



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych

ul. Rokietnicka 3
60-806 Poznań

tel.: (+48 61) 641 84 27

Poznań, dnia 7 lipca 2025 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Tytuł pracy: Synteza, analiza strukturalna i badanie aktywności biologicznej pochodnych salinomycyny

Imię i nazwisko: mgr Marta Jędrzejczyk

Miejsce realizacji pracy doktorskiej: Zakład Chemii Medycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Promotor: prof. dr hab. Adam Huczyński

Pani mgr Marta Jędrzejczyk podczas realizacji pracy doktorskiej włączyła się w multidyscyplinarne badania obejmujące syntezę, analizę strukturalną i badania aktywności biologicznej pochodnych salinomycyny. Tematyka ta jest rozwijana od wielu lat z bardzo interesującymi rezultatami w Zakładzie Chemii Medycznej pod kierunkiem promotora niniejszej pracy, Pana prof. dr hab. Adama Huczyńskiego. Problem badawczy sformułowany w temacie pracy dotyczy szeregu aspektów szczegółowych zmierzających do poszerzenia wiedzy na temat możliwości przeprowadzenia chemicznej modyfikacji antybiotyku jonoforowego - salinomycyny, oceny właściwości jonoforetycznych oraz aktywności biologicznej jej pochodnych. Jednakże w szerszym znaczeniu pozwala na pogłębienie wiedzy na temat nowych związków aktywnych farmaceutycznie o dużym potencjale zastosowań w medycynie i farmacji. Tematyka prac jest bardzo aktualna naukowo, gdyż obejmuje szerokie badania właściwości przeciwdrobnoustrojowych, jak i przeciwnowotworowych pochodnych salinomycyny. Zagadnienie badawcze jest obecnie bardzo uzasadnione zarówno społecznie, jak i ekonomicznie, z uwagi na ogromne zapotrzebowanie na nowe i skuteczne chemioterapeutyki.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Marty Jędrzejczyk stanowi spójny tematycznie zbiór trzech publikacji. Rozprawa składa się z następujących elementów: streszczeń w języku polskim i angielskim, celu pracy, ankiety dorobku naukowego, wprowadzenia, omówienia wyników badań, podsumowania, bibliografii, kopii opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych oraz oświadczeń współautorów. Na początku rozprawy Doktorantka zamieściła informację na temat źródła finansowania badań ze środków pozyskanych z grantu OPUS Narodowego Centrum Nauki. Poszczególne rozdziały i publikacje zostały napisane poprawnym językiem naukowym. Kolejność przedstawiania danych i cytowane w pracach piśmiennictwo nie budzą zastrzeżeń recenzenta.

Zaplanowane przez Doktorantkę w **Celu pracy** badania miały doprowadzić do uzyskania nowych pochodnych salinomycyny przy uwzględnieniu znanych właściwości fizykochemicznych związku macierzystego, charakteryzującego się niską stabilnością w warunkach obniżonego pH. Doktorantka była zainteresowana oceną aktywności biologicznej jednego z produktów rozpadu salinomycyny, szczególnie utrzymania się jego potencjału jonoforetycznego. Z uwagi na dostrzeżony przez Doktorantkę potencjał dla związków aktywnych działających na mitochondria, postanowiła także skupić się na regioselektywnej modyfikacji salinomycyny z uwzględnieniem uzyskania połączenia z kationem trifenylofosfoniowym. Uzyskane związki planowała także przebadать pod względem aktywności przeciwnowotworowej i przeciwbakteryjnej oraz zdolności do przenikania błon biologicznych. Wyniki miały pozwolić na zdobycie informacji dotyczących zależności struktura-aktywność i przyczynić się do racjonalnego projektowania nowych leków.

