

**Prof. dr hab. Henryk Koroniak**  
**Wydział Chemii UAM**  
**Poznań**

## **R E C E N Z J A**

**pracy doktorskiej mgr Tomasza Cierpiałą zatytułowanej**  
**”Fluorowe i selenowe analogi sulforafanu – synteza i badania aktywności**  
**przeciwnowotworowej”**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pana mgr Tomasza Cierpiałą powstała w Zakładzie Chemii Heteroorganicznej Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi. Promotorem pracy jest prof. dr hab. inż. Piotr Kiełbasiński, a promotorem pomocniczym dr inż. Piotr Łyżwa. Jest truizmem stwierdzenie, że praca wbudowana jest w tematykę badawczą promotora, jego grupy, a ogólnie można powiedzieć w profil Zakładu Chemii Heteroorganicznej. Mimo dość lakonicznego (a jednocześnie precyzyjnego) tytułu praca dotyczy badań, a właściwie poszukiwań związków strukturalnie podobnych do tytułowego SULFORAFANU, które – przynajmniej w założeniu – powinny wykazywać aktywność biologiczną podobną, a najlepiej znacznie lepszą, do standardu.

Tak postawiony temat badawczy może budzić wątpliwości: czy jest to zadanie badawcze czy tylko odtwórcze wykonanie wielu syntez i analiz metodami już znanymi, gdzie jedynie operowanie podstawnikami, warunkami prowadzi do nowych układów. Muszę jednak mocno zaakcentować, że w tym przypadku nie ma to zastosowania. Jak się okazuje zastosowanie metod klasycznych i opisanych, nawet w przypadku reakcji dobrze znanych, w przypadku pochodnych fluorowych, jak i selenowych nie zawsze może być wykorzystane, bo po prostu nie prowadzi do oczekiwanych wyników. Koniecznością jest więc modyfikacja metodyk, zastosowanie nowego podejścia, co *de facto* w konsekwencji prowadzi do wartości dodanej jaką są nowe publikacje i patenty. Ma to miejsce w przypadku mgr Tomasza Cierpiałą. Opisane badania to ambitny projekt badawczy, a przedstawione

w rozprawie dokonania Doktoranta pozwalają już w tym miejscu stwierdzić, że spełnia On wszelkie kryteria stawiane pracom doktorskim.

Lektura pracy doktorskiej Pana Tomasza Cierpiała jest interesująca i ciekawa. Praca jest napisana bardzo przejrzysto, prosto, a jednocześnie precyzyjnie. Zanim omówię najważniejsze moim zdaniem dokonania pracy, dla formalności kilka danych dotyczących całości. Praca jest dość obszerna (ponad 180 stron). Zbudowana w sposób „prawie” klasyczny, co oznacza że ma wyodrębnione trzy duże rozdziały: *Część ogólną*, *Badania własne* i *Część eksperymentalną* (każdy z nich po około 50 stron). To co warto podkreślić, a jednocześnie jest elementem, który pozwala mi na stwierdzenie, że jest to model „prawie” klasyczny to fakt, że pracę rozpoczyna bardzo precyzyjnie napisany *Cel pracy*. Czytający ma więc przed sobą jasno nakreślony plan i wie czego dalej oczekiwać.

Już po lekturze tych kilku stron wiadomo, że poszukiwania Doktoranta dotyczą syntezy analogów sulforafanu, gdzie modyfikacje to (i) zastąpienie grupy *S*-alkilowej (metylowej) podstawnikami fluorowanymi ( $\text{CF}_3$  jak i fluorowanymi arylami), (ii) zastąpienie atomu siarki atomami selenu zarówno w grupie sulfinyłowej jak i izotiocyjanianowej, oraz (iii) zmianie długości łańcucha (a także jego usztywnienie) pomiędzy grupami terminalnymi *S*-podstawionymi i izotiocyjanianowymi.

Po omówieniu *Badań własnych* następuje *Podsumowanie*, a całość rozprawy kończy *Literatura* i *Uwagi*. Warto dodać, że cytowania literaturowe znajdują się na bieżąco w tekście, co znakomicie ułatwia lekturę pracy.

