakcji, w której posłużyła się bezwodnikami 4- i 5-nitroftalowymi jako materiałem wyjściowym. W pierwszym etapie wymienione bezwodniki ftalowe Autorka poddała reakcji z odpowiednimi aminami, co pozwoliło otrzymać N-podstawione nitroftalimidy. W drugim etapie przeprowadziła redukcję grupy nitrowej do aminowej, zaś w trzecim, ostatnim etapie potraktowała otrzymane N-podstawione aminoftalimidy dichlorkiem dietylomalonylu otrzymując ostatecznie wspomnianą już grupę związków **4a–4d**. Pozostałe dwa związki **4e** i **4f** serii **E** Doktorantka pozyskała, używając w tej ostatniej reakcji w miejsce N-podstawionych nitroftalimidów handlowo dostępne pochodne talidomidu pomalidomid i lenalidomid.

Dla związków serii **A** (**5a–5f**), **B** (**6a–6f**) i **C** (**7a**, **7b**) mgr Donarska przeprowadziła badania *in vitro* aktywności antyproliferacyjnej wobec nowotworowych linii komórkowych bifenotypowej białaczki mielomonocytovej B (MV4-11), ludzkiego nowotworu płuc (A549), ludzkiego nowotworu piersi (MCF-7), a ponadto badania toksyczności wobec linii normalnych mysich fibroblastów (BALB/3T3). Na związek referencyjny Autorka wybrała lek cisplatynę, tworzącą stabilne wiązania z białkami zawierającymi cysteinę. Celem badań była ocena wpływu różnej lokalizacji atomów chloru w układzie dichlorofenylovym na aktywność antyproliferacyjną trzech wymienionych serii związków.

Na podstawie uzyskanych wyników badań Autorka stwierdziła, że względem komórek białaczki ludzkiej MV4-11 wśród „pochodnych talidomidu” serii **A** największą aktywność antyproliferacyjną wykazują związki z atomami chloru w pozycjach 2,3, 2,4 i 3,4 układu dichlorofenylovego, zaś wśród „pochodnych talidomidu” serii **B** związki z atomami chloru w pozycjach 2,3, 2,4 i 3,5. Względem dwóch pozostałych typów nowotworów, to jest A549 i MCF-7, związki z atomami chloru w pozycjach 2,3 i 2,4 układu dichlorofenylovego aktywność antyproliferacyjną znacząco obniżają. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania pokazały, że związki zawierające w swej strukturze układ 3,4- i 3,5-dichlorofenylovym są wśród pochodnych zawierających układy ftalimidowy i tiazolu najbardziej aktywne. Według Autorki na aktywność antyproliferacyjną zaprojektowanych związków poza lokalizacją atomów chloru w układzie dichlorofenylovym wpływ ma również sposób łączenia i rozmieszczenie w cząsteczce układów farmakoforowych. Przy czym najkorzystniejsze z punktu widzenia aktywności przeciwnowotworowej okazały się związki serii **B**, zaś najmniej korzystne związki **7a** i **7b** serii **C**. W przypadku tych ostatnich Autorka zaobserwowała drastyczny spadek aktywności antyproliferacyjnej. Względem linii komórek ludzkiego nowotworu płuc (A549) i ludzkiego nowotworu piersi (MCF-7) wymienione związki okazały się zupełnie nieaktywne.

Dla związków serii **B** Doktorantka przeprowadziła dodatkowo badania zdolności do hamowania aktywności elastazy trzustkowej oraz badania pozwalające na wyjaśnienie prawdopodobnego mechanizmu działania tych związków. Na związek referencyjny wybrała

Ona kwas oleanolowy. Uzyskane wyniki pokazały, że największą zdolność do hamowania elastazy wykazują, podobnie jak w przypadku działania antyproliferacyjnego, związki **6e** i **6f** (wartości IC_{50} : 32,1 i 32,9 μ M) zawierające w strukturze cząsteczki podstawniki 3,4- i 3,5-dichlorofenyłowe. Odnotowane aktywności związków **6e** i **6f** były tylko dwukrotnie niższe od aktywności referencyjnego kwasu oleanolowego (IC_{50} : 14,2 μ M). W dalszych badaniach Doktorantka wykazała, że związki serii **B** charakteryzują się mieszanym mechanizmem inhibicji elastazy.

