

Łódź, dnia 6 sierpnia 2025 r.

dr hab. Bogna Rudolf, prof. UŁ

Katedra Chemii Organicznej

Wydział Chemii Uniwersytet Łódzki

ul. Tamka 12, 91-403 Łódź

tel.: (048) 042 635 57 55

e-mail: bogna.rudolf@chemia.uni.lodz.pl

www.chemia.uni.lodz.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Kawki pt. „Synteza, analiza spektroskopowa oraz badania biologiczne *in silico* nowych koniugatów steroidowych zawierających układy triazolowe”.

Praca doktorska Pani mgr inż. Anny Kawki została przygotowana pod kierunkiem promotora Pana prof. UAM dr hab. Tomasz Pośpiesznego oraz promotor pomocniczej Pani dr inż. Hanny Koenig na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Oboje Państwo promotorzy mają ogromne doświadczenie w pracy ze związkami steroidowymi i odnoszą na tym polu duże sukcesy. Pani Anna Kawka jest autorką ośmiu publikacji, w tym sześciu opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej o wysokim IF (od 2,9 do 4,5). Pięć z tych prac to prace eksperymentalne oraz jedna praca przeglądowa. Pozostałe dwie prace opublikowane w pismach spoza listy filadelfijskiej to rozdziały w monografiach, jedna w języku polskim, druga w języku angielskim. Wyniki swoich badań Pani mgr inż. Anna Kawka zaprezentowała na szeregu konferencjach krajowych (21), gdzie wygłosiła 11 prezentacji ustnych oraz zaprezentowała 10 posterów, jedna ze wspomnianych konferencji odbyła się online. Warto podkreślić, że Pani Anna Kawka została dwukrotnie nagrodzona za najlepszy komunikat ustny I nagrodą.

Projektowanie nowych leków jest jednym z kluczowych kierunków badań współczesnej nauki. Sterole, związki o szkieletcie cyklopentano[α]perhydrofenantrenu, to cząsteczki pochodzenia naturalnego o udowodnionym działaniu przeciwzapalnym, przeciwbakteryjnym, antyoksydacyjnym oraz przeciwnowotworowym. Jeśli chodzi o aktywność przeciwnowotworową to mogą one wywoływać apoptozę i proliferację komórek nowotworowych, jak również zapobiegać ich przerzutom. Bioaktywność pochodnych steroli zainspirowała Doktorantkę do opracowania nowych interesujących pochodnych steroli, a otrzymane w ramach pracy doktorskiej związki zostały scharakteryzowane przy pomocy metod spektroskopowych i spektrometrycznych. Otrzymane cząsteczki zostały również przebadane pod kątem aktywności biologicznej metodami *in silico* (Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS), dokowanie molekularne).

W skład pracy doktorskiej wchodzi cykl sześciu prac opublikowanych latach 2023-2025 opatrzonych komentarzem, który został podzielony na część literaturową (34 strony) oraz część eksperymentalną (34 strony), która jest *de facto* opisem badań własnych Autorki. Cykl prac stanowiących podstawę recenzowanej dysertacji jest spójny tematycznie i dotyczy pochodnych steroidowych zawierających pierścień triazolowy w cząsteczce i ich zastosowania w naukach medycznych. W części literaturowej komentarza Pani Anna Kawka charakteryzuje steroidy, szczególnie podkreślając ich wpływ na organizm ludzki. W swoich badaniach literaturowych Pani Kawka skupiła się na kwasach żółciowych oraz β -sterolach (np. cholesterol), ich budowie stereochemii oraz aktywności biologicznej. W kolejnym rozdziale części literaturowej Autorka przybliży chemię „click”, ważną strategię syntezy, która jest odpowiedzią na zapotrzebowanie na nowe metody otrzymywania leków. Pani Kawka wskazuje na niezwykle potencjał cykloaddycji alkinowo-azydkowej katalizowanej jonami miedzi (I), która nie tylko pozwala wydajnie i trwale połączyć dwie molekuły ale również w jej wyniku powstaje pierścień triazolowy, który może pozytywnie wpływać na aktywność biologiczną powstałych cząsteczek. Tak przedstawiony wstęp literaturowy podkreśla znaczenie tematyki niniejszej pracy w kontekście dotychczasowych badań dotyczących zarówno steroidów, jak również 1,2,3-triazoli.

