



Warszawa 5 kwietnia 2016 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej magistra Michała Antoszczaka
pt.: *Synteza, badania strukturalne i spektroskopowe oraz aktywność
przeciwnowotworowa i przeciwdrobnoustrojowa nowych pochodnych salinomycyny*,
przedstawionej Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
w celu uzyskania stopnia naukowego doktora nauk chemicznych.

Recenzowana praca doktorska wykonana została pod opieką dra hab. Adama Huczyńskiego na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Rozprawa została przygotowana w formie monografii i dotyczy syntezy, charakterystyki oraz badań właściwości nowych substancji o potencjalnej aktywności biologicznej.

Przedstawiona praca doktorska składa się z 230 stron i zawiera część teoretyczną (22 strony), opis badań własnych (100 stron) oraz część eksperymentalną (4 strony). W oddzielnych podrozdziałach przedstawione zostały cele pracy oraz podsumowanie przeprowadzonych badań. Uzupełnienie pracy stanowią spis cytowanej literatury (175 odnośników) oraz katalog wybranych widm otrzymanych związków (Dodatek A), a także szczegółowe dane krystalograficzne wybranych pochodnych krystalicznych (Dodatek B). **Pod względem edytorskim monografia została przygotowana bardzo starannie. Zwracają uwagę liczne, przejrzyste i szczegółowo opisane ilustracje, które znacznie ułatwiają lekturę opracowania.**

We wstępie pracy Doktorant opisuje wysoką aktywność przeciwnowotworową salinomycyny oraz jej unikalne właściwości, pozwalające m.in. na niszczenie komórek macierzystych nowotworów. W nadziei na otrzymanie nowych związków biologicznie czynnych, Doktorant postawił sobie za cel opracowanie wydajnych metod syntezy nowych pochodnych salinomycyny. Celem pracy były również charakterystyka

spektroskopowa oraz badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej i przeciwnowotworowej otrzymanych związków.

Obecnie prowadzone są badania kliniczne nad zastosowaniem salinomycyny w terapii przeciwnowotworowej, a aktywność biologiczna jej pochodnych nie została wcześniej opisana. **W związku z powyższym, uważam, że tematyka pracy jest bardzo aktualna, a jej podjęcie dobrze uzasadnione.**

Część literaturowa pracy, nazwana przez Doktoranta częścią teoretyczną, dotyczy ogólnej charakterystyki antybiotyków jonoforowych, do których zalicza się również salinomycyna. W części tej Autor szczegółowo opisuje właściwości salinomycyny, skupiając się głównie na jej działaniu przeciwnowotworowym, które jest w ostatnich latach przedmiotem intensywnych badań. **Ten fragment pracy jest stosunkowo mało obszerny, jednak Doktorant opublikował i cytuje publikacje przeglądowe, dotyczące prezentowanych zagadnień, co uzasadnia taki zakres części literaturowej.**

W rozdziale *Badania własne* Doktorant umiejętnie prezentuje obszerny materiał eksperymentalny zgromadzony w czasie wykonywania pracy doktorskiej. Rozdział ten podzielony został na cztery części: synteza, badania spektroskopowe i strukturalne, badania aktywności biologicznej oraz korelacja struktura chemiczna-aktywność.

W części syntetycznej Doktorant opisuje opracowaną przez siebie procedurę wyodrębniania salinomycyny z paszy oraz podaje ogólne przepisy preparatywne otrzymanych pochodnych. Dzięki opracowaniu przez Doktoranta procedury pozyskiwania stosunkowo taniego substratu, realnym stało się otrzymanie **66 nowych pochodnych** salinomycyny w tym 39 amidów, 14 estrów oraz 13 pochodnych C(20) *O*-acylowych. W dyskusji Autor uzasadnia **taki dobór otrzymywanych pochodnych chęcią uzyskania możliwie szerokiej korelacji struktura-aktywność biologiczna.**

W części poświęconej badaniom spektroskopowym Autor m.in. porównuje widma NMR (^1H i ^{13}C) oraz FT-IR salinomycyny, jej soli sodowej i amidu, wymieniając i przypisując charakterystyczne sygnały i pasma. W obszernych tabelach

(Tabele 12, 14 i 16) Doktorant zestawia również charakterystyczne sygnały i pasma wszystkich otrzymanych pochodnych. Przypisanie poszczególnych sygnałów w widmach NMR możliwe było dzięki wykorzystaniu dwuwymiarowych technik korelacyjnych. Otrzymanie monokryształów niektórych pochodnych (jedenastu amidów i trzech estrów) pozwoliło na zbadanie ich struktury w ciele stałym. Przeprowadzone badania spektroskopowe potwierdziły zachowanie charakterystycznej struktury pseudocyklicznej w roztworze, co jest ważne z punktu widzenia aktywności biologicznej badanych związków. Badania przy użyciu spektrometrii masowej wykazały, że otrzymane pochodne tworzą również kompleksy z jonami metali grupy drugiej, podczas gdy wyjściowa salinomycyna kompleksuje jedynie jony metali grupy pierwszej. **Część pracy poświęcona badaniom spektroskopowym jest zdaniem recenzentki szczególnie cenna i świadczy o dużej biegłości Doktoranta w korzystaniu z różnych technik badawczych.**

