

OCENA

rozprawy doktorskiej pt. „Nowe pochodne chinoliny oraz 2,6-diketopiperazyny jako potencjalne związki biologicznie czynne”, wykonanej przez p. mgr **Krzysztofa Kubicę** w Zakładzie Chemii Leków Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego



UNIwersYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Poszukiwanie nowych leków jest obecnie procesem bardzo trudnym i wymagającym ogromnej wiedzy w dziedzinie chemii medycznej. Najważniejszym początkowym działaniem jest zdefiniowanie celu biologicznego. Pan mgr Krzysztof Kubica zdefiniował swoje zainteresowania w dwóch obszarach: poszukiwania substancji biologicznie aktywnych o działaniu przeciwnowotworowym oraz przeciwdrgawkowym. Potrzebę poszukiwania nowych struktur o działaniu przeciwnowotworowym Doktorant uzasadnił faktem iż schorzenia nowotworowe to jedna z najczęstszych przyczyn zgonów pacjentów na świecie, a obecnie dostępne leki wobec rosnącej liczby zachorowań nie spełniają w pełni swojej roli zwłaszcza wobec rosnącej oporności wobec już istniejących leków. Poszukiwanie leków przeciwpadaczkowych jest niezbędne ze względu na występowanie licznej grupy pacjentów opornych na już istniejące terapie.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska składa się z zamieszczonych czterech publikacji – w tym jednej przeglądowej, trzech eksperymentalnych oraz krótkiego opisu zawartości każdej z tych publikacji wraz z jednostronicowym wstępem i podsumowaniem. Prace eksperymentalne zostały opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, ich sumaryczny współczynnik cytowań wynosi IF=4.04.

Bardzo dobrym wprowadzeniem w tematykę zaprojektowanych badań jest praca przeglądowa autorstwa Doktoranta p. mgr Krzysztofa Kubicy i Promotora p. profesora Aleksandra Mazurka. Przygotowanie pracy p.t. *Wemurafenib jako selektywny inhibitor kinazy seroninowo-treoninowej B-RAF stosowany w leczeniu czerniaka*, która ukazała się w Biuletynie Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w roku 2016 pozwoliło p. mgr. Kubicy na zapoznanie się z problemem terapii czerniaka, aktywnością kinaz białkowych jako leków przeciwnowotworowych oraz przykładem takich leków jakim jest wemurafenib, zaletami i ograniczeniami terapii z jego zastosowaniem. Rozwiązaniem problemów związanych z ograniczeniami terapii z zastosowaniem inhibitorów kinaz białkowych wydaje

Wydział Farmaceutyczny

Katedra Technologii

i Biotechnologii

Środków Leczniczych

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48 12 620 55 80

fax +48 12 620 55 96

mfonono@cyf-kr.edu.pl

www.farmacja.cm-uj.krakow.pl

się być zastosowanie terapii kombinowanych z zastosowaniem leczenia skojarzonego z użyciem leków o różnych mechanizmach działania.

Zgodnie z założeniami wynikającymi z pracy przeglądowej p. mgr Krzysztof Kubica zaprojektował otrzymanie połączeń o spodziewanym działaniu przeciwnowotworowym związanym z podwójną aktywnością - wpływem na aktywność kinaz białkowych – inhibitorów kinaz białkowych oraz antagonistów kwasu foliowego. Inspiracją w otrzymywaniu zaprojektowanych połączeń była analiza struktur znanych leków przeciwnowotworowych o wymienionym powyżej mechanizmie działania. P. mgr Kubica otrzymał serię 20 amidowych 2-(1-piperazylo)-chinolinowych- i 4-metylochinolinowych pochodnych (nie)podstawionego kwasu benzoowego lub (nie)podstawionego kwasu cynamonowego opisanych w pierwszej publikacji eksperymentalnej. W drugiej publikacji, która podobnie jak pierwsza ukazała się w *Acta Polonia Pharmaceutica – Drug Research* w 2018 roku Autor opisał syntezę szesnastu pochodnych 7-amino-4-metylochinolin-2(1H)-onu. Były to amidowe pochodne (nie)podstawionego kwasu benzoowego lub (nie)podstawionego kwasu cynamonowego. Czystość otrzymanych połączeń została zbadana przez pomiar temperatury topnienia krystalicznych produktów oraz analizę metodą chromatografii cienkowarstwowej (TLC), a ich tożsamość została potwierdzona wynikami analizy spektralnej ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$).

