



Warszawa, 28 października 2024 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Przemysława Taciaka zatytułowanej  
„Otrzymywanie pochodnych 8-fenylosulfanylokwapizyny jako selektywnych ligandów receptora 5-HT<sub>6</sub>”**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr. Przemysława Taciaka została wykonana w Katedrze i Zakładzie Farmakoterapii i Opieki Farmaceutycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem dr hab. Anny Leśniak. Rozprawa liczy 134 strony i składa się z dwóch zasadniczych części: wstępu literaturowego oraz podsumowania badań własnych i wniosków. Całość uzupełniają standardowe sekcje opisujące cele i założenia pracy, streszczenia, listy publikacji i wystąpień konferencyjnych Doktoranta, bibliografia cytowana w pracy itd.

W części literaturowej recenzowanej rozprawy Pan Przemysław przybliżył aktualny stan wiedzy na temat zaburzeń funkcji poznawczych, takich jak choroba Alzheimera, demencja, otępienie naczyniowe czy otępienie czołowo-skroniowe. Wskazał ich przyczyny, czynniki ryzyka oraz obecnie stosowane strategie farmakologiczne w ich terapii. W dalszej części, mgr Taciak przedstawił działanie układu serotonergicznego, jego rolę w poznawczych funkcjach ludzkiego mózgu oraz jego udział w procesach neurodegeneracyjnych. Szczególnie dużo uwagi poświęcił omówieniu struktury, klasyfikacji oraz opisowi sposobu działania receptorów serotonergicznym, będących jednym z obszarów poszukiwań nowych substancji terapeutycznych w terapii wspomnianych zaburzeń poznawczych. Ostatnia część wstępu literaturowego poświęcona jest aktualnemu stanowi wiedzy odnośnie antagonistów i agonistów receptorów serotonergicznym w aspekcie ich wykorzystania w ogólnie pojętym leczeniu choroby Alzheimera.

Część literaturową pracy czyta się dobrze, a ilość informacji jest optymalna by nakreślić Czytelnikowi aktualny stan badań oraz wskazać potencjalne kierunki dalszych poszukiwań substancji bioaktywnych w kontekście leczenia chorób neurodegeneracyjnych. Mam jednak kilka uwag technicznych dotyczących tej części. Głównie dotyczą one struktur chemicznych przedstawionych na rysunkach 5-15; większość z nich jest kopiami z innych publikacji/opracowań, wstawionych do tekstu metodą „kopiuj-wklej”, przy czym w wielu przypadkach są one niskiej jakości co mocno rzuca się w oczy. Bardziej stosownym byłoby narysowanie ich samodzielnie, co poprawiłoby estetykę dysertacji i ujednotoczyło sposób prezentacji elementów graficznych w całej rozprawie. Podobna uwaga dotyczy grafik zaprezentowanych na stronach 18 (rys. 2), 19 (rys. 3) oraz 33 (rys. 4). Podobnie jak we wcześniejszym przypadku, także są to kopie rysunków z innych opracowań. Swoją drogą w każdym z tych przypadków oprócz informacji skąd dana grafika została zaczerpnięta, powinna być także informacja o zgodzie wydawcy na reprodukcję. Jest to obecnie szczególnie istotne, gdyż kopie rozpraw trafiają do ogólnodostępnych repozytoriów.

Całość części literaturowej wieńczy rozdział 1.3 zatytułowany „Uzasadnienie wyboru związków do syntezy”. W mojej opinii podrozdział ten powinien być nazwany „Motywacja podjętego kierunku badań”, gdyż opisane w nim są jedynie potencjalne walory selektywnych ligandów receptora 5-HT<sub>6</sub>, bez jakichkolwiek informacji co do planowanych przez doktoranta prac badawczych.

