UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Chemii

UCZELNIA
BADAWCZA
INICJATYWA DOSKONAŁOŚCI

prof. dr hab. Jacek Ścianowski
Katedra Chemii Organicznej, Wydział Chemii,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
87-100 Toruń, ul. Gagarina 7

Toruń, 11 sierpnia, 2023r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pana mgr. Pawła Adama Grzesia pt. „*Selenosteroidy - metody syntezy przy użyciu nowych i klasycznych reagentów selenoorganicznych*", wykonanej pod kierunkiem promotor dr hab. Izabelli Jastrzębskiej prof. UwB w Katedrze Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu w Białymstoku i przedłożonej jako monotematyczny cykl publikacji wraz z komentarzem.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pana mgr. Pawła Adama Grzesia składa się z cyklu czterech publikacji: jednego artykułu przeglądowego i trzech oryginalnych prac o charakterze eksperymentalnym. Artykuły naukowe wchodzące w skład pracy doktorskiej zostały opublikowane w latach 2019-2023 w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym: dwie prace w *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* (IF = 6.208), a dwie kolejne w *International Journal of Molecular Science* (IF = 5.011), znajdujących się w wykazie czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych Ministerstwa Edukacji i Nauki. Sumaryczny IF dla przedłożonych publikacji to 22,438, co przekłada się na 480 punktów MEiN i świadczy o bardzo dobrym poziomie recenzowanej pracy doktorskiej. Do cyklu publikacji został załączony 35 stronicowy komentarz składający się z celu pracy, części literaturowej, omówienia wyników badań własnych, z podziałem na poszczególne prace, oraz podsumowania i wniosków. Do nadesłanych materiałów dołączone zostały streszczenia w języku polskim i angielskim, spis treści, wykaz skrótów oraz dane dotyczące działalności naukowej doktoranta, z których wynika, iż jest on dodatkowo współautorem jednej pracy w *Pharmaceuticals* (IF = 5,215), był wykonawcą w grancie OPUS 9 oraz uzyskał finansowanie w ramach Badań Młodych

Naukowców w 2019 roku na UwB. Wyniki badań prezentował również w formie 1 komunikatu i 5 posterów na 1 konferencji krajowej i 5 międzynarodowych. Doktorant odbył staż naukowy w grupie profesora Claudio Santi na uniwersytecie w Perugii. W pracy umieszczone zostały kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia współautorów prac, z których wynika, iż doktorant miał wiodącą rolę w prowadzonych eksperymentach, ustalaniu struktury otrzymanych związków i przygotowywaniu manuskryptów. W trzech pracach przedstawionych do oceny doktorant jest pierwszym współautorem.

Celem badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej było opracowanie syntezy nowych pochodnych selenoorganicznych, selenosteroidów i zbadanie ich właściwości biologicznych. Tematyka ta wpisuje się w szerszy nurt badań prowadzonych przez dr hab. Izabelę Jastrzębską, prof. UwB nad syntezą, badaniem właściwości i wykorzystaniem pochodnych steroidowych. Podjęta tematyka to jeden ze współczesnych kierunków badań dotyczących aplikacji pochodnych selenoorganicznych w syntezie i farmakologii. Poszukiwanie nowych procedur syntetycznych i nowych połączeń węgiel-selen w układach steroidowych jest interesujące z uwagi na to, iż obie grupy, zarówno pochodne selenowe jak i pochodne steroidowe, wykazują właściwości farmakologiczne. W pracy założono, że połączenie tych dwóch grup związków może zaowocować otrzymaniem nowych pochodnych o ciekawych właściwościach biologicznych.