*Część ogólna* jest napisana precyzyjnie, nawet miejscami zbyt lakonicznie, ale dotyczy w sporej części opisu znanych już na rynku leków, ich działania, ich skutków ubocznych. Ciekawsze fragmenty to opis znanych w literaturze procedur syntetycznych prowadzących do syntezy grupy izotiocyjanianowej czy też „budowania” grupy *S*-alkilo-sulfinyłowej. Dalej, omówiono generalne obserwacje związane z wprowadzeniem do cząsteczki atomów fluoru, zmiany reaktywności, implikacje strukturalne. Dla zilustrowania tego problemu cenne jest przedstawienie kilku leków zawierających w swoim składzie fluor obecnych na rynku.

*Badania własne* to rozdział najciekawszy, w którym Doktorant zawarł swoje dokonania dotyczące syntezy analogów sulforafanu. Całość podzielona jest na kilka podrozdziałów związanych z modyfikacją grupy sulfinyłowej podstawionej podstawnikami fluorowanymi, dobudowywaniem grupy izotiocyjanianowej (także izoselenocyjanianowej) jak i modyfikacje długości łańcucha pomiędzy tymi funkcjami.

Pierwszy z tych podrozdziałów to opis otrzymywania  $S(R_F)$ -alkilowych pochodnych sulforafanu. W niektórych przypadkach syntezy, ze względu na obecność podstawnika fluorowanego reakcja niestety nie przebiegała. Przykładem chociażby reakcja alkirowania atomu siarki przez  $CF_3I$  (przebiega) a  $CF_3CH_2I$  (nie przebiega...) Doktorant uporał się jednak z problemami, które się pojawiały i otrzymał wszystkie te połączenia, których syntezę sobie założył. Kolejny element przekonywujący mnie o umiejętnościach Doktoranta, to wykorzystanie metod chiralooptycznych do określenia konfiguracji absolutnej niektórych otrzymanych pochodnych. Uważam, że logika rozumowania jak i przedstawiony dowód bazujący na skręcalności optycznej potwierdzają prawdziwą konfigurację związków.

Kolejne dwa zagadnienia i problemy syntetyczne, które musiał rozwiązać Doktorant, to wprowadzenie selenu do grupy izoselenocyjanianowej jak i selenidowej, a następnie jej utlenianie.

Oczywiście, prawdziwą wartość wyniki syntetyczne uzyskały po wykonaniu badań na aktywność biologiczną, które zostały przeprowadzone w Zakładzie Biologii Komórki Narodowego Instytutu Leków w Warszawie. Praca doktorska w ten sposób stała się kompletna, a uzyskane wyniki aktywności biologicznej dopełniają całość. Nie czuję się ekspertem w zakresie badań aktywności biologicznej, ale dane zamieszczone w tabelach, jak i wnioski zawarte w pracy utwierdzają mnie w przekonaniu, że „nowe” związki są bardziej aktywne od standardu czyli sulforafanu.

*Część eksperymentalna* (po polsku lepiej byłoby doświadczalna) to swoisty raport z przeprowadzonych syntez i preparatyk. Jak cała dysertacja: jest precyzyjna, napisana poprawnie.

Obowiązkiem recenzenta jest dostrzeżenie niedociągnięć, błędów itp. Jest to dla mnie o tyle trudne, że czytając pracę staram się zawsze zrozumieć bardziej treść i jej zawartość, a strona formalna pozostaje na uboczu. Może jedynie dla wykazania, że recenzent przestudiował starannie pracę przytoczę drobiazg (str. 44). Doktorant pisze: „Ze względu na wysoką reaktywność, elementarnego fluoru nie można otrzymać w reakcjach chemicznych” Tu następuje odnośnik do pracy Karla Christe z 1986 roku, w którym właśnie on pokazał, że można...Ale nie zrobił tego nikt przed nim, ani (chyba?) później.