Najwięcej uwag krytycznych nasunęła mi lektura rozdziału 2 rozprawy prezentującej cel pracy. Liczy ona zaledwie 2 zdania, które pozwolę sobie tu zacytować:

*„Celem projektu jest otrzymanie nowych pochodnych 8-fenylosulfanylokwapizyny o potencjalnie wysokim powinowactwie do receptora 5-HT<sub>6</sub>. Związki o podobnej strukturze są wykorzystywane jako substancje czynne w badaniach klinicznych drugiej fazy”.*

W mojej opinii ta część pracy powinna być bardziej rozbudowana. Po pierwsze, brakuje mi w niej informacji odnośnie wcześniejszych badań prowadzonych w grupie badawczej tak aby ukazać szerszą perspektywę prowadzonych prac. Natomiast, jeżeli jest to nowy kierunek badań, warto szerzej wskazać motywację i podstawy ich wyboru. Drugą kwestią stanowi brak szerszego uzasadnienia wyboru wspomnianych pochodnych 8-fenylosulfanylokwapizynowych jako potencjalnych ligandów receptora 5-HT<sub>6</sub>. Przytoczony przed chwilą fragment pracy, jedynie pobudza ciekawość, prowadząc do lawiny nasuwających się pytań:

- Dlaczego podstawienie tylko w pozycji 8?
- Czy muszą to być wyłącznie układy z grupą arylosulfanylową? A dlaczego nie alkilosulfanylowymi?
- Jaki wpływ może mieć przejście z tiolu, na sulfotlenek lub sulfon?
- Czy można zastąpić rdzeń chinolinowy izochinoliną?
- Dlaczego dodatkowy podstawnik X ulokowany będzie w pozycji 6 (co z pozostałymi pozycjami)?
- Czy nasycony pierścień heterocykliczny musi być wyłącznie w pozycji 2?



- Czy może to być inny heterocykl?... i tak dalej.

Jako chemik organik oraz chemik medyczny mógłbym jeszcze zadać sporo innych pytań. Najistotniejszą rzeczą jest to, że skoro Doktorant wspomniał, że „[...] związki o podobnej strukturze są wykorzystywane jako substancje czynne [...]” to należało przedstawić konkretne przykłady wraz z zastosowaniami, opatrzyć odpowiednią bibliografią, a następnie zestawić je ze strukturami, których syntezę planowano w ramach niniejszej rozprawy. W ten sposób Doktorant w jednoznaczny sposób wskazałby element nowości, wymagany przez Ustawę o stopniach naukowych, i umożliwiłby Czytelnikowi rozgraniczenie co stanowi dotychczasową wiedzę, a co jest wkładem własnym Doktoranta. W związku z powyższym prosiłbym Doktoranta o szerszy komentarz, którego zabrakło w tekście. Przy okazji dwie uwagi techniczne dotyczące grafik zaprezentowanych w tym rozdziale. Zarówno na Schemacie 1 jak i Schemacie 2 w strukturach przedstawionych związków brakuje atomu siarki. Po drugie, obie grafiki nie przedstawiają ani reakcji chemicznej ani grafu, tak więc formalnie nie mogą zostać nazwane schematami tylko rysunkami.

W kolejnej części, mgr Taciak opisał metody badawcze, które wykorzystał w swoich pracach. Obejmują one prace z zakresu syntezy chemicznej oraz badań aktywności biologicznej. I tu jedna uwaga ogólna. Skoro są to wyniki badań Doktoranta, dobrze by było opisać je w pierwszej osobie; w końcu właśnie to tu Doktorant opisuje swoje dokonania, swoje prace, swoje eksperymenty, a więc ma możliwość bezpośredniego wskazania i podkreślenia czego dokonał.