W części poświęconej badaniom aktywności biologicznej otrzymanych pochodnych salinomycyny, Autor opisuje wyniki testów ich aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwgruźliczej, przeciwwąglkowej, wobec trypanosomatozy afrykańskiej oraz przeciwnowotworowej. Badania te przeprowadzone zostały we współpracy z naukowcami z kilku ośrodków specjalistycznych. W każdym przypadku aktywność biologiczna wybranych pochodnych porównana została z aktywnością związku macierzystego i odpowiednich związków referencyjnych. Przeprowadzone testy wykazały, że niektóre pochodne salinomycyny wykazują działanie przeciwbakteryjne znacznie wyższe niż obecnie stosowane leki. Inne pochodne są aktywne wobec komórek nowotworowych, wykazując jednocześnie niższą toksyczność wobec prawidłowych komórek organizmu w porównaniu z powszechnie stosowanymi lekami cytostatycznymi.

W części pracy dotyczącej korelacji aktywności biologicznej ze strukturą badanych związków Doktorant przedstawił analizę wszystkich uzyskanych wyników badań biologicznych. Zdaniem recenzentki ten fragment pracy napisany został nieco chaotycznie. Wyniki badań aktywności biologicznej zostały znacznie czytelniej przeanalizowane w sześciostronicowym podsumowaniu.

W zaledwie czterostronicowej części *eksperymentalnej* scharakteryzowane zostały stosowane odczynniki oraz rozpuszczalniki, wymieniono również ośrodki naukowe, w których przeprowadzone zostały badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej otrzymanych związków. Doktorant nie opisuje wykorzystywanych w tych badaniach procedur, cytując jedynie oryginalne prace. Nieco więcej szczegółów zamieszczono w opisie sposobu prowadzenia badań aktywności przeciwnowotworowej. Część eksperymentalna nie zawiera niestety opisów syntez i charakterystyki spektroskopowej otrzymanych związków. Opisy te zostały umieszczone w rozdziale poświęconym badaniom własnym.

Poniżej przedstawiam uwagi krytyczne, które nasunęły mi się w trakcie analizy pracy:

- W rozdziale *Badania własne* Doktorant nie tylko prowadzi dyskusję uzyskanych wyników, ale również podaje szczegóły niektórych procedur, co nieco utrudnia lekturę pracy, a przede wszystkim możliwość szybkiego odszukania potrzebnych informacji. W związku z tym, niektóre fragmenty tej części pracy (np. opis syntezy kompleksów na str. 61) należałoby moim zdaniem przenieść do części eksperymentalnej.
- Autor nie pisze, w jaki sposób określał czystość otrzymanych produktów, nie podaje również pełnej charakterystyki spektroskopowej niektórych z otrzymanych pochodnych.
- Doktorant nie podaje temperatur topnienia pochodnych **E2** (Tab. 7, str. 49), **A1** i **A3** (Tab. 4, str. 40).
- Umieszczenie Rysunku 12 w pracy uważam za zbędne.
- W kilku miejscach pracy pojawiły się sformułowania żargonowe, jak np.: *czas przebiegu reakcji monitorowano przy pomocy chromatografii cienkowarstwowej* (np. na str. 38, 41 i 49) zamiast *przebieg reakcji kontrolowano przy pomocy chromatografii cienkowarstwowej*, a także *używając gradientowej mieszaniny rozpuszczalników* (np. str. 43, 47 i 49).
- W opisie badań Autor podaje, że wyodrębniał sól salinomycyny z paszy dla zwierząt, natomiast w podsumowaniu twierdzi, że źródłem salinomycyny były

• dodatki paszowe. Niejasny jest również fragment opisu izolacji soli sodowej salinomycyny na stronie 34: *SAL-Na o czystości technicznej (290 g, 12%)*.

- W kilku miejscach pracy pojawiły się zbyt ogólne stwierdzenia, jak np. na stronie 140: *salinomycyna zdolna jest do tworzenia kompleksów jedynie z kationami jednowartościowymi*, podczas gdy w Tabeli 2 pojawiają się również kationy dwuwartościowe. Wystarczyłoby prawdopodobnie dodać, że chodzi o kompleksowanie w badanych przez Doktoranta warunkach.

Powyższe uwagi nie umniejszają wysokiej oceny poziomu merytorycznego i redakcyjnego recenzowanej pracy. Rozprawa doktorska mgra Michała Antoszczaka stanowi w moim przekonaniu oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Doktoranta. Przedstawiona rozprawa spełnia zatem wymagania wynikające z obowiązującej ustawy o stopniach i tytule naukowym (Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, Dz. U. Nr 65, poz. 595 ze zm.) oraz rozporządzenia MNiSW z dnia 22 września 2011 roku (Dz. U. Nr 204, poz. 1200). W związku z powyższym, wnoszę o dopuszczenie Pana magistra Michała Antoszczaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę szeroki zakres oraz wysoki poziom merytoryczny badań objętych rozprawą oraz opublikowaniem ich wyników w postaci 8 publikacji w czasopismach z tzw. listy filadelfijskiej (sumaryczny współczynnik oddziaływania 19,614), a także dwóch rozdziałów w książkach, wnoszę do Rady Wydziału o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr. Michała Antoszczaka.

Adalberto Woźniak