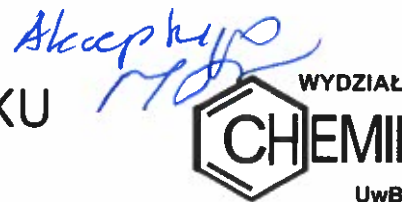




UNIWERSYTET W BIAŁYMSTOKU

Wydział Chemii



15-245 Białystok, ul. Ciołkowskiego 1K, ☎/ fax (+48-85) 738-8052; e-mail: chemia@uwb.edu.pl

Prof.dr hab. Ewa Gorodkiewicz,
Pracownia Bioanalizy, Wydział Chemii,
Uniwersytet w Białymstoku

Białystok, 24.04.2025

Recenzja

rozprawy doktorskiej lekarza Piotra Strusa pt:” Pochodne podofilotoksyny i benzotiazolu jako leki przeciwnowotworowe – optymalizacja struktury i badanie mechanizmu działania”.

Recenzowana rozprawa została wykonana w Katedrze i Zakładzie Histologii i Embriologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Promotorem rozprawy jest pani dr hab. n.med. Izabela Młynarczyk-Biały.

Wybór tematu rozprawy oceniam jako niezwykle trafny. Walka z nowotworami jest wyzwaniem cywilizacyjnym. Poszukiwane są ciągle nowe leki przeciwnowotworowe łączące wysoką skuteczność z niską toksycznością dla pacjenta. Promotor rozprawy jest badaczem o dużym dorobku w zakresie badań leków przeciwnowotworowych.

Na rozprawę składają się 4 współautorskie publikacje w których Doktorant jest pierwszym autorem. Są to:

1. Rozdział w książce „Advances in Biomedical Research” wydanej przez Wydawnictwo Naukowe TYGIEL w roku 2018. Rozdział jest zatytułowany „Novel podophyllotoxin derivatives as Anticancer Agents Design, Synthesis and Biological Screening”.

2. Publikacja w czasopiśmie *Toxicology in Vitro* (Elsevier IF 3,7): “Novel podophyllotoxin and benzothiazole derivative induces transitional morphological and functional changes in HaCaT cells”.
3. Publikacja w czasopiśmie “*International Journal of Molecular Sciences* (MDPI IF 4,9): “ Cellular Distribution and Ultrastructural Changes in HaCaT Cells, Induced by Podophyllotoxin and Its Novel Fluorescent Derivative, Supported by the Molecular Docking Studies”.
4. Publikacja przeglądowa w czasopiśmie “*International Journal of Molecular Sciences* (MDPI IF 4,9): “The Effect of Podophyllotoxin Derivatives on Noncancerous Diseases: A Systematic review.”

Publikacje 1, 2 i 3 są obszernymi pracami eksperymentalnym, podczas gdy ostatnia – obszerną i pogłębioną pracą przeglądową. Publikacje są zamieszczone w dysertacji w anglojęzycznej wersji oryginalnej i są uzupełnione kilkustronicowym wstępem oraz kilkustronicowym podsumowaniem i wnioskami w języku polskim, popartymi ponad 40 cytowaniami. Oświadczenia współautorów nie pozostawiają wątpliwości pod względem wiodącej roli Doktoranta w publikacjach stanowiących dysertację doktorską. Łącznie te cztery publikacje zgromadziły około 13,5 punktów IF oraz 380 punktów MNiSZW.

Nicią przewodnią dysertacji jest synteza nowych pochodnych podofilotoksyny i obszerne badania tych związków. Podofilotoksyna jest naturalnym związkiem o silnym działaniu antynowotworowym jednak o zbyt silnej toksyczności, wykluczającej jej stosowanie jako leku przeciwnowotworowego. Dwie pochodne podofilotoksyny: etopozyd i tenipozyd okazały się mniej toksyczne i znalazły zastosowanie jako leki przeciwnowotworowe. Nie są one jednak wolne od efektów ubocznych. Dysertacja opisuje otrzymanie trzech nowych pochodnych podofilotoksyny, z których jedna: 3-(4-((3,4,5-trimetoksyfenylo)amino) benzotiazol-2-ylo)-4-(3,4,5-trimetoksyfenylo) furan-2(5H)-on, (KL3), kuniugat benzotiazolu okazała się najbardziej perspektywiczna.

Otrzymane związki poddano badaniom *in vitro* ich toksyczności względem różnych linii komórek nowotworowych oraz nienowotworowych. Objęły one unieśmiertelnioną linię komórkową HeLa wywodząca się z raka szyjki macicy, dwie unieśmiertelnione linie komórkowe MDA-MB oraz MCF 7 wywodzące się z raka piersi, dwie linie PC3 oraz DU145 wywodzące się z raka prostaty oraz linię CEPAC wywodzącą się z raka trzustki; ponadto dwie linie komórek nienowotworowych: linię komórkową mysich fibroblastów NIH-3T3 oraz linię ludzkich keranocytów HaCaT. Poza nowymi związkami, do badań dodano podofilotoksynę, w celu porównania aktywności przeciwnowotworowej oraz toksyczności. Wszystkie nowootrzymane związki są mniej toksyczne względem komórek mysich fibroblastów NIH-3T3 niż podofilotoksyna. Pod względem aktywności przeciwnowotworowej tylko związek KL3 przewyższa aktywność podofilotoksyny w prawie wszystkich nowotworowych liniach komórkowych.