Nie będę więc szukał uchybień, zwłaszcza że praca jest przygotowana bardzo starannie, ale pozwolę sobie na kilka uwag natury ogólnej, wymagających ewentualnej dyskusji.

1. W pracy nie ma odniesień do wyjątkowo modnych ostatnio i często cytowanych badań modelowania molekularnego, dokowania i tym podobnych zabiegów *in silicio*. Niewątpliwie wyniki takie dodałyby więcej „kolorytu” pracy, ale czy wzmocniłyby jej zawartość merytoryczną? Myślę, że nie, chociażby dlatego, że ostatecznym testem jest doświadczenie, a w znacznie mniejszym stopniu prognozowanie numeryczne.
2. Komentarza wymaga obecność atomów fluoru w cząsteczce i tego konsekwencje. Jako przykład wiadomo, że obecność grupy  $\text{CF}_3$  w cząsteczce podnosi jej lipofilowość. Dalej: to nie tylko statystyka, że fluorowane związki są aktywniejsze biologicznie od niefluorowanych i około 30% leków to leki fluorowane. Generalizowanie nie jest chyba uprawnione, chociażby dlatego, że czasami są po prostu bardziej toksyczne, a to także aktywność biologiczna.
3. Sądzę że warto pokusić się o komentarz dotyczący wyższej aktywności cytotoksycznej spowodowanej obecnością grupy  $\text{CF}_3$  zastępującej  $\text{CH}_3$  (patrz pochodne TC-8b, TC-8c). Czy może to efekt oddziaływań lipofilowych? Dalej: polifluorowane pierścienie arylowe (np. TC-8l, TC-8m) wykazują całkowicie odwróconą gęstość elektronową, co może prowadzić do bardzo efektywnego *stackingu* z obecnymi np. w aminokwasach fragmentami aryłowymi. Oczywiście tutaj możemy jedynie spekulować; modelowanie metodami numerycznymi mogłyby tę tezę zweryfikować.
4. Problem który, nurtował mnie w czasie lektury dysertacji, to kwestia czystości optycznej uzyskanych analogów i nasuwające się pytanie o aktywność każdego z enancjomerów, jak ma to miejsce w przypadku (-)-(R)-sulforafanu?

Jak wspomniałem wcześniej, to są jedynie tezy do ewentualnej dyskusji i nie obniżają w żadnym stopniu wartości pracy.

W rozprawie doktorskiej przedstawiony został również dorobek publikacyjny Doktoranta. Pan mgr Tomasz Cierpiał jest jak dotychczas współautorem pięciu publikacji w bardzo dobrych periodykach naukowych, co dowodzi, że jego dokonania zostały już ocenione przez recenzentów wydawniczych, a to tym samym dowodzi wartości uzyskanych wyników. Wśród tych prac jedynie trzy są bezpośrednio związane z tematyką przedstawionej rozprawy doktorskiej; dwie pozostałe dowodzą, że Doktorant potrafi aktywnie współdziałać w zespole badawczym. Aktywność naukowa dokumentowana prezentacjami zarówno ustnymi jak i posterowymi na konferencjach naukowych jest godna podkreślenia.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana mgr. Tomasza Cierpiała spełnia wymogi ustawy z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. U. Nr 65, poz.595 z 16 kwietnia 2003) „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” i wnioskuję do Rady Naukowej Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Podkreślałem wcześniej, że praca jest kompletna. Cel został osiągnięty, a wykonane prace badawcze moim zdaniem z nadmiarem przekraczają wymagania stawiane pracom doktorskim, a dodatkowo mogą być wykorzystane aplikacyjnie. Doktorant wykazał znaczne umiejętności i doświadczenie w syntezie organicznej, potrafił z powodzeniem rozwiązać problemy, które pojawiły się w trakcie wykonywanych badań. Raport z tych badań jakim jest przedłożona rozprawa i zawarte tak wyniki, upoważniają mnie do wnioskowania o wyróżnienie pracy.



Poznań 2 listopada 2016 roku