

Recenzja rozprawy doktorskiej pt.

„Synteza i ocena aktywności biologicznej wybranych pochodnych kwasu dichloromukowego w warunkach *in vitro* wobec modelowych linii komórek nowotworowych” mgr inż. Anny Byczek-Wyrostek wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Krzysztofa Walczaka

Zastosowanie substancji pochodzenia naturalnego w leczeniu chorób onkologicznych, ale również w profilaktyce, od wielu lat stanowi jeden z głównych nurtów badawczych, gdyż może być szansą na lepszą, ukierunkowaną terapię oraz zmniejszenie ilości zachorowań. Stąd, niezwykle cenne są badania stanowiące podstawę do wyłonienia związków o możliwie jak najwyższej aktywności biologicznej, które będą kwalifikować się do dalszych etapów badań *in vivo* obejmujących m.in. celowane strategie terapeutyczne.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska zatytułowana „*Synteza i ocena aktywności biologicznej wybranych pochodnych kwasu dichloromukowego w warunkach in vitro wobec modelowych linii komórek nowotworowych*” napisana przez mgr inż. Annę Byczek-Wyrostek, a wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Krzysztofa Walczaka, zdecydowanie wpisuje się w ten nurt badań. Uważam, że praca stanowi cenny wkład w badania nad wpływem wybranych substancji w leczeniu chorób nowotworowych i posiada wysoki potencjał aplikacyjny.

Badania powstały dzięki finansowaniu przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu OPUS (nr 2016/21/B/NZ7/01766) oraz Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa wyższego (finansowanie młodych naukowców nr BK-M-518/RCH2/2014, BK-M-505/RCH2/2015 i BK-M-530/RCH2/2016). Publikacje związane z rozprawą doktorską zostały zacytowane na stronie 124, z czego w jednej z roku 2018 Doktorantka jest pierwszym autorem, a w drugiej z 2021 roku, drugim. Są to prace oryginalne, opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym o wysokim współczynniku oddziaływania (łącznie IF to 12,303; Autorka nie podaje ilości punktów MNiSW). Obie publikacje dotyczą antynowotworowej aktywności pochodnych furanonowych.

Dysertacja została napisana bardzo starannie, w typowy i poprawny sposób dla tego typu prac. Obejmuje ona 131 stron, w tym od strony 124 do 131 Autorka zamieściła wykaz dorobku naukowego: dwie publikacje związane z rozprawą doktorską (IF 12.303); Dziewięć publikacji niezwiązanych z rozprawą doktorską (łącznie IF 48,648, z czego w jednej jest pierwszym autorem, a w dwóch drugim; Udział w konferencjach naukowych (21 od roku 2014 do 2020); Uzyskane w roku 2015 podczas Konferencji „Pomiędzy Naukami” wyróżnienie za prezentację ustną wyników badań; Uzyskane

Katedra i Zakład
Biochemii

Wydział Nauk
Medycznych w Zabrze

41-808 Zabrze ul.
Jordana 19
www.sum.edu.pl

Prof. dr hab. n. med. i n. o
zdr. Jolanta Zalejska-
Fiołka tel.: (+48 32) 272 23
18
jzalejskafiolka@sum.edu.pl

SEKRETARIAT

tel.: (+48 32) 272 23 18
fax: (+48 32) 272 23 18

biochemz@sum.edu.pl

stypendia JM Rektora Politechniki Śląskiej; Odbyte szkolenia i kursy oraz udział w projektach (była wykonawcą w 5-ciu projektach).

Zaprezentowany dorobek Kandydatki jest znaczny i świadczy o Jej dojrzałości naukowej, umożliwiającej w przyszłości samodzielne planowanie i przeprowadzanie badań.

Dysertacja została napisana w oparciu o 117 dobrze dobranych i zacytowanych pozycji literaturowych, z czego blisko 26% to publikacje z ostatnich 10-ciu lat. Dysertacja zawiera wykaz skrótów, wstęp teoretyczny, cel pracy, omówienie wyników, wnioski oraz obszerną część eksperymentalną, wykaz otrzymanych związków, rodzaj zastosowanych testów statystycznych oraz spis literatury. Brakuje spisu tabel i rysunków - co utrudnia odbiór pracy oraz streszczenia w języku polskim i angielskim.

We wstępie teoretycznym Autorka przedstawiła szczegółowe informacje dotyczące 2(5H)-furanonu i jego pochodnych (w tym kwasów dihalogenowych). Obejmują one zarówno budowę, występowanie w przyrodzie, otrzymywanie jak i właściwości biologiczne (przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwwirusowe i przeciwnowotworowe). Doktorantka opisała także metody otrzymywania kwasu 3,4-dichloromukowego i 3,4-dibromomukowego oraz cykl życia komórek i proces apoptozy. Z uwagi na cel pracy, najciekawszym podrozdziałem wydaje się być ten, dotyczący właściwości przeciwnowotworowych. Stanowi on przegląd prac od 2000 do 2017 roku, co świadczy o tym, iż temat ten jest wciąż aktualny.

Za cel pracy Doktorantka przyjęła opracowanie metodyki syntezy nowych pochodnych kwasu dihalogenomukowego, zawierających różne podstawniki w pozycji C5 pierścienia 2(5H)-furanonu i zbadanie ich właściwości antyproliferacyjnych oraz przeciwnowotworowych. Uzyskane dane miały dalej posłużyć do zbadania mechanizmu działania wybranych pochodnych kwasu dihalogenomukowego. Ponadto, badania z założenia miały charakter przesiewowy i stanowić miały podstawę do wyłonienia najbardziej obiecującej struktury zakwalifikowanej na dalszych etapach do badań *in vivo*. Cel pracy został sformułowany poprawnie, jednak biorąc pod uwagę przedstawione wnioski, powinien być bardziej szczegółowy. Uważam także, że można było w tym miejscu wymienić pochodne, które miały być syntetyzowane wraz z krótkim uzasadnieniem wyboru tych pochodnych. Odbiór pracy byłby lepszy, a wnioski postawione przez Doktorantkę odpowiadałyby dokładnie celowi badań.