Dalsze badania opisane w recenzowanej dysertacji koncentrują się na związku KL3 i porównaniu jego działania na nienowotworowe komórki z działaniem podofilotoksyny. Obok linii komórkowej mysich fibroblastów NIH-3T3 badaniami objęto jednojądrzaste ludzkie komórki krwi obwodowej PBMC. Żywotność komórek NIH-3T3 poddanych działaniu podofilotoksyny dramatycznie zmniejsza się podczas gdy komórki poddane działaniu KL3 zachowują żywotność w znacznym stopniu. Podobne różnice lecz w mniejszej skali zaobserwowano w przypadku komórek PBMC.

Inną linią tematyczną recenzowanej dysertacji są obszerne badania porównawcze mechanizmu działania podofilotoksyny i jej pochodnej KL3 na komórki keranocytów ludzkich HaCaT, które wybrano jako model. Badania objęły formowanie kolonii, syntezę ATP, wyznaczenie aktywności kaspazy 9, liczbę komórek apoptycznych i nekrotycznych. Ustalono, że podofilotoksyna redukuje stężenie ATP, aktywuje kaspazę 9 oraz indukuje nekrozę komórek, podczas gdy KL3 nie indukuje nekrozy komórek a pozostałe efekty występują w mniejszym natężeniu niż w przypadku podofilotoksyny.

Pogłębiając badania wpływu podofilotoksyny na komórki ludzkich keranocytów HaCaT, zsyntezowano fluorescencyjną pochodną podofilotoksyny, która okazała się stabilnym związkiem pozwalającym na śledzenie zmian zachodzących w badanych komórkach w warunkach *in vivo*. Jako uzupełnienie badań mikroskopowych przeprowadzona została badanie dokowania molekularnego.

Cykl publikacji stanowiących recenzowaną dysertację zamyka systematyczny przegląd literatury dotyczącej podofilotoksyny i jej pochodnych obejmujący prace oryginalne z ostatnich dziesięciu lat. W wyniku przeszukiwania baz PubMed/MEDLINE, Embase i Web of Science z zastosowaniem słów kluczowych wyselekcjonowano 82 publikacje spełniające kryteria przeszukiwania. Stosowane związki sklasyfikowano według stopnia zaawansowania badań związanych z wprowadzaniem leku (badania kliniczne z udziałem ludzi, badania prekliniczne z udziałem zwierząt, badania prekliniczne na liniach komórkowych) a także według zastosowań przeciwnowotworowych i nienowotworowych). Z grupy potencjalnych zastosowań nienowotworowych wymieniono leki przeciwwirusowe, przeciwbólowe, przeciwzapalne oraz leki ochronne przed radioterapią. Ponadto omówiono prace badawcze dotyczące toksyczności podofilotoksyny i jej pochodnych względem komórek nienowotworowych, wpływu tych związków na organelle komórkowe oraz na rozwój embrionalny. Powstał tym samym cenny przegląd rozszerzający możliwości terapeutycznego wykorzystania podofilotoksyny i jej pochodnych.

Z obowiązku recenzenta muszę wskazać, że dysertacja zawiera pewną liczbę niedociągnięć redakcyjnych, które znalazły się w publikowanych pracach a których nie skorygowali ich recenzenci. Na przykład w publikacji „Novel podophyllotoxin and benzothiazole derivative induces transitional morphological and functional changes in HaCaT cells” w legendzie rysunku 3 wyraźnie pomyłono osie układu x-y. Nie ma to jednak wpływu na moją pozytywną ocenę recenzowanej dysertacji. W mojej ocenie, spektakularnym osiągnięciem recenzowanej rozprawy doktorskiej jest synteza i badania na liniach komórkowych związku 3-(4-((3,4,5-trimetoksyfenylo)amino) benzotiazol-2-ylo)-4-(3,4,5-trimetoksyfenylo) furan-2(5H)-

on (KL3). Może to poszerzyć gamę dostępnych leków przeciwnowotworowych. Po analizie dysertacji nasuwają mi się pewne pytania m.in. który z nowotworów powinien być poddany szerszym badaniom z zastosowaniem KL3 w pierwszej kolejności? Jestem także ciekawa opinii doktoranta, w jakim kierunku podstawniki w pierścieniu tioazolowym mogły by zmienić właściwości tego związku? Oraz które z podstawników w związkach wykorzystywanych jako leki przeciwnowotworowe wykazują najwyższą toksyczność?

W konkluzji stwierdzam, że rozprawa doktorska lekarza Piotra Strusa „Pochodne podofilotoksyny i benzotiazolu jako leki przeciwnowotworowe – optymalizacja struktury i badanie mechanizmu działania” spełnia wszystkie warunki i wymogi określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2024 r. poz. 1571).

Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie lekarza Piotra Strusa do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Gowolkiewicz Ewa