W części błędnie nazwanej częścią eksperymentalną znajdziemy komentarz do 6 publikacji Doktorantki, które wchodzi w skład niniejszej pracy doktorskiej. Są to trzy prace przeglądowe i trzy eksperymentalne. We wszystkich sześciu publikacjach Pani Anna Kawka jest pierwszym autorem, co świadczy o jej kluczowym udziale w przygotowaniu tych prac, co więcej w dwóch pracach przeglądowych oraz jednej eksperymentalnej Pani Anna Kawka jest autorem do korespondencji. Istotny udział Pani Kawki w przygotowaniu publikacji potwierdzają również zamieszczone na końcu pracy oświadczenia współautorów.

Trzy publikacje stanowiące podstawę dysertacji doktorskiej to prace przeglądowe, które zostały opublikowane: w monografii „*Na pograniczu chemii, biologii i fizyki - rozwój nauk.*” Tom 6. Wydawnictwo Naukowe UMK (2025) [P1], *Bioorganic Chemistry* (2024) [P2], oraz *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier, Amsterdam, Netherlands (2024) [P4]. Wszystkie trzy wymienione artykuły przeglądowe omawiają znaczenie i wykorzystanie koniugatów biosteroidowych głównie w farmakologii i medycynie. We wszystkich trzech pracach pojawia się motyw łącznika 1,2,3-triazolowego, który łączy szkielety steroidowe z innymi cząsteczkami, co pozytywnie wpływa na potencjał terapeutyczny otrzymanych koniugatów.

Kolejne trzy prace cyklu to prace eksperymentalne, które dotyczą syntezy pochodnych steroidowych zawierających w strukturze pierścienia 1,2,3-triazolowy. Wszystkie otrzymane w ramach opisanych badań koniugaty steroidowe zostały poddane badaniom *in silico* metodą PASS, oraz dokowania molekularnego w celu oceny ich potencjalnej aktywności biologicznej. Wykonano również obliczenia teoretyczne, które rzucają światło na trwałość wymienionych związków.

Praca [P3] opublikowana w *ACS Omega* (2024) dotyczy syntez hybryd steroidowo-pirymidynowych (z uracylem i 2-tiouracylem). W sumie zsyntezowano 13 związków zawierających w strukturze po dwa fragmenty steroidowe oraz dwa pierścienie 1,2,3-triazolu połączone fragmentem pirymidynowym. Wyniki badań *in silico* prognozują, że otrzymane w ramach tej pracy biokoniugaty charakteryzuje zdolność do interakcji z enzymami metabolizmu

lipidów, co predestynuje je do zastosowania w terapiach przeciwdrobnoustrojowych. Związki te mają też potencjał cytoprotekcyjny i mogą zostać zastosowane w terapiach dermatologicznych.

W pracy opublikowanej w *Journal of Molecular Structure* (2023) [P8] opisano syntezę koniugatów kwasów żółciowych i steroli z pierścieniami 1,2,3-triazolowymi w cząsteczce. Aby wykorzystać 1,3-dipolarną cykloaddycję Huisgena dla połączenia wspomnianych cząsteczek należało wprowadzić do nich fragmenty azydkowe i alkinowe. W ramach tej pracy otrzymano zatem pochodne azydkowe kwasów żółciowych oraz pochodne alkinowe wybranych steroli. W rezultacie reakcji „click” otrzymano 30 nowych związków, które wg. prognozy PASS wykazują aktywność przeciwgrzybiczą i przeciwbakteryjną.

Praca [P6] która ukazała się w *Journal of Organic Chemistry* (2024) dotyczy quasi-podandów pochodnych kwasów żółciowych zawierających w strukturze układy 1,2,3-triazolowe. Tym razem do pochodnych kwasów żółciowych wprowadzono fragmenty alkinowe, które łatwo reagowały z 1,3,5-tris(azydometyleno)benzenem w 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena katalizowanej jonami miedzi (I). Otrzymane związki, tripodstawione koniugaty strukturalnie przypominają układy supramolekularne podatne na tworzenie kompleksów typu gospodarz-gość. Prognoza PASS wskazuje, że związki te mogą zostać zastosowane jako antagoniści cholesterolu lub inhibitory enzymów metabolizmu lipidów.

Praca napisana jest bardzo starannie, znalazłam w niej tylko kilka błędów edytorskich, takich jak literówki, czy błędne sformułowania (np. „komórek raka białaczki”, „na widmach”). Należy podkreślić estetyczną szatę graficzną pracy, którą cechuje dbałość o szczegóły. Spisy tabel, rysunków i schematów oraz wykaz skrótów, bardzo ułatwiają jej czytanie, a przejrzyste rysunki precyzyjnie ilustrują opisywane zagadnienia.