Praca doktorska została zaprezentowana w formie czterech publikacji. Pierwsza z nich to artykuł przeglądowy powiązany tematycznie z prowadzonymi badaniami. Zaprezentowane w nim zostały syntezy selenosteroidów oraz ich aplikacje syntetyczne i biologiczne. Pierwsza część pracy to syntezy alkilowych i arylowych pochodnych steroidów oraz pochodnych steroidowych, w których atom selenu jest w wbudowany w ich strukturę. Omówione szeroko zostały między innymi metody syntezy fenyloselenidów w reakcjach podstawienia, selenenylacji alkenów, otwarcia pierścieni epoksydowych oraz następcze reakcje *syn*-eliminacji. Drugi fragment pracy to omówienie pochodnych steroidowych o właściwościach biologicznych. Opisane zostały pochodne selenomocznikowe, selenazolowe, benzizo-selenazolowe, selenocyjanianowe i diselenidowe steroidów oraz ich właściwości antyoksydacyjne, przeciwbakteryjne, przeciwzapalne i antynowotworowe. W mojej opinii to ciekawy przegląd wprowadzający do zagadnień omawianych w pracy doktorskiej i uzasadniający podjęcie badań w kierunku opracowania nowych pochodnych selenosteroidowych.

Druga praca to zastosowanie reagenta Santiego (PhSeZnCl) do reakcji otwierania pierścieni epoksydowych pochodnych steroidów. Zoptymalizowano warunki otwierania pierścieni epoksydowych (*in situ* generowany PhSeZnCl, temperatura wrzenia THF). Zaproponowano mechanizm otwierania epoksydów steroidowych. Przedyskutowano wpływ budowy przestrzennej steroidów na kierunek otwarcia pierścienia epoksydowego. Otrzymano cztery nowe hydroksyfenyloselenidy steroidowe. Zbadano właściwości redukcyjne jednego selenosteroidu testem NMR obserwując na widmach konwersję DDT do odpowiedniego disulfidu (Konwersja była na poziomie 22%. Założono, że niska konwersja jest wynikiem zatłoczenia przestrzennego). Wykazano, że otrzymane związki wykazują właściwości antybakteryjne i działają prewencyjnie przeciwko tworzeniu biofilmu bakteryjnego.

Trzecia praca to modyfikacje w pozycji 1 steroidów zawierających α,β-nienasycone ugrupowanie ketonowe. Odpowiednie selenidy i sulfidy zostały otrzymane z dobrymi i bardzo dobrymi wydajnościami, w wyniku reakcji odpowiednich arylowych i alkilowych selenoli i tioli w addycji typu Michaela. Z uwagi na szybką dimeryzację, szczególnie podatnych na utlenianie selenoli, reagenty te były otrzymywane w układzie dwufazowym, separowane, a dalsze reakcje były prowadzone w atmosferze agronu. Otrzymano 10 pochodnych selenidowych i 4 sulfidowe. Reakcje addycji były regio- i stereoselektywne. Diselenidy wykorzystywane do reakcji syntezy selenoli były otrzymywane w typowy sposób, w wyniku działania selenem na odpowiednie reagenty Grignarda, a następnie były izolowane po hydrolizie i reakcji utleniania. Wstępne testy wykazały, że wybrane pochodne selenosteroidowe wykazują właściwości cytotoksyczne względem komórek nowotworowych HeLa (linii komórkowej wywodzącej się z komórek raka szyjki macicy).

Ostatnia, czwarta praca to funkcjonalizacja pochodnych steroidowych zawierających terminalne wiązanie potrójne. Reakcja z benzenoselenochlorkiem wobec jodku miedzi(I) i trietyloaminy doprowadziła do syntezy czterech pochodnych fenyloselenidowych z bardzo dobrymi wydajnościami. Zoptymalizowane warunki syntezy dla otrzymanych pochodnych to 100°C dla reakcji prowadzonej w DMF. Zaproponowano prawdopodobny mechanizm dla reakcji syntezy fenyloselenidów. Otrzymane selenidy zostały przebadane pod kątem aktywności przeciwnowotworowej względem komórek nowotworowych raka piersi MCF-7. Badane związki wykazywały wysoką hemokompatybilność i brak toksyczności wobec komórek kardiomiocytów oraz silne działanie przeciwnowotworowe w badaniach *in vitro*. Selenidy indukowały apoptozę komórek nowotworowych. Wykazano, że głównym

mechanizmem odpowiedzialnym za śmierć komórek jest nadprodukcja reaktywnych form tlenu (ROS) i związana z nią aktywacja kaspazy 3/7.