Otrzymane połączenia zostały poddane badaniom biologicznym w ramach współpracy z Katedrą i Zakładem Histologii i Embriologii, Wydziału Lekarskiego, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w zespole kierowanym przez p. prof. Jacka Malejczyka. Wykorzystano komórki trzech linii komórkowych nowotworów: mysiego czerniaka B16F10, ludzkiego raka szyjki macicy HeLa i ludzkiej białaczki HL-60 oraz mysich fibroblastów NIH3T3, jako komórek kontrolnych - prawidłowych. Badania wykonywano oceniając żywotność komórek w teście z zastosowaniem fioletu krystalicznego, mierzącym działanie cytotoksyczne/cytostatyczne otrzymanych połączeń wobec komórek docelowych. W zastosowanych testach substancją wzorcową był U0126 –inhibitor kinazy. W tym miejscu ważne byłoby wyjaśnienie, dlaczego związek U0126 został wybrany jako związek referencyjny. Chociaż stwierdzono zależność aktywności badanych połączeń od stosowanego stężenia, wybrano stężenie 50 $\mu\text{mol/l}$ dla wszystkich połączeń i wyniki przedstawiano jako wartość opisującą procent żywotności komórek dla tego stężenia badanych połączeń. Ponadto w teście migracji – „gojenia rany” - określono wpływ badanych

związków na zdolność komórek nowotworowych linii czerniaka do tworzenia przerzutów oraz ich inwazyjność. Wśród badanych połączeń znaleziono takie, które dorównywały aktywności związkowi odniesienia. Cenną właściwością badanych połączeń była ich selektywna aktywność wobec komórek nowotworowych. W tym fragmencie rozprawy doktorskiej poza stwierdzeniem, które połączenia były aktywne brak jest dyskusji na temat zależności struktura-aktywność przeciwnowotworowa. W podsumowaniu brak – moim zdaniem - zestawienia struktur wybranych najbardziej aktywnych połączeń, dyskusji jakie elementy budowy są odpowiedzialne za wybrany typ aktywności, jakie właściwości fizykochemiczne posiadają te połączenia oraz wytypowanie struktur, które mogłyby być strukturami wiodącymi w dalszych poszukiwaniach substancji o ulepszonych właściwościach biologicznych. Warto byłoby także zastanowić się jakie testy w przyszłości mogłyby być zastosowane w celu potwierdzenia założonego mechanizmu działania przeciwnowotworowego.

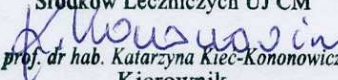
Przedmiotem trzeciej publikacji eksperymentalnej, która ukazała się w *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* w 2013 roku są poszukiwania połączeń o aktywności przeciwdrgawkowej. W odróżnieniu od poprzednich publikacji, gdzie p. mgr Krzysztof Kubica jest pierwszym autorem, ta praca jest efektem aktywności wielu autorów. Zgodnie z Oświadczeniem datowanym 13 listopada 2013 roku, p. mgr Kubica otrzymał trzy połączenia (5a-c) w wyniku wieloskładnikowej reakcji Ugiego. Były to pochodne pirolo[1,2-a]pirazynowe zawierające przy węglu 4 podstawione ugrupowania fenyłowe. W tej grupie połączeń niezwykle ważna była odpowiednia konfiguracja (4S,8aS) otrzymanych cząsteczek. Otrzymane połączenia były badane w ramach współpracy i zgodnie z programem Anticonvulsant Screening Program (ASP) National Institute of Health, USA. Określono ich aktywność w testach indukowania drgawek prądem elektrycznym oraz podaniem pentetrazolu oraz ich neurotoksyczność w teście obracającego się pręta. Jeden z otrzymanych związków pochodna z podstawnikiem 4-chlorofenyłowym wykazała najbardziej interesującą aktywność (działanie ochronne w testach drgawek wywołanych prądem elektrycznym oraz niską neurotoksyczność).

W podsumowaniu recenzji pragnę wyrazić pogląd, iż oceniana rozprawa doktorska jako całość jest wartościowa, rozszerza naszą wiedzę w dziedzinie chemii medycznej, reaktywności i możliwości syntezy nowych połączeń zawierających układy heterocykliczne, wnosi pewne elementy nowości do

poszukiwania substancji wykazujących założoną aktywność biologiczną.

Stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska jest osiągnięciem oryginalnym oraz spełnia wymagania określone w „Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym”. W związku z tym przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie p. mgr Krzysztofa Kubicy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, 18 lipca 2018 r.

Katedra Technologii i Biotechnologii
Środków Leczniczych UJ CM

prof. dr hab. Katarzyna Kiec-Kononowicz
Kierownik