Przeprowadzone przez Autorkę obliczenia teoretyczne dokowania molekularnego związków serii **B** pozwoliły określić energie wiązania związków z miejscem aktywnym pięciu różnych struktur elastazy (1bma, 1hv7, 1qnj, 2de9, 2h1u) pozyskanych z bazy PDB. Odnotowała Ona, że najsilniejsze wiązanie z enzymem tworzy związek **6f**, zaś najslabsze związek **6b**. Autorka zauważyła, że uzyskane wyniki obliczeń teoretycznych bardzo dobrze korelują z wartościami IC_{50} wyznaczonymi eksperymentalnie. W kolejnym kroku badań, dotyczących tym razem obliczeń teoretycznych dokowania kowalencyjnego związków serii **B** do wybranych struktur elastazy, Doktorantka stwierdziła brak korelacji wartości IC_{50} z wynikami dokowania, co raczej wyklucza tworzenie się wiązań kowalencyjnych pomiędzy ligandem i enzymem.

W dalszych badaniach mgr Donarska dokonała oceny zdolności związków **6a–6f** do aktywacji kaspazy 3/7 oraz inhibicji kinazy tyrozynowej EGFR. Uzyskane przez Autorkę wyniki pokazały, że wiodący związek **6e**, zawierający w cząsteczce układ 3,4-dichlorofenyłowy, jako jedyny wśród związków serii **B** powoduje w komórkach nowotworu płuc (A549) prawie 16-krotny wzrost aktywności kaspazy 3/7 w odniesieniu do wzorca. Z kolei wiodący związek **6f**, zawierający w cząsteczce układ 3,5-dichlorofenyłowy, wykazuje najsilniejszy efekt inhibicji kinazy tyrozynowej EGFR. W tym ostatnim przypadku Autorka odnotowała obniżenie poziomu EGFR w komórkach A549 o około 31 %.

Ponieważ wyniki badań przeprowadzonych dla związków serii **A – C** pokazały, że na aktywność farmakologiczną ma wpływ lokalizacja atomów chloru w układach dichlorofenyłowych, Autorka zdecydowała się wprowadzić do struktury związków kolejnej serii, to jest **D**, układy fenyłowe z jednym, dwoma lub trzema podstawnikami tak o charakterze elektrono-akceptorowym, jak i o charakterze elektrono-donorowym. Kolejną zmianą strukturalną była rezygnacja z wiązania iminowego i wymiana układu tiazolu na układ 2-aminotiazolowy.

Badania aktywności antyproliferacyjnej otrzymanych związków **4a–4i** serii **D** Doktorantka przeprowadziła względem linii komórek nowotworowych białaczki ludzkiej MV4-11, ludzkiego nowotworu płuc A549, a także względem komórek nowotworu piersi MDA-MB-231 i pęcherza moczowego UMUC-3. Natomiast oceny toksyczności związków dokonała Ona wobec linii normalnych mysich fibroblastów BALB/3T3. Związkiem referencyjnym podobnie, jak we wcześniejszych badaniach był lek cisplatylna.

Na podstawie wyników uzyskanych dla związków serii **D** Autorka wykazała, że podobnie jak w przypadku związków serii **A – C**, dla każdej z wymienionych linii komórek nowotworowych można wskazać jeden lub kilka związków wiodących, wyróżniających się wysoką aktywnością antyproliferacyjną. I tak, wobec komórek linii bifenotypowej białaczki mielomonocytovej **B** najaktywniejszymi związkami okazały się pochodne zawierające podstawniki 4-chlorofenyłowy (**4b**), 3,4,5-trimetoksyfenyłowy (**4d**) i 3,5-dimetylofenyłowy

(4f), zaś wobec komórek nowotworu płuc A549 związek **4c** z układem 4-trifluorometylofenylowym. W odniesieniu do linii komórek nowotworu piersi MDA-MB-231 i pęcherza moczowego UMUC-3 wysoką aktywność cytotoksyczną przejawia natomiast związek **4g** z ugrupowaniem 4-sulfamoiiofenylowym. Warto dodać, że w stosunku do linii komórkowej MDA-MB-231 związek ten działa prawie dwukrotnie silniej aniżeli referencyjna cisplatyna. Jednocześnie jest on w porównaniu z wymienionym lekiem prawie dwukrotnie mniej toksyczny wobec komórek zdrowych. Na podstawie analizy porównawczej aktywności antyproliferacyjnej związków serii **D** wobec wszystkich wymienionych wyżej linii komórek nowotworowych Doktorantka wskazała na związek **4d** z układem 3,4,5-trimetoksyfenylowym jako ten charakteryzujący się aktywnością najwyższą.