Opisane metody syntezy docelowych związków to typowe transformacje organiczne mające na celu konstrukcję szkieletu chinolinowego z odpowiednim zestawem podstawników w pozycjach 2, 8 i ewentualnie 6. Ponownie, zamieszczone schematy reakcyjne zostały skopiowane z innych źródeł, różnią się jakością oraz sposobem zapisu niektórych informacji, co uważam za istotne niedociągnięcie z technicznej strony przygotowania dysertacji. Do tego można tu spotkać terminy z języka angielskiego (np. eq.), które powinny być podane w języku polskim. Ponadto, zasady pisowni języka polskiego wskazują jasno, że w przypadku podawania liczb wraz z jednostką miary, pomiędzy liczbą a symbolem jednostki, np. masy, temperatury, ciśnienia itd., powinna być spacja.

W tym miejscu, mam też pytanie dotyczące struktury pochodnych 2-(piperazyn-1-yl)-chinoliny. Na wszystkich schematach związki te są przedstawione jako bischlorowodorki, natomiast ich nazwy w części eksperymentalnej sugerują, że mamy do czynienia z monochlorowodorkami. Na jakiej podstawie ustalono z jakim typem soli mamy do czynienia? Wszak związki te mają aż trzy grupy zasadowe, które mogą ulec protonowaniu w obecności kwasu solnego.

W kolejnej części badań własnych mgr Taciak przedstawił dane dotyczące wiązania uzyskanych pochodnych do receptorów 5-HT<sub>x</sub>. Nie będąc specjalistą w tym obszarze, nie będę ich szerzej komentował. Jedynie co nasunęło mi się w trakcie czytania tej części to brak odniesień do innych, znanych substancji o udokumentowanej aktywności. W mojej opinii, pozwoliłoby to oszacować czy aktywności zsyntezowanych przez Pana Przemysława układów mają zbliżone, porównywalne, lepsze lub gorsze właściwości od już znanych substancji aktywnych. Jest to szczególnie istotne z perspektywy dalszych badań, gdyż pozwala decydować o ich dalszym kierunku.

Mam szereg uwag dotyczących staranności przygotowania syntetycznej (eksperymentalnej) części rozprawy. Pierwsza uwaga dotyczy schematów reakcyjnych. Wszystkie one ograniczają się jedynie do prezentacji struktury substratu i produktu, bez uwzględnienia dodatkowych reagentów/odczynników stosowanych w procesie (zamieszczonych nad strzałką reakcyjną) oraz warunków, takich jak rozpuszczalnik(i), temperatura itp., które standardowo umieszcza się pod strzałką reakcyjną. Wspomniane schematy są podstawą komunikacji pomiędzy chemikami, stąd brak dodatkowych szczegółów uznaję za znaczące uchybienie utrudniające czytanie pracy. Brak struktur konkretnych związków w części eksperymentalnej także utrudnia czytanie tej części, podobnie jak całkowity brak numeracji struktur.

Na stronach 61-64, przedstawione zostały dane spektralne (<sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR) dla szeregu otrzymanych przez mgr Taciaka pochodnych chinolin-2(1*H*)-onowych. Zgodnie z informacją zawartą na stronie 61, pierwszy związek z tej serii jest „[...] substancją stałą”, niestety nie podano informacji odnośnie jego temperatury topnienia jak również innych analiz (n.p. analizy spaleninowej) w celu określenia jego czystości. To samo dotyczy pozostałych związków w tej serii. W ich przypadku, Autor w ogóle nie podał informacji o ich stanie skupienia. Można się domniemywać, że wiele z nich także powinno być ciałami stałymi. Te same uwagi dotyczą także serii związków, których syntezę mgr Taciak opisał na stronach 65-67 oraz 68-71. Nota bene, w wielu przypadkach w części eksperymentalnej, zaraz pod ogólną procedurą syntetyczną znajduje się zdanie: „Wydajność pozostałych pochodnych wahała się między XX% do XY%”. Takie stwierdzenie można zamieścić w części dyskusyjnej omawiającej wyniki prowadzonych prac, natomiast w części eksperymentalnej, należy zamieścić konkretną wartość wydajności dla każdej substancji z osobna.