Nie mam uwag do opublikowanych wyników badań, które znalazły już akceptację i uznanie w procesie recenzji publikacji. Natomiast mam kilka pytań/komentarzy, które nasunęły się w trakcie czytania dysertacji.

- 1) W części literaturowej (str. 68-69) określono dendrymery jako „kieszenie molekularne”, z czego wynika ta nazwa i w stosunku do jakich dendrymerów można zastosować to sformułowanie?
- 2) We wszystkich trzech pracach eksperymentalnych wchodzących w skład dysertacji [P3], [P6], [P8], otrzymane pochodne steroidów poddano badaniom biologicznym *in silico*. Czy podjęto próbę zweryfikowania wyników otrzymanych metodą PASS i przeprowadzono badania biologiczne otrzymanych koniugatów steroidowych zgodnie z sugestiami wspomnianej metody? Jaka jest rozpuszczalność w wodzie otrzymanych związków?
- 3) W pracy [P3] dotyczącej syntez hybryd steroidowo-pirymidynowych, w pierwszym etapie Autorka otrzymała alkinowe pochodne uracylu i 2-tiouracylu. Warunki reakcji uracyli z bromkiem alkilu w obu przypadkach są takie same, natomiast ich produkty znacznie się różnią. W przypadku reakcji z uracylem otrzymano *N*(1),*N*(3)-dipropargilową pochodną uracylu (**88**), natomiast w reakcji 2-tiouracylu otrzymano dwa związki *N*(1),*S*-dipropargilową pochodną 2-tiouracylu (**89**) i *N*(3),*S*-dipropargilową pochodną 2-tiouracylu (**90**). W publikacji nie znalazłam wyjaśnienia tej kwestii. Proszę o komentarz na ten temat. Czy podjęto kolejne próby syntezy *N*(1),*N*(3)-dipropargilowej pochodnej 2-tiouracylu?
- 4) W pracy [P6], która dotyczy triazolowych pochodnych quasi-podandów, stwierdzono że reakcja „click” zachodzi tam na wszystkich trzech grupach azydkowych, i tylko w jednym przypadku otrzymano produkt z jedną wolną grupą azydkową w niewielkich ilościach. Z opisu eksperymentu w publikacji wynika, że stosowano tam stosunek molowy substratów 1:3 (1,3,5-tris(azydometyleno)benzen: propargilowy kwas żółciowy). Czy próbowano przeprowadzić tą reakcję w stosunku 1:1? Jaki produkt otrzymano?

Podsumowując, Pani mgr inż. Anna Kawka w ramach swojej pracy usystematyzowała dotychczasową wiedzę dotyczącą syntezy triazolowych pochodnych steroidów oraz ich właściwości biologicznych. Wnikliwe badania literaturowe pozwoliły jej zaprojektować, a

następnie zsyntezować nowe biokoniugaty steroidowe, które otrzymała stosując cykloaddycję alkinowo-azydkową katalizowaną jonami miedzi (I). Recenzowaną dysertację charakteryzuje bardzo dobry warsztat syntetyczny. Doktorantka z łatwością posługuje się chemią „click” oraz innymi metodami syntezy organicznej, z dużą wprawą korzysta z technik spektroskopowych oraz spektrometrii mas. Poprawnie interpretuje wyniki badań teoretycznych, i wyciąga wnioski dotyczące właściwości otrzymanych związków. Pewien niedosyt pozostawia fakt, że mimo licznych przytoczonych z literatury przykładów badań biologicznych koniugatów steroidowych, we wszystkich pracach eksperymentalnych wchodzących w skład niniejszej pracy doktorskiej zastosowano wyłącznie metody *in silico*, aby stwierdzić czy otrzymane związki mają predyspozycje do aktywności biologicznej, nie badając np. rozpuszczalności, trwałości czy lipofilowości otrzymanych związków. Chciałabym jednak podkreślić, że przyjęty cel pracy został zrealizowany, a przeprowadzone badania prezentują bardzo dobry poziom naukowy. Zamieszczone przeze mnie w recenzji uwagi i zastrzeżenia mają charakter formalny lub polemiczny i nie mają wpływu na moją bardzo wysoką ocenę niniejszej pracy. Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że recenzowana praca doktorska Pani mgr inż. Anny Kawki spełnia wymagania ustawowe stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.). W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie Pani mgr inż. Anny Kawki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

