



Białystok, 19.01.2025 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr **Anny Laskowskiej** zatytułowanej
**„Syntezy chiralnych pochodnych selenoorganicznych o potencjalnej aktywności
antyoksydacyjnej i antynowotworowej”**

przygotowanej pod kierunkiem prof. dr hab. Jacka Ścianowskiego (promotor)
oraz dr Agaty J. Pacuły-Miszewskiej (promotor pomocniczy)

Wstęp

Obecność w organizmie ważnego pierwiastka śladowego, jakim jest selen, związana jest z jego występowaniem w selenocysteinie i jej dimerze, w miejscach aktywnych selenoprotein. Peroksydaza glutationowa jest przykładem enzymu, w którym selenocysteina tworzy centrum aktywne powodujące obniżenie poziomu ROS (reaktywnych form tlenu), a także wpływa na zachowanie równowagi redoks w organizmie. Leki selenoorganiczne, będące analogami leków zawierających siarkę i tlen, charakteryzują się lepszymi właściwościami przeciwutleniającymi, a ponadto większą lipofilowością. Poszukiwanie nowych substancji przeciwnowotworowych jest obecnie jednym z kluczowych wyzwań dla nauk farmaceutycznych. Związki selenoorganiczne, charakteryzujące się wysokim potencjałem redoks oraz wysoką cytotoksycznością bardzo dobrze wpisują się w powyższy nurt badań. W związku z przedstawionymi kwestiami, wybór tematyki badawczej podjętej przez mgr Annę Laskowską uważam za zasadny.

Dorobek badawczy Doktorantki w zakresie przedstawionej pracy stanowi cykl pięciu spójnych tematycznie publikacji, w tym czterech o charakterze eksperymentalnym. Artykuły zostały opublikowane w latach 2022-2024, wszystkie w czasopismach o zasięgu międzynarodowym i dobrym współczynniku oddziaływania (średnia = 3,1): *Arkivoc*, *RSC Advances*, *Molecules* i dwie prace w *Materials*. Doktorantka jest również współautorką sześciu innych, niewchodzących w cykl, publikacji oraz współautorką zgłoszenia

patentowego. Pani Laskowska prezentowała wyniki swoich badań (jako współautorka wykładów, komunikatów oraz plakatów naukowych) podczas ponad 30 konferencji o zasięgu ogólnopolskim i międzynarodowym. Doktorantka odbyła miesięczny staż naukowy w University of Perugia we Włoszech. Dodatkowo, otrzymała 5 grantów: 4 w ramach Grantów Młodych Naukowców na Wydziale Chemii UMK w Toruniu oraz jeden "Grant4NCUStudents".

Ocena redakcyjnej strony pracy

Dostarczona do recenzji praca zawiera 50 stron autoreferatu, który obejmuje: wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wprowadzenie do rozprawy doktorskiej, cel pracy, wykaz publikacji wchodzących w skład cyklu doktoratu, omówienie otrzymanych wyników, podsumowanie, bibliografię (76 pozycji literaturowych). Ponadto, zamieszczono informacje o wykształceniu i dorobku naukowym. Do pracy, Doktorantka załączyła kopie pięciu opublikowanych prac, a także oświadczenia współautorów. Praca jest zilustrowana 16. rysunkami i 9. schematami, zawarty jest 10 tabel. Moją uwagę zwróciły *Podziękowania*, które są unikatowe.

Ocena merytoryczna badań przedstawionych w rozprawie

Przedmiotem badań było otrzymanie czterech grup związków chiralnych *N*-podstawionych: benzioselelnazol-3(2*H*)-onów, diselenidów, fenyloselenidów, β -karbonyloselenidów oraz chiralnych i achiralnych *O*-podstawionych β -karbonyloselenidów. Wszystkie układy zostały zaprojektowane w celu sprawdzenia ich właściwości antyoksydacyjnych, a także cytotoksycznych. Istotnym celem było również zbadanie wpływu konfiguracji centrów stereogenicznych uzyskanych pochodnych na aktywność.