W badaniach dotyczących oceny zdolności związków **4a–4i** serii **D** do hamowania aktywności ludzkiej elastazy neutrofilowej (HNE) Autorka zastosowała peptyd MeOSuc-AAPV-AMC, jako substrat fluorogeniczny elastazy oraz kwas ursolowy jako inhibitor referencyjny. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania wykazały, że wszystkie związki przejawiają ten rodzaj aktywności. Przy czym najwyższą wśród nich aktywność wykazują związki **4c**, **4e** i **4h** z podstawnikami 4-trifluorometylofenylowym, 1-naftylowym i 2,4,6-trichlorofenylowym w cząsteczce. Dla najbardziej aktywnego związku **4c** Autorka określiła dodatkowo wartości parametrów kinetycznych, co pozwoliło stwierdzić, że związek ten wykazuje mieszany mechanizm inhibicji ludzkiej elastazy neutrofilowej.

Dla związków **4a–4i** serii **D** Doktorantka przeprowadziła również teoretyczne obliczenia dokowania molekularnego. W tym przypadku jednak wysokiej korelacji pomiędzy uzyskanymi wynikami obliczeń teoretycznych i wartościami IC₅₀ wyznaczonymi eksperymentalnie Autorka nie odnotowała.

W przypadku związków **4a–4f** serii **E** badania dotyczyły połączeń ftalimidu z nowym układem farmakoforowym, to jest 3,3-dietyloazetydyno-2,4-dionem. W cząsteczkach wymienionych związków brak układu tiazolu i podstawionych pierścieni fenylowych obecnych w związkach serii **A – D**. Ich miejsce zajmują takie podstawniki, jak grupa *n*-propylowa, 3-oksobutylowa, cykloheksylowa i 2,6-dioksopiperydyn-3-ylowa.

Badania aktywności antyproliferacyjnej związków serii **E** Doktorantka przeprowadziła wobec linii komórek nowotworowych ludzkiego nowotworu piersi (T47D), szpiczaka mnogiego (RPMI 8226) i nowotworu płuc (A549), zaś badania toksyczności wykonała wobec normalnych fibroblastów skóry ludzkiej. Jako związki referencyjne Autorka wykorzystwała leki talidomid, lenalidomid i pomalidomid. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki pokazały, że wszystkie związki serii **E** wykazują wyższą aktywność antyproliferacyjną wobec wymienionych linii komórek nowotworowych, aniżeli wybrane związki (leki) referencyjne. Natomiast wobec wszystkich badanych linii komórek nowotworowych łącznie najwyższą aktywnością antyproliferacyjną wyróżniały się związki **4b** z podstawnikami 3,3-dietylo-2,4-dioksoazetydyn-1-ylowym w pozycji C-5 i 1-propylowym w pozycji N-2 układu ftalimidowego i **4f** z podstawnikami 3,3-dietylo-2,4-dioksoazetydyn-1-ylowym w pozycji C-4 i 2,6-dioksopiperydyn-3-ylowym w pozycji N-2 układu izoindolin-1-onu, podczas gdy aktywnością przeciwnowotworową najniższą charakteryzowały się związki **4d** i **4e**, obydwa z podstawnikiem 3,3-dietylo-2,4-dioksoazetydyn-1-ylowym w pozycji C-4 oraz podstawnikami 3-oksobutylowym (**4d**) i 2,6-dioksopiperydyn-3-ylowym (**4e**) w pozycji N-2 układu ftalimidowego.