W rozdziale **Ankieta dorobku naukowego** Doktorantka zamieściła dane bibliometryczne. Wykaz prac wchodzących w zakres rozprawy doktorskiej obejmuje prace opublikowane w (i) *Journal of Molecular Structure* w 2022 r., (ii) *Bioelectrochemistry* w 2022 r. oraz (iii) *European Journal of Medicinal Chemistry* w 2024 r. Należy podkreślić, że w świetle załączonych oświadczeń współautorów, wkład Pani mgr Marty Jędrzejczyk w powstanie publikacji jest znaczący. Dotyczył różnych etapów przeprowadzenia i opracowania wyników badań oraz przygotowania publikacji. Dalej Doktorantka zawarła wykaz 7 prac nie włączonych do rozprawy, które zostały z Jej współautorstwem doskonale opublikowane w latach 2019-2024 w *Journal of Molecular Structure*, *Haematologica*, *Molecules*, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, *The FASEB Journal*, *Biomedicine and Pharmacotherapy* oraz *Chemical Biology and Drug Design*. Pani Magister odbyła dwa staże naukowe, każdy 2-tygodniowy na Politechnice Turyńskiej we Włoszech. Pani mgr Marta Jędrzejczyk brała udział w 5 konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych, a także była wykonawcą 2 grantów i kierownikiem 2 projektów finansowanych przez NCN oraz program Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza. Bardzo wysoko oceniam Jej dotychczasowy dorobek naukowy, który na dzień 5 lipca 2025 r. według bazy WoS przekłada się na 14 publikacji cytowanych 38 razy i indeks H 4.

Doktorantka dokonała właściwego wyboru tematyki do **Wprowadzenia**, w którym zawarła informacje na temat substancji pochodzenia naturalnego i ich roli jako substancji wiodących przy opracowywaniu nowych leków, epidemiologii i terapii chorób nowotworowych. Dalej przeszła do przedstawienia salinomycyny, stanowiącej przedmiot badań rozprawy, zwracając uwagę na jej aktywność względem komórek macierzystych raka piersi. Podsumowała też stan wiedzy na temat modyfikacji salinomycyny i wynikających z tego aktywności biologicznych. Zwróciła uwagę na możliwość otrzymania połączeń salinomycyny z kationem trifenylofosfoniowym, z uwagi na znany z literatury potencjał tego typu połączeń z innymi związkami o aktywności farmaceutycznej. Zebrany materiał literaturowy stanowi zwarte oraz kompletne kompendium o dużej wartości naukowej, które

sprawa, że poruszone w dalszych częściach pracy zagadnienia są bardzo dobrze wpisane w poruszaną tematykę.