Po zapoznaniu się z pracami przedłożonymi do recenzji stwierdzam, że cele pracy doktorskiej zostały w pełni zrealizowane. Do istotnych elementów nowości należy zaliczyć:

a) wykorzystanie i ciekawe modyfikacje znanych metod syntezy pochodnych selenoorganicznych do otrzymywania nowych selenosteroidów,

b) określenie regio- i stereochemii otrzymanych produktów reakcji oraz mechanizmu ich otrzymywania,

c) otrzymanie serii biologicznie aktywnych pochodnych steroidowych o potencjalnym działaniu przeciwbakteryjnym i antynowotworowym.

Do pracy został załączony 35 stronicowy komentarz. Doktorant najpierw zakreślił cel pracy, którym miała być selenofunkcjonalizacja steroidów do pochodnych o znaczeniu biologicznym. W części literaturowej, zaprezentował wybrane przykłady z omawianej wcześniej pracy przeglądowej, dotyczące pochodnych selenosteroidowych i ich aplikacji w syntezie. Następnie przedstawił omówienie załączonych prac. W tej części pojawiły się dodatkowe informacje nie zawarte w ocenianych publikacjach, np. otwieranie pierścienia epoksydowego dla pochodnej zapierającej dwa ugrupowania epoksydowe, czy szeroko opisane badania biologiczne wykonane dla pochodnych, które powstały w wyniku addycji typu Michaela przesłane do druku. Komentarz kończy dwustronicowe podsumowanie i spis cytowanej literatury obejmujący 44 pozycje.

W mojej opinii w komentarzu zabrakło szerszego wprowadzenia do badań nad syntezą niesteroidowych pochodnych selenoorganicznych i ich aplikacji medycznych. W pracy stosowana jest starsza nomenklatura pochodnych selenowych zamiast selenków powinno się używać nazwę selenidy. Numeracja związków w tekście nie jest jednolita. Czasami numery są podawane w nawiasach a czasami nie. W części literaturowej brakuje wydajności na niektórych schematach. W tytułach schematów nie powinno być kropek na końcu, a jeśli są powinny być stosowane konsekwentnie w całej pracy. W opisie schematu 12 podana jest literatura [19], w której nie ma danych tam prezentowanych. Podobnie jest z odnośnikiem [20]. W Tabeli 1 brak jest numeracji związków, a niektóre z nich były wcześniej opisane w tekście. Brak jest też wydajności reakcji, a jeden ze związków nie był zaprezentowany w omawianej publikacji. W tabeli 5 i 6 błędna jest numeracja diselenidów. Brak jest opisu rysunku 12. Brak jest jednolitego zapisu cytowanej literatury. W pozycji 1 cytowanej literatury brak jest numerów stron, czasami podawany jest zakres stron, a czasami tylko pierwsza strona. W niektórych

odnośnikach rok jest podawany w nawiasie, a w niektórych jest pisany boldem. Różna jest też kolejność zapisu danych literaturowych. W niektórych odnośnikach podawany jest numer doi a w niektórych nie. Te drobne uchybienia nie wpływają jednak na wysoką wartość merytoryczną pracy.

Podsumowując uzyskane rezultaty chciałbym podkreślić duży wkład doktoranta w badania nad syntezą i aplikacjami biologicznymi otrzymanych selenosteroidów. Badane w pracy pochodne charakteryzują się ciekawymi właściwościami a przedstawiona rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Stwierdzam, że recenzowana praca doktorska mgr Pawła Adama Grzesia spełnia w pełni wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce" [Dz. U. z 2018 poz. 1668 z późn. zm.]. W związku z tym, wnoszę o dopuszczenie mgr Pawła Adama Grzesia do dalszych etapów postępowania o nadanie mu stopnia doktora nauk chemicznych.

Z uwagi na bardzo dobry poziom prezentowanych badań wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej pracy. Zaprezentowana tematyka jest nowoczesna i wpisuje się w aktualnie trendy rozwijane w chemii selenoorganicznej. Zastosowane rozwiązania syntetyczne wnoszą nowe elementy do wiedzy o pochodnych steroidowych. W pracy wykorzystane są ciekawe autorskie rozwiązania trudnych problemów, które napotkał doktorant, a otrzymane pochodne mają znaczenie biologiczne np. antybakteryjne czy przeciwnowotworowe i może w przyszłości po bardziej szczegółowych badaniach znajdą ciekawe aplikacje farmakologiczne.

Jacek Ściemiński