Jak sam mgr Taciak stwierdził w rozdziale 6, zsyntezował on „[...] ponad 200 nowych związków chemicznych.” niestety dla części z nich pełna charakterystyka, zgodnie ze sztuką syntezy organicznej nie została przeprowadzona. W szczególności dotyczy to potwierdzenia ich struktury (tu: masy cząsteczkowej) poprzez zarejestrowanie wysokorozdzielczych widm masowych. Takie dane znalazłem jedynie w przypadku serii pochodnych 2-(piperazyn-1-yl)-chinoliny. Niestety przedstawiony opis danych pomiarów MS jest nieprawidłowy. Oto przykład zaczerpnięty z danych dla pierwszej z tej serii substancji przedstawiony na stronie 68:

MS:  $m/z$  (ESI positive)  $[M+H]^+$  obliczono 322.137244, wynik 322.14.

W tej formie zapis jest bezsensowny ponieważ:

- dane MS wysokiej rozdzielczości należy opatrzyć zapisem „HRMS”;
- należy nie tylko wskazać na technikę jonizacji (np.: EI, CI, ESI, FD itp.) ale również rodzaj detekcji (np.: TOF, QTrap itp.) oraz tryb jonów opisać znakami +/-;
- brakuje wzoru sumarycznego dla którego obliczono masę; masę teoretyczną należy podawać z dokładnością do czwartego miejsca po przecinku;
- i w końcu najważniejsze, wynik pomiaru także MUSI być podany z dokładnością do czwartego miejsca po przecinku;
- dla przykładu prawidłowy zapis wyników wygląda następująco: HRMS (ESI-TOF+)  $m/z$  obliczono dla  $C_{19}H_{20}N_3S$   $[(M+H)^+]$  322.1378, znaleziono 322.13xx.

I jeszcze jedna uwaga, związana nie tylko z tą serią pochodnych chinolin-2(1*H*)-onowych, ale z ogólnie przyjętymi zasadami preparatyki chemicznej organicznej; podając wydajność reakcji należy także podać ilość uzyskanego produktu w jednostkach masy, tak by Czytelnik wiedział w jakiej skali prowadzona była synteza.

Dostrzegłem także szereg nieprawidłowości w przypadku danych NMR. O ile, zwyczajowo, przesunięcia chemiczne na widmach  $^1H$  NMR podajemy z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku, to w przypadku widm  $^{13}C$  NMR wystarczająca jest dokładność do jednej liczby znaczącej po przecinku, z uwagi na dużo szerszy zakres spektralny. W rozprawie mgra Taciaka zwykle są one podawane z dokładnością do dwóch i jednocześnie po każdej wartości zamieszczone są enigmatyczne deskryptory (s), (d). W przypadku widm  $^{13}C$  NMR, które standardowo są rejestrowane z odsprężeniem  $C\{H\}$ , nie ma potrzeby podawania ich multipletowości, bo są one singletami (poza przypadkami obecności innych atomów jak na przykład F lub P). W tym też kontekście zastanawiający jest zapis, na przykład 125.79 (d) (patrz strona 84, drugi wiersz od dołu). Czy to oznacza, że sygnał ten jest dubletem? Jeśli tak, to jaka jest stała sprzężenia C-X (i czym jest X)? A może są to dwa blisko położone sygnały? W takim przypadku należałoby podać ich przesunięcie z większą ilością miejsc znaczących lub po prostu zamieścić odpowiedni multiplikator, na przykład ( $\times 2$ ). Proszę o komentarz. Proszę także wyjaśnić pochodzenie dubletów w widmach  $^{13}C$  NMR dla związków zaprezentowanych na stronie 92, oraz na stronie 95 (ostatni związek: dublet i multiplet???)

Dlaczego dla niektórych substancji brakuje widm  $^{13}C$  NMR nie tylko dla całej serii (jak na przykład związków na stronach 88-91, 100-105), ale również dla pojedynczych substancji (np. strona 93 (związek drugi od góry); strona 95 (trzeci od góry), str. 96 (pierwszy od góry)).