Interpretacja wyników nie budzi zastrzeżeń merytorycznych, mam jednak pewne uwagi, które wymagają wyjaśnienia lub komentarza:

1. W pierwszym fragmencie omówienia publikacji wchodzących w skład cyklu (p. 6.1), Doktorantka komentuje wyniki przedyskutowane w *Arkivoc, part v*, 212-235 z 2023 roku. Praca ma charakter przeglądu literaturowego, w którym opisane zostały związki selenoorganiczne uzyskane w przeciągu ostatnich 12 lat, charakteryzujące się aktywnością antyoksydacyjną. Różnorodność strukturalna oraz ilość przedstawionych

substancji wskazują, że poszukiwanie nowych układów o właściwościach antyoksydacyjnych jest tematem bardzo ważnym i aktualnym.

Autorka błędnie określa kwas L-askorbinowy jako związek pochodzenia syntetycznego (str. 19), grupę metoksyową jako "metoksy" (str. 22). "Pozycja *orto* jest najbardziej korzystnym umiejscowieniem grupy hydroksylowej w stosunku do atomu selenu" (str.22), proszę o wyjaśnienie, na czym polega to korzystne "umiejscowienie". Związek **28** posiada grupę OH w pozycji *para*, a **29** – w *orto* (Schemat 5, str. 23), natomiast na str. 22, jest to opisane niepoprawnie.

2. W kolejnym podrozdziale rozprawy doktorskiej (p. 6.2) zostały przedstawione rezultaty badań opisanych w *Materials* 15, 2068 z 2022 roku. Założeniem pracy było otrzymanie serii nowych *N*-podstawionych benzizoselelnazol-3(2*H*)-onów i ich pochodnych - diselenidów, w celu zbadania wpływu konfiguracji na atomach węgla na aktywność antyoksydacyjną oraz przeciwnowotworową. Zastosowano procedurę opisaną w *Molecules* 22, 492, 2017 przez prof. Jacka Ścianowskiego i współpracowników.

Badania cytotoksyczności zrealizowano na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem prof. Anny Janeckiej (na podstawie oświadczeń współauterek). Na stronie 27., Doktorantka napisała: „Aktywność cytotoksyczną związków mierzyłam za pomocą testu żywotności (...) w ramach współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Łodzi”. W oświadczeniu Autorki nie jest wyszczególniony ten wkład w przygotowanie publikacji. Proszę o komentarz dotyczący tej kwestii.

Informacja pod Rys. 7 (str. 26), brzmi: "Asymetryczna część konstrukcji **43a** i **44a**." Nie rozumiem tego podpisu, zważywszy na to, że pokazane są całe cząsteczki benzizoselelnazol-3(2*H*)-onów **43a** i **44a**. Nie mogę się również zgodzić, że na Schemacie 6 przedstawiono równania reakcji.

3. Kolejna z cyklu publikacji praca (*RSC Advances* vol. 13, 2023), próbowała odpowiedzieć na pytanie, jak wprowadzenie grupy fenylovej do selenidów (wiązanie Se-C), wpłynie na aktywność cytotoksyczną oraz antyoksydacyjną. Również ta grupa związków, została sprawdzona pod kątem ich aktywności przeciwnowotworowej pod kierownictwem prof. A. Janeckiej.

N-podstawione benzizoselelnazol-3(2*H*)-ony zostały zsyntezowane metodą opisaną w p. 6.2, natomiast finalne fenyloselenidy, według nieco zmienionej procedury, przedstawionej przez prof. Młochowskiego i wsp. (*Syn. Comm.*, 39: 3141–3155, 2009). W przywołanej pracy, Autorzy uzyskują wydajności bardzo dobre (na 8 przykładów,

6 miało wydajności od 80–90%). Czy Doktorantka sprawdzała przydatność warunków reakcji ww. metody syntezy?

4. W punkcie 6.4, Doktorantka omawia wyniki przedyskutowane w *Materials* vol. 17, 899 z 2024 roku. Poprzez wprowadzenie grupy 2-oksopropylowej, zsyntezowano zmodyfikowane układy selenoorganiczne bazujące na strukturze ebselenu. W tym celu, Doktorantka udoskonaliła procedurę opisaną przez Zhongwei Zhang i współautorów (*Syn. Comm.*, 40: 3438–3446, 2010), poprawiając znacząco wydajność procesu. Aktywność przeciwnowotworową badano na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem dr hab. Katarzyny Gach-Janczak.