W badaniach zależności struktura – aktywność przeciwnowotworowa dla związków serii **E** Autorka zauważyła, że zwiększeniu działania przeciwnowotworowego sprzyja zmiana lokalizacji podstawnika 3,3-dietylo-2,4-dioksoazetydyn-1-yłowego z pozycji C-4 na C-5 ftalimidu oraz zastąpienie grupy C=O układu ftalimidu grupą CH₂ w związku z podstawnikiem 2,6-dioksopiperydyn-3-yłowym. W odniesieniu do podstawników w pozycji N-2 układu ftalimidu(izoindolin-1-onu), aktywność antyproliferacyjną zwiększa wymiana podstawnika 2,6-dioksopiperydyn-3-yłowego na 1-propyłowy lub cykloheksyłowy, zaś zmniejsza wymiana podstawnika 2,6-dioksopiperydyn-3-yłowego na 3-oksobutyłowy.

W badaniach mechanizmu działania antyproliferacyjnego Doktorantka wykazała, że związek **4f** – pochodna lenalidomidu, najaktywniejszy w serii **E**, jest induktorem apoptozy w komórkach T47D działającym czterokrotnie mocniej aniżeli lek lenalidomid. Autorka stwierdziła, że śmierć apoptotyczna komórek wywołana jego działaniem jest związana z indukcją zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G2/M.

W badaniach dotyczących zdolności związków serii **E** do inhibicji ludzkiej elastazy neutrofilowej Doktorantka odnotowała, że najwyższą aktywność przejawia związek **4f**. Przy czym jego aktywność dorównuje aktywności związku referencyjnego sivelestat. Kolejnymi wysokoaktywnymi związkami wobec ludzkiej elastazy neutrofilowej były związki **4a** i **4b** obydwa zawierające podstawnik *n*-propyłowy oraz związek **4e** – pochodna pomalidomidu. Najslabszym działaniem charakteryzowały się natomiast związki **4c** i **4d** z podstawnikami cykloheksyłowym i 3-oksobutyłowym w cząsteczce.

W analizie zależności struktura – zdolność do inhibicji elastazy neutrofilowej związków serii **E** Doktorantka wykazała, że

- ✓ zmiana lokalizacji podstawnika 3,3-dietylo-2,4-dioksoazetydyn-1-yłowego z pozycji C-4 na pozycję C-5 układu ftalimidowego wpływa na spadek aktywności wobec ludzkiej elastazy neutrofilowej, natomiast zastąpienie grupy C=O układu ftalimidowego grupą CH₂ sprzyja zwiększeniu zdolności do hamowania działania elastazy,
- ✓ najwyższą aktywność wykazują związki zawierające w pozycji N-2 układu ftalimidu(izoindolin-1-onu) podstawnik 2,6-dioksopiperydyn-3-yłowy względnie 1-propyłowy, zaś najniższą aktywność związki z podstawnikiem cykloheksyłowym lub 3-oksobutyłowym.

Badania mechanizmu inhibicji ludzkiej elastazy neutrofilowej wykazały, że związki **4a**, **4c**, **4d** i **4f** wykazują kompetycyjny model inhibicji, zaś związki **4b** i **4e** mieszany typ inhibicji. Ponadto stwierdzono, że zmiana pozycji układu 3,3-dietyloazetydino-2,4-dionu z C-4 na C-5 pierścienia ftalimidowego może wywołać zmianę mechanizmu inhibicji.

Reasumując stwierdzam, że mgr Donarska zrealizowała w swoich badaniach wszystkie założone cele.

Uzyskane przez mgr Donarską wyniki badań zostały zaprezentowane w formie komunikatów ustnych na konferencjach:

- ✓ XV Kopernikańskie Seminarium Doktorantki organizowane przez Wydział Chemii Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu (2022) oraz
- ✓ Konferencja Młodych Naukowców „Biologia, Chemia i Środowisko” w Krakowie (2022).
Badania były wykonywane w ramach grantu MN-SDF/3/WF/2019 oraz środków finansowych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika (projekt nr WF 540/2020).


Badania prowadzone przez Doktorantkę posiadały charakter interdyscyplinarny. Dlatego też wymagały oprócz inicjatywy badawczej i samodzielności pracy, również umiejętności współpracy z innymi jednostkami naukowymi. Nawiązanie współpracy z Instytutem Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu, Instytutem Nauk Biologicznych Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie oraz Instytutem Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera Polskiej Akademii Nauk w Krakowie pokazało, że mgr Donarska umiejętnościami takimi dysponuje.