W przypadku związków serii 3, stała sprzężenia  $^1J_{H,H}$  dla dubletu przy ok 7.46 ppm różni się od stałej dla dubletu przy ok 6.81 ppm. Dlaczego?

Czytając niniejszą rozprawę natknąłem się także na kilka błędów związanych z nomenklaturą oraz stylem/sposobem zapisu niektórych elementów nazw związków chemicznych. Zgodnie z zasadami nazewnictwa zaproponowanymi przez IUPAC, w tym z nomenklaturą Hantzcha-Widmanna, dla każdego „dodatkowego” atomu wodoru, jego położenie powinno być wskazane odpowiednim lokantem wraz z symbolem *H* zapisanym kursywą, co zapisuje się w postaci przedrostka do nazwy rdzenia, lub razem z lokantem innej grupy w przypadku możliwości tworzenia struktur tautomerycznych. W związku z tym, przykładowo prawidłowy jest zapis „8-jodo-chinolin-2(1*H*)-on” lub „8-jodo-1*H*-chinolin-2-on” (dopuszczalny, lecz mniej preferowany), a nie „8-jodo-1*H*-chinolin-2-on”. Ten sam błąd występuje dla wielu związków przedstawionych w recenzowanej rozprawie.

Często powtarzającym się błędem jest użycie słowa „refluks” w procedurach syntetycznych. Niestety słowo to w języku polskim posiada inne znaczenie niż stosowane w recenzowanej rozprawie, a tym samym nie może być stosowane do opisu prowadzenia reakcji w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika lub ogrzewania mieszaniny reakcyjnej pod chłodnicą zwrotną.

Na stronie 36 pojawił się termin „skrining” w znaczeniu badań przesiewowych. Niestety takie słowo nie istnieje w naszym języku zgodnie z Wielkim Słownikiem Języka Polskiego. Jest to żargonowe, spolszczenie angielskiego słowa „screening” i nie powinno zostać użyte. Ponadto, choć Wielki Słownik Języka Polskiego, dopuszcza słowo „substytuować”



to w chemicznym języku polskim zwykle mówimy od dipodstawionych lub dwupodstawionych pochodnych a nie disubstituowanych.

Podsumowując, mgr Przemysław Taciak w toku swoich prac badawczych przygotował serię pochodnych 2-(piperazyn-1-ylo)-chinoliny, które następnie poddał analizie pod kątem ich aktywności (powinowactwa) do receptorów 5-HT<sub>2</sub> oraz D<sub>2</sub>. Określił zależność pomiędzy strukturą i aktywnością, wskazując na szczególną aktywność układów posiadających 2-podstawiony pierścień fenylosulfanylowy. Kolejne badania wykazały, znikomy, lub też negatywny wpływ podstawienia w pozycji 6 pierścienia chinoliny na aktywność badanych 2-podstawionych pochodnych 2-(piperazyn-1-ylo)-chinoliny. Mając na uwadze postępujący udział chorób neurodegeneracyjnych w całej puli chorób cywilizacyjnych uważam wybór opisanej przez mgr. Taciaka tematyki badań za trafny dla rozwoju dziedziny. Pomimo, że uzyskane wyniki aktywności względem receptorów 5-HT<sub>2</sub>, były przeciętne, stanowią one istotny wkład dla poszukiwań aktywnych substancji w terapii wspomnianych chorób.

W moim przekonaniu, przedłożona rozprawa doktorska mgr. Przemysława Taciaka, pomimo pewnych niedociągnięć technicznych związanych z przygotowaniem rozprawy, spełnia wszystkie warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz.U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.) i w związku z powyższym rekomenduję Radzie Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego dopuszczenie mgr. Przemysława Taciaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. Sebastian Stecko  
profesor nadzw. IChO PAN