Zapis nad tabelą 5 (str. 33), sugeruje, że substraty i reagenty, zostały wprowadzone jednocześnie, co jest niewłaściwe, tym bardziej, że Autorka tłumaczy w akapicie powyżej, że uzyskanie 2-[(oksopropyl)seleno]benzamidów zostało zrealizowane w kilku krokach. Co Doktorantka miała na myśli pisząc: “synteza szeregu (...) *N*-chiralnych par enancjomerycznych (...)”? Stwierdzenie, że “Aktywność przeciwutleniająca dla wszystkich par enancjomerycznych jest taka sama”, nie koreluje z wartościami przedstawionymi w tabeli 6 (str. 35).

4. Ostatnia z cyklu publikacja (*Molecules* vol. 29, 2866, 2024), dotyczy syntezy, a także badań aktywności biologicznej, selenidów β -karbonylowych, zawierających dodatkowo ugrupowanie estrowe. W rezultacie, w tej klasie selenidów uzyskano serie par enancjomerów, diastereoizomerów oraz kilka związków achiralnych. Otrzymane układy poddano testom w kierunku ich działania przeciwnowotworowego przez dr hab. Katarzynę Gach-Janczak i wsp. z Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Autorka błędnie określa numeracje struktur otrzymanych substancji: “pochodne **53-59**”, powinno być “pochodne **82-88**”, zamiast “pochodna (-)-mentolu **89**” “pochodna (-)-mentolu **60**” i “trzy pary enancjomerów **61-66**”, zamiast “**90-95**” (str. 38). Na str. 40, Doktorantka najpierw stwierdza, że pochodna *N*-mentylowa selenazolonu **60** nie wykazywała właściwości przeciwutleniających, po czym w kolejnym zdaniu podsumowuje, że “Moje badania wykazują, że obecność ugrupowania terpenowego może pozwolić na otrzymanie nie tylko związków o interesujących właściwościach przeciwnowotworowych, ale i również przeciwutleniających”. Niestety brak tu konsekwencji. Dodatkowo uważam, że są to zbyt daleko idące wnioski, zważywszy na fakt, iż uzyskano tylko jeden selenid z ugrupowaniem terpenowym.

6. W Liście skrótów brakuje ADP (str. 26).

7. Autorce nie udało się uniknąć błędów interpunkcyjnych, błędów stylistycznych oraz niefortunnych stwierdzeń; w tym miejscu wymieniam kilka z nich: „wpływ stereochemii centrów stereogenicznych” (str. 6), „Diselenidy odznaczały się wyjątkowymi właściwościami redukcji nadtlenu (...)” (str. 7), „test GSH sprzężony z reduktazą glutationową” (str. 19), „w sekcji odnośnie pochodnych ebselenu” (str. 20), „wykryto konfigurację R centrum chiralnego” (str. 25), „konfiguracja poszczególnych centrów węglowych” (str. 24), „zróżnicowane modyfikacje strukturalne i badanie ich wpływu na aktywność” (str. 32), „podstawniki (...) umożliwiają poprawę bioaktywności związków” (str. 37), „podstawniki (...), wśród których znajdują się chiralne oraz monoterpene ugrupowania” (str. 38).

Niezależnie od wątpliwości przedstawionych powyżej, pragnę podkreślić, że przedstawioną do recenzji pracę doktorską pani mgr Anny Laskowskiej oceniam pozytywnie i uważam hipotezy oraz rezultaty badań opisane w publikacjach za bardzo interesujące. Rozprawa doktorska przedstawia oryginalne rozwiązania problemu naukowego. Dysertacja zawiera ciekawy materiał doświadczalny, a zakres wykonanej pracy eksperymentalnej, wymagał dużej wiedzy teoretycznej i umiejętności manualnych. Po lekturze rozprawy oraz przedstawionych w autoreferacie celów i zagadnień badawczych stwierdzam, że zostały one zrealizowane i są zgodne z przedstawionymi wynikami badań.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że badania, jakie wykonała mgr Anna Laskowska w ramach pracy zatytułowanej „Syntezy chiralnych pochodnych selenoorganicznych o potencjalnej aktywności antyoksydacyjnej i antynowotworowej” zakresem stosowanych metod i otrzymanych wyników, a także sposobem dokumentacji wyników odpowiada wymogom stawianym pracom doktorskim i tym samym, spełnia wymagania określone art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawa o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018, poz. 1668 i późn. zm.).

W związku z powyższym, wnioskuję do Pani Dziekan Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, dr hab. Urszuli Kielkowskiej, prof. UMK o dopuszczenie pani mgr Anny Laskowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