W kolejnym, trzecim rozdziale „Omówienie wyników” odnalazłam uzasadnienie wyboru zsyntetyzowanych pochodnych kwasów 3,4-dihalogenomukowych. Jednak informacje zawarte na stronie 39 są krótkie i przedstawione dość chaotycznie, a uważam, że stanowi to istotę pracy. Poza tymi uwagami, pragnę wyraźnie podkreślić, że wyniki zostały omówione bardzo dokładnie i starannie oraz ukazują ogrom pracy laboratoryjnej wykonanej przez Doktorantkę. Autorka w sposób prawidłowy zaplanowała badania. W pierwszym etapie Autorka pracy określiła mechanizm działania najbardziej aktywnych pochodnych 3,4-dihalogeno-5-hydroksy-2(5H)-furanonu. Struktury potwierdziła adekwatnymi metodami ^1H i ^{13}C NMR oraz HR MS. Test MTT służący badaniu wpływu syntetyzowanych pochodnych furanonu na hamowanie proliferacji komórek nowotworowych także został prawidłowo dobrany. Dla wszystkich pochodnych związków referencyjnych wyliczyła poprawnie indeks selektywności (IS) oraz wartość współczynnika podziału LogP. W kolejnym etapie badań Doktorantka

podjęła się zbadania wpływu wybranych pochodnych na cykl komórkowy oraz rodzaj powodowanej śmierci komórkowej. Metoda badania cyklu komórkowego z użyciem cytometru przepływowego w oparciu o pomiar fluorescencji DNA znakowanego jodkiem propidyny została dobrana w pełni poprawnie i pozwoliła na ocenę aktywności wybranych pochodnych. Doktorantka oceniła także wpływ wybranych pochodnych na potencjał klonogeny – czyli zdolność komórek indukowanych czynnikiem zewnętrznym do nieskończonych podziałów i formowania kolonii złożonych z klonów komórek. Stanowi to w komórkach nowotworowych krytyczny wskaźnik żywotności komórkowej.

Badania zostały przeprowadzone bardzo dobrze, z wykorzystaniem uznanych technik, co świadczy o dojrzałości naukowej Autorki pracy.

Rozdział 5 – Część eksperymentalna, został prawidłowo podzielony na podrozdziały, w których Doktorantka przedstawiła bardzo szczegółowo wszystkie konieczne informacje, dotyczące m.in. zastosowanych odczynników, kolumnienek, aparatury badawczej oraz metod otrzymywania i właściwości fizykochemicznych otrzymywanych substancji, jak również etapów przygotowywania związków do badań biologicznych (załączone tabele i rysunki dobrze systematyzują tekst i ułatwiają odbiór informacji). Bardzo dokładnie opisała warunki hodowli linii komórkowych oraz zastosowane techniki analityczne. Na szczególne podkreślenie zasługuje to, iż Doktorantka badania biologiczne przeprowadziła na 12 liniach komórkowych różnego pochodzenia – płucnego, jelita grubego, wątroby, kości, piersi i prostaty, co podnosi wartość pracy. Zastosowane techniki: cytometria przepływowa, czy western blot, nie należą do prostych technik, stąd ich wykorzystanie po raz kolejny świadczy o dojrzałości naukowej Autorki dysertacji.

Wszystkie zastosowane metody oraz techniki analityczne zostały bardzo dobrze dobrane i zastosowane i świadczą o bardzo dobrym warsztacie naukowym Doktorantki.

Uzyskane wyniki wraz z wystarczającymi analizami statystycznymi pozwoliły na realizację celu badań i wyciągnięcie wniosków. Niestety, wnioski niepotrzebnie mają charakter opisowy i stanowią w dużej mierze omówienie uzyskanych wyników. Nie mniej, postawione wnioski wyraźnie wykazują możliwość praktycznego zastosowania wybranych pochodnych, w szczególności pochodnej AB24 i AB25. Autorka sama zasugerowała, że otrzymane związki mogą wykazywać działanie lecznicze.

Niestety praca zawiera liczne sformułowania potoczne, tj. „celują w apoptozę w raku”, nie jest także wolna od błędów stylistycznych. Nie umniejsza to jednak wartości naukowej pracy.

Reasumując, drobne uwagi i sugestie w żaden sposób nie zmieniają mojej bardzo wysokiej oceny dysertacji, która została dobrze zaplanowana i zrealizowana.

Praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a Doktorantka prezentuje wystarczającą wiedzę w zakresie swojej dyscypliny, jak również jest zdolna do samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Przedstawiona praca w pełni odpowiada kryteriom stawianym przed kandydatami do stopnia doktora, spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy 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, z późn. zm.). Stąd,

mam zaszczyt zwrócić się do Wysokiej Rady Politechniki Śląskiej z wnioskiem o dopuszczenie mgr. inż. Anny Byczek-Wyrostek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na jakość uzyskanych wyników, ich wysoki potencjał aplikacyjny oraz wysoki dorobek naukowy (sumaryczny współczynnik oddziaływania impact factor 60,951) i otrzymane stypendia oraz wyróżnienie, zwracam się do Wysokiej Rady z wnioskiem o wyróżnienie przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej.

Z poważaniem