



Wrocław, 2020-10-12

Prof. dr hab. Piotr Stefanowicz

tel. 71 375 7213

[piotr.stefanowicz@chem.uni.wroc.pl](mailto:piotr.stefanowicz@chem.uni.wroc.pl)

## O C E N A

rozprawy doktorskiej mgr Bartosza Łukasza Bieszczada

pt. „**Układy dibenzodiazocynowe jako dogodne struktury uprzywilejowane, użyteczne w projektowaniu związków aktywnych biologicznie**”

Pan mgr Bartosz Łukasz Bieszczad wykonał pracę doktorską zatytułowaną: „**Układy dibenzodiazocynowe jako dogodne struktury uprzywilejowane, użyteczne w projektowaniu związków aktywnych biologicznie**” pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Wojciecha Bala oraz dr Adama Mieczkowskiego w Instytucie Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk.

Praca doktorska będąca przedmiotem tej recenzji dotyczy opracowania metod syntezy trójcyklicznych układów dilaktamowych, w których występuje centralny ośmioczłonowy pierścień diazocyny A lub B. Zastosowana metoda syntezy prowadzić miała do uzyskania zróżnicowanej grupy pochodnych, umożliwiając otrzymanie związków podstawionych asymetrycznie zarówno w peryferyjnych pierścieniach benzenowych jak i w centralnym układzie diazocyny. Uzyskane produkty zostały poddane badaniom w celu określenia ich cytotoksyczności. Otrzymany trójcykliczny szkielet został też poddany modyfikacji chemicznej aby na jego podstawie otrzymać analogii leków antydepresyjnych. Związki te były testowane w kierunku oddziaływania z typowymi miejscami działania leków antydepresyjnych. Otrzymany układ heterocykliczny po pewnych dodatkowych modyfikacjach strukturalnych został też wykorzystany jako fragment inhibitora deacylazy histonowej. Związki z tej serii obok układu tricyklicznego zawierały resztę kwasu hydroksamowego przyłączoną za pomocą linkerów o różnej długości. Uzyskane produkty badano w testach hamowania deacylazy histonowej.

Częścią badań było również wykonanie pomiarów rentgenostrukturalnych na dużej, reprezentatywnej grupie tricyklicznych pochodnych dibenzodiazocyn, co pozwoliło na określenie

konformacyjnych preferencji tej grupy połączeń. Udział doktoranta w prowadzonych badaniach polegał głównie na przeprowadzeniu pracy syntetycznej. Zakładam również, że w badaniach krystalograficznych udział doktoranta był wiodący, jednak na podstawie tekstu pracy doktorskiej nie jestem w stanie ustalić jego udziału w bezpośrednim prowadzeniu testów biologicznych, chociaż z zamieszczonego podziękowania dla Pani Profesor Grzesiuk można wnioskować że badania te były w znacznym stopniu przeprowadzone przez Doktoranta.

Niewątpliwie realizowany w pracy doktorskiej temat badawczy jest aktualny i ma potencjalne zastosowania.

Praca liczy 170 stron i napisana jest jasno i zwięźle. Przegląd literaturowy (41 stron) koncertuje się głównie na omówieniu leków zawierających układy trójpierścieniowe. Doktorant kolejno przedstawia układy z pięcio-, sześć- i siedmioczłonowym pierścieniem centralnym. Przeprowadzona analiza dostępnej literatury potwierdza, że pośród układów tricyklicznych jest znaczne prawdopodobieństwo znalezienia substancji aktywnych farmakologicznie, które dodatkowo posiadają cechy oczekiwane od leków stosowanych doustnie. Ciekawą cechą tych układów jest możliwość oddziaływania z różnorodnymi receptorami co sprawia, że mogą być one traktowane jako struktury uprzywilejowane.

Wszystkie informacje zawarte tej części są celowe i przyczyniają się do lepszego zrozumienia rozprawy. Część teoretyczna pracy jest interesująco napisana i stanowi dobre wprowadzenie do psychofarmakologii. Ujęcie historyczne tematu sprawia że ta część pracy jest łatwa w lekturze i w mojej ocenie jest zrozumiała nawet dla osoby nie będącej specjalistą. Jednak w mojej ocenie w literaturowej części pracy zabrakło omówienia zagadnień związanych ze strukturami uprzywilejowanymi. Warto było to zrobić, choćby dlatego, że termin „struktury uprzywilejowane” występuje w tytule dysertacji. Określenie to jest bardzo często stosowane we współczesnej literaturze dotyczącej farmakologii zatem nie brakowałoby publikacji do omówienia. Z drugiej strony definicje struktur uprzywilejowanych stosowane w literaturze się różnią, zaś samo zagadnienie polegające na tym, że pewne kategorie substancji bardzo skutecznie oddziałują z receptorami, enzymami i innymi miejscami działania często znacznie różniącymi się strukturami wydaje się co najmniej intrygujące.