Należy odnotować, że dorobek naukowy Doktorantki nie objęty pracą doktorską, szczególnie ten publikacyjny, jest znaczący. Obejmuje on pięć oryginalnych prac twórczych, w których mgr Donarska jest dwukrotnie pierwszym autorem. Łączna wartość współczynnika oddziaływania (IF) wynosi 22,568, zaś liczba punktów MEiN 570.

Jak wspomniałem wcześniej, na rozprawę doktorską składają się cztery artykuły naukowe, w tym trzy o charakterze oryginalnych prac twórczych, wszystkie opublikowane w renomowanych, recenzowanych czasopismach naukowych. W związku z tym trudno jest dokonać kolejnej recenzji tych artykułów. Tym niemniej mam kilka uwag i zapytań, które - jak się spodziewam - będą przedmiotem dyskusji w czasie obrony rozprawy.

1. Związki serii **A – D** z uwagi na obecność w swej strukturze układu amidynowego (iminowo-aminowego) są podatne na zjawiska tautomerii protonowej. Tymczasem w pracy doktorskiej Autorka tego problemu nie podjęła. Jednocześnie w przedstawionych na rysunkach cząsteczkach związków aminowy atom azotu występuje wyłącznie poza pierścieniem tiazolu. Co zadecydowało o przyjęciu tej struktury tautomerycznej, a nie struktury alternatywnej?
2. Związki serii **B** wyróżniają się wśród badanych związków serii **A – C** dodatkową obecnością grupy chloroacetylowej przyłączonej według Doktorantki do egzocyklicznego atomu N grupy amidynowej. Uzasadnieniem włączenia tej grupy do struktury był fakt, iż klasa chloroacetamidów tworzy trwałe wiązanie kowalencyjne głównie z cysteiną, co poprawia zdolność wiązania leku (dotyczy wiązania ligand-białko). Autorka nie wspomniała natomiast, iż grupa chloroacetylowa jest znanym środkiem alkilującym działającym w sposób nieselektywny oraz że jest raczej toksyczna. Stąd stosuje się ją w niektórych herbicydach. Mam pytanie, czy mgr Donarska dotarła również do tych ostatnich informacji?
3. W komentarzu do publikacji Autorka nazywa otrzymane związki serii **A – E** „pochodnymi talidomidu”, po raz pierwszy w rozdziale „Wprowadzenie” (str. 10). Tymczasem w przypadku zdecydowanej większości związków (poza pochodnymi pomalidomidu i lenalidomidu, tj. **4e** i **4f** serii **E**) jedynym wspólnym elementem strukturalnym badanych związków i talidomidu jest układ ftalimidowy, co raczej nie czyni ich pochodnymi tego znanego środka leczniczego.
4. Podczas zapoznawania się z lekturą pracy doktorskiej, a ściślej mówiąc komentarza do publikacji zauważyłem nieliczne
 - błędy literowe oraz
 - niezręczności językowe; przykładystr. 34: ...Pierścień tiazolu zawiera 6π elektronów ze zdelokalizowaną **samotną parą** elektronów na atomie siarki...; str. 23, 35, 36: heterocykliczne związki azotu stanowią dobre **rusztowanie** dla związków hamujących...).

Przedstawione uwagi i uchybienia nie wpływają na moją pozytywną, wysoką ocenę pracy. Podsumowując stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska Pani mgr Beaty Donarskiej świadczy o dobrym Jej przygotowaniu do prowadzenia badań w zakresie chemii leku. Autorka umiejętnie korzysta ze specjalistycznej aparatury i programu komputerowego stosowanego w obliczeniach teoretycznych. Ponadto swobodnie operuje Ona terminologią z zakresu farmakologii, biologii, chemii i biochemii. Uważam, że recenzowana praca spełnia wymagania prawne w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.) oraz wnioskuję o dopuszczenie mgr Beaty Donarskiej do publicznej obrony. Wnioskuję ponadto o wyróżnienie pracy stosowną nagrodą.



.....
/prof. dr hab. Andrzej Gzella/