W rozdziale **Omówienie wyników badań** Doktorantka przedstawiła badania eksperymentalne wraz z ich interpretacją zawartą w publikacjach **I-III**, których pełne wersje zamieściła w rozdziale **Kopie opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych**: (i) **I** – *Journal of Molecular Structure* z 2022 r., (ii) **II** – *Bioelectrochemistry* z 2022 r., (iii) **III** – *European Journal of Medicinal Chemistry* z 2024 r. W publikacji **I** przedstawiła przeprowadzone przez siebie badania dotyczące rozkładu salinomycyny odnosząc się do światowego piśmiennictwa w tym zakresie. Podjęła badania struktury produktu rozpadu I-2 z użyciem analizy rentgenostrukturalnej oraz jego zdolności do kompleksowania jonów metali w oparciu o metody obliczeniowe, analizując mapy molekularnego potencjału elektrostatycznego. Dalej przeanalizowała metodami analizy rentgenostrukturalnej uzyskaną sól potasową produktu I-2. Zarówno produkt rozpadu I-2, jak i jego sól potasową poddała badaniom spektroskopowym FT-IR. Dalsze studia zostały przeprowadzone z użyciem technik MS-ESI wraz z oceną preferencji tworzenia kompleksów z różnymi kationami, poprzez analizę elementarną oraz spektroskopię NMR i obliczenia DFT. Kolejne prace eksperymentalne Doktorantki, przedstawione w publikacjach **II** i **III**, obejmowały syntezę oraz badania fizykochemiczne i biologiczne pochodnych salinomycyny modyfikowanych w pozycji C1 kationem trifenylofosfoniowym. Należy zwrócić uwagę na bardzo złożony i pracochłonny proces oczyszczania docelowego produktu, który zakończył się pełnym sukcesem. Badania jonoforetyczne uzyskanej soli modyfikowanej w pozycji C1, a także uzyskanych kolejnych pochodnych modyfikowanych w pozycji C20, przedstawione w publikacji **II**, wykonano we współpracy z Moskiewskim Uniwersytetem Państwowym im. M.W. Łomonosowa (prof. Yuriy Antonenko). Badania właściwości jonoforetycznych salinomycyny i jej pochodnych objęły studia w liposomach obciążonych fluorescencyjnym wskaźnikiem – pyraniną. Dalsze eksperymenty wykonano na izolowanych mitochondriach, monitorując ich pęcznienie oraz potencjał błonowy i przemieszczanie przez dwuwarstwowe błony lipidowe. W publikacji **III** zawarto syntezę 13 estrów salinomycyny modyfikowanych w poz. C1, różniących się w przypadku 12 pochodnych między sobą długością łańcucha węglowego i rodzajem kationu trifenylofosfoniowego. Związki poddano ocenie cytotoksyczności *in vitro* na 5 liniach komórek nowotworowych oraz 2 liniach komórek zdrowych w oparciu o test MTT, stosując jako związek referencyjny dokсорubicynę, co pozwoliło na wykazanie ich mikromolowej aktywności. Wybrane związki poddano kolejnym badaniom, w tym ocenie wpływu na mitochondria, cykl komórkowy oraz indukcję apoptozy i generowanie reaktywnych form tlenu. Warto podkreślić, że sprawdzono także potencjał przeciwdrobnoustrojowy związków, nie odnotowując aktywności. Bardzo interesujące są badania biofizyczne obejmujące ocenę szybkości oddychania komórkowego oraz zdolności elektrofizjologicznych techniką czarnych błon lipidowych.

Najważniejsze wyniki i wnioski z badań zostały zawarte w **Podsumowaniu** w postaci 23 wniosków. Tutaj mały komentarz – Wydaje się, że wnioski byłyby bardziej przejrzyste i miały

7

wyższą wagę, gdyby zostały przedstawione w formie połączonej do kilku. Rozdział **Bibliografia** zawiera 61 odpowiednio dobranych pozycji literaturowych w większości z ostatnich 20 lat.

Treść rozprawy doktorskiej Pani mgr Marty Jędrzejczyk zawarta w cyklu trzech artykułów naukowych jest zgodna z tezą postawioną w tytule. Praca była realizowana według dobrze przemyślanego schematu, co pozwoliło na zweryfikowanie wielu hipotez. Hipoteza zawarta na początku badań dotycząca możliwości przeprowadzenia skutecznych modyfikacji antybiotyku jonoforowego salinomycyny, przebadania właściwości jonoforetycznych otrzymanych pochodnych oraz oceny ich aktywności biologicznej w miarę postępu badań została pozytywnie zweryfikowana i doprowadziła do bardzo interesujących wniosków. Przeprowadzone prace eksperymentalne pozwoliły na rozkład cząsteczki salinomycyny w warunkach kwasowych oraz syntezę jej koniugatów z kationami fosfoniowymi, otrzymanymi na skutek modyfikacji w pozycjach C1 oraz C20. Uzyskane produkty zostały bardzo dobrze scharakteryzowane technikami spektroskopowymi 1D i 2D NMR, FTIR, a także z użyciem spektrometrii mas ESI-MS, analizy elementarnej i rentgenostrukturalnej. Bardzo cenna jest ocena właściwości jonoforetycznych otrzymanych związków oraz ich wpływu na naturalne i sztuczne błony, a także warstwy lipidowe. Na uwagę zasługuje także szeroki panel zastosowanej oceny aktywności przeciwnowotworowej *in vitro* obejmujący 5 linii ludzkich komórek nowotworowych oraz 2 linie komórek normalnych, pogłębiony o badania wpływu związków na mitochondria, cykl komórkowy, indukowanie apoptozy i reaktywnych form tlenu. Przeprowadzono także ocenę aktywności przeciwdrobnoustrojowej na bakteriach Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. Ocenę właściwości biologicznych związków poszerzono o badania ich wpływu na oddychanie komórkowe i transport kationów. Stwierdzam, że wszystkie dane zostały w przedstawionych do oceny publikacjach bardzo krytycznie omówione w kontekście światowego piśmiennictwa i bezpośrednich doświadczeń Zespołu. Uzyskane wyniki mają więc duże znaczenie poznawcze i stanowią istotny wkład do chemii medycznej.