Część eksperymentalna napisana jest szczegółowo i zawiera wszystkie dane niezbędne do odtworzenia wykonanych eksperymentów. Dla wszystkich otrzymanych 251 pochodnych została podana pełna charakterystyka analityczna ( $^{13}\text{C}$  i  $^1\text{H}$  NMR, HRMS, IR) zgodnie ze standardami wymaganymi w czasopiśmie z dziedziny chemii medycznej. Prowadzone syntezy zostały oparte o wykorzystanie jako bloków budulcowych pochodnych kwasu antranilowego lub pochodnych o-fenylendiaminy i kwasu ftalowego. Postępowanie takie jest uzasadnione dostępnością substratów i upodabnia syntezę zaprojektowanych układów tricyklicznych do syntezy cyklopeptydów. Pomimo otrzymania kilku układów dibenzodiazacynowych opisanych we wcześniejszej literaturze, synteza i

pełna charakterystyka tak dużej serii związków jest niewątpliwym osiągnięciem syntetycznym. Zaproponowane metody preparatywne okazały się skuteczne i w większości przypadków pozwoliły na uzyskanie dobrych lub umiarkowanych wydajności zaprojektowanych substancji zaś oczyszczenie produktów nie było zbyt kłopotliwe. Jediną krytyczną uwagę, jaka mam do części syntetycznej pracy jest całkowite pominięcie przegrupowania Beckmanna, jako metody uzyskiwania układów dibenzodiazocyn opisanej w literaturze z lat pięćdziesiątych, dające rozsądne wydajności i umożliwiające wykorzystanie wielu dostępnych handlowo analogów antrachinonu, w tym pochodzenia naturalnego.

Przeprowadzone badania biologiczne obejmowały oddziaływania otrzymanych substancji z Receptorami  $H_1$ ,  $5-HT_{1A}$ ,  $5-HT_{2A}$ ,  $5-HT_6$ ,  $5-HT_7$ ,  $D_2$ , Transportera SERT, badania cytotoksyczności i Inhibicji deacylaz histonowych. Badania te wykazały, że otrzymane substancje mają niskie powinowactwo do większości zbadanych receptorów, z wyjątkiem receptora histaminowego  $H_1$ . Stosunkowo wysokie powinowactwo do tego receptora pozwala przypuszczać, że możliwa jest dalsza optymalizacji otrzymanych cząsteczek w kierunku projektowania leków antyhistaminowych. Badania cytotoksyczności badanych substancji wykazały jedynie umiarkowaną aktywność, jednak testy w kierunku hamowania aktywności deacylaz histonowych wykazały, że niektóre z badanych substancji okazały się bardzo silnymi inhibitorami przewyższającymi aktywnością Vorinostat – związek referencyjny stosowany jako lek przeciwnowotworowy. Podsumowując można stwierdzić, że przeprowadzone badania wykazały, że otrzymane pochodne dibenzoazocyny rzeczywiście oddziałują z różnymi miejscami działania leków zatem układ dibenzoazocyny może być traktowany jako struktura uprzywilejowana.

Bibliografia (73 pozycje) jest przygotowana w sposób jednolity i staranny. Uwzględnia najnowsze publikacje aż do roku 2019. Duże cześć prac uwzględnionych w bibliografii powstała po roku 2000 co świadczy że tematyka pracy doktorskiej jest aktualna i budzi zainteresowanie w środowisku naukowym. Jak zaznaczyłem powyżej w bibliografii przydałyby się prace omawiające z różnych punktów widzenia problem struktur uprzywilejowanych.

Kilka krytycznych uwag zgłoszonych powyżej nie wpływa na moją wysoką ocenę rozprawy doktorskiej. Proporcje pomiędzy poszczególnymi częściami pracy są dobrze wyważone a całość napisana jest przejrzystie i przeważnie dobrym, poprawnym językiem. Praca jest starannie zredagowana i dobrze przygotowana pod względem graficznym

Dotychczasowy dorobek naukowy Doktoranta obejmuje łącznie 8 opublikowanych prac, z czego 4 są bezpośrednio powiązane z tematyką rozprawy. Ponieważ większość tych prac ukazała się w ostatnim roku można przypuszczać, że w niedługim czasie ukażą się dalsze publikacje, których współautorem będzie Pan Bartosz Bieszczad.

Podsumowując, stwierdzam, że badania przeprowadzone przez Doktoranta odpowiadają na pytania postawione w celu pracy zaś eksperymenty zostały zaprojektowane i wykonane starannie oraz przedstawione w przejrzysty sposób. Literatura obejmuje najnowsze prace i cytowana jest w sposób jednolity i konsekwentny. Wykonana przez Pana Mgr Bartosza Łukasza Bieszczada i przedłożona mi do recenzji praca pt. **„Układy dibenzodiazocynowe jako dogodne struktury uprzywilejowane, użyteczne w projektowaniu związków aktywnych biologicznie”** spełnia wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim określone przez przepisy obowiązującej Ustawy o Stopniach i Tytule Naukowym jak również wymogi zwyczajowe. Dlatego wnoszę o jej przyjęcie oraz dopuszczenie Autora do publicznej obrony pracy doktorskiej. Jednocześnie ze względu na duży dorobek naukowy autora oraz wysoki poziom naukowych zaprezentowanych badań zwracam się z wnioskiem o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Mgr Bartosza Łukasza Bieszczada.

Prof. dr hab. Piotr Stefanowicz