Nie mam najmniejszych wątpliwości, że przedstawione i już opublikowane dane eksperymentalne posiadają wysoką wartość merytoryczną, gdyż Doktorantka (i) zastosowała nowoczesny warsztat badawczy, zarówno w aspekcie syntezy chemicznej, jak i też ich charakterystyki fizykochemicznej oraz biologicznej; (ii) podjęła się prowadzenia badań bardzo aktualnych naukowo w obszarze chemii medycznej, a co najważniejsze skutecznie je zrealizowała, co pozwoliło na opracowanie kilku aktywnych pochodnych salinomycyny i poszerzenia wiedzy na temat możliwości ich zastosowania w medycynie; (iii) uzyskała wyniki stwarzające perspektywy opracowania nowych substancji aktywnych farmaceutycznie, a tym samym poprawy jakości i skuteczności terapii przeciwnowotworowej, stąd prowadzone badania mają także duże znaczenie społeczne i ekonomiczne.

Wszystkie rozdziały i publikacje zawarte w dysertacji zostały napisane bardzo poprawnym językiem naukowym. Podczas obrony pracy prosiłbym o odniesienie się do kilku kwestii: (i) s. 29 – Czy w kontekście dyskusji na temat budowy produktu I-2 nie byłoby bardziej fortunate określenie np. W strukturze produktu I-2, poza obecnością pierścienia furanowego, stwierdzono

konformację krzesłkową dla pierścienia tetrahydropyranowego, (ii) s. 33 – Przy lekturze badań FT-IR zastanawiam się, czy brano pod uwagę ocenę z użyciem spektroskopii Ramana, (iii) s. 36 i 37 – Proszę o wyjaśnienie regioselektywności reakcji Mitsunobu ograniczonej do pozycji C-20 przy otrzymywaniu produktu II-5. Czy znane są z literatury inne pochodne salinomycyny posiadające odwróconą konfigurację w pozycji C-20? Na ile to wpływa na właściwości fizykochemiczne i biologiczne wyjściowej cząsteczki?, (iv) s. 41 oraz publikacja III – Proszę doprecyzować w oparciu o dane literaturowe, jakie są wytyczne przy uznawaniu związku za mniej lub bardziej selektywny.

Reasumując uważam, że Pani mgr Marta Jędrzejczyk doskonale zmierzyła się z postawionym w temacie pracy problemem, wykazała się znajomością zagadnień teoretycznych i przygotowaniem warsztatowym. Moja wysoka ocena wartości merytorycznej przedstawionej dysertacji wynika z umiejętnego połączenia przez Doktorantkę wiedzy z zakresu syntezy chemicznej, analizy fizykochemicznej i chemii medycznej. Przekazana do recenzji rozprawa doktorska w pełni spełnia wymogi stawiane tego typu pracom, dlatego też wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie mgr Marty Jędrzejczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na wysoką merytoryczną wartość przedłożonej do recenzji dysertacji, zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny z wnioskiem o wyróżnienie przedmiotowej pracy doktorskiej.



prof. dr hab. Tomasz Gośliński