

Prof. dr hab. Jacek Stawinski

Poznan, 3 lutego 2025

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr. farm. Pawła Bakuna

Synteza i charakterystyka fizykochemiczna modyfikowanych polifenoli o potencjalnym zastosowaniu w medycynie i farmacji

wykonanej w Katedrze i Zakładzie Technologii Chemicznej Środków Leczniczych
pod kierunkiem Prof. dr. hab. Tomasza Goślińskiego i Dr. hab. Tomasza Koczorowskiego.

Polifenole, to liczna grupa związków chemicznych pochodzenia roślinnego, które zyskały dużą popularność ze względu na szeroki wachlarz ich korzyści zdrowotnych. Oprócz roli silnych przeciwutleniaczy — chroniących komórki przed stresem oksydacyjnym — polifenole są badane pod kątem ich potencjału w zapobieganiu i leczeniu szeregu chorób, w tym chorób układu krążenia, nowotworów, cukrzycy i zaburzeń neurodegeneracyjnych.

W miarę jak nasza wiedza na temat mechanizmów działania polifenoli poszerza się naukowcy badają, jak związki te można wykorzystać w warunkach klinicznych, jako samodzielne terapeutyki lub uzupełnienie innych leków.

To, co sprawia, że polifenole są szczególnie interesujące jako potencjalne terapeutyki, to ich niska toksyczność i fakt, że można je spożywać naturalnie w diecie, dzięki czemu są dostępne dla szerokiej populacji. Pomimo silnych właściwości przeciwutleniających, przeciwzapalnych i przeciwnowotworowych, polifenole mają istotne ograniczenia, które wpływają na ich skuteczność jako środków terapeutycznych.



Jednym z głównych wyzwań jest ich słaba biodostępność. Chociaż polifenole są powszechnie spożywane z pożywieniem, często nie są skutecznie wchłaniane w przewodzie pokarmowym, co oznacza, że tylko niewielkie ilości docierają do krwiobiegu i tkanek docelowych. Ogranicza to ich skuteczność terapeutyczną i utrudnia ich stosowanie w leczeniu.

Metabolizm i stabilność również stanowią problem. Wiele polifenoli ulega szybkiemu metabolizmowi w wątrobie, przekształcając się w mniej aktywne metabolity, zanim będą mogły wywierać swoje działanie terapeutyczne. Ponadto niektóre polifenole są wrażliwe na czynniki środowiskowe, takie jak światło, ciepło, tlen, podatność na hydrolizę, *etc.* które mogą obniżyć ich skuteczność. Złożoność interakcji polifenoli z lekami również budzi obawy.

Podsumowując, podczas gdy potencjał terapeutyczny polifenoli jest bardzo duży, wspomniane powyżej wyzwania podkreślają potrzebę dalszych badań w celu optymalizacji ich stabilności, biodostępności i ogólnej efektywności, zapewniając, że można je będzie bezpiecznie i skutecznie zintegrować ze strategiami opieki zdrowotnej. Właśnie tym ważnym zagadnieniom poświęcone były badania mgr. Pawła Bakuna.

Rozprawa doktorska Pana magistra Pawła Bakuna ma postać cyklu 4 publikacji, opatrzonej komentarzem Doktoranta i skrótowym omówieniem wyników poszczególnych prac. Taka forma rozprawy doktorskiej spełnia wymagania ustawowe w tym zakresie. Artykuły składające się na cykl prac wchodzących w skład rozprawy ukazały się w międzynarodowych czasopismach naukowych: *Materials* (Publikacja 1), *European Journal of Medicinal Chemistry* (Publikacja 2), *Medicinal Chemistry Research* (Publikacja 3), i w *Molecules* (Publikacja 4). Trzy z nich mają charakter prac oryginalnych, a jedna (opublikowana w *European Journal of Medicinal Chemistry*) jest pracą przeglądową, w której zawarto również autorskie komentarze. Wszystkie publikacje pochodzą z ostatnich kilku lat, są wieloautorskie, ale z mgr. Pawłem Bakunem jako pierwszym autorem i, co należy podkreślić jako wyjątkowe, również z Doktorantem jako autorem do korespondencji, wraz z promotorem, Prof. Tomaszem Goślińskim. Załączone oświadczenia Doktoranta, Promotorów i wszystkich współautorów jednoznacznie wskazują nie tylko na wiodącą rolę mgr. Pawła Bakuna we wszystkich wymienionych pracach, ale również jako inicjatora podjętych badań.

Komentarz Doktoranta do cyklu publikacji jest zwięzły ale bardzo jasny i składa się, m. in. (i) z wykazu publikacji wchodzących w skład pracy doktorskiej, (ii) opisu aktywności

naukowej Doktoranta, (iii) ogólnego opisu badań wraz z omówieniem osiągnięć badawczych w poszczególnych publikacjach, (iv) piśmiennictwa, (v) streszczenia w języku polskim i angielskim, oraz (vi) kopii artykułów wchodzących w skład cyklu.

Celem pracy doktorskiej mgr. Pawła Bakuna było (i) otrzymanie nowych pochodnych substancji naturalnych z grupy polifenoli – kurkuminoidów i flawonoidów, o zoptymalizowanych parametrach fizykochemicznych oraz cytotoxycności ukierunkowanej na komórki nowotworowe i bakteryjne oraz (ii) próby połączenia wybranych polifenoli z nanocząstkami o określonej budowie i aktywności biologicznej. Cele te udało się Doktorantowi w pełni osiągnąć. W efekcie prowadzonych badań uzyskano nowe pochodne polifenoli o wzmocnionym działaniu biologicznym i zoptymalizowanych parametrach fizykochemicznych, a wyniki opisano we wspomnianych już publikacjach wchodzących w skład niniejszej rozprawy doktorskiej.

Skrótowa tematyka poszczególnych publikacji:

1. W Publikacji 1 opisano osadzenie polifenolu – kwasu galusowego na powierzchni nanocząstek tlenku tytanu(IV) ($\text{TiO}_2\text{-GA}$). Uzyskany materiał został dokładnie scharakteryzowany, a następnie zbadany pod kątem toksyczności i aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Wykazywał on bimodalny efekt polegający na tym, że w obecności niebieskiego światła prezentował właściwości przeciwbakteryjne, podczas gdy w ciemności posiadał właściwości przeciwutleniające. Taka obserwacja skłania do wniosku, że $\text{TiO}_2\text{-GA}$ może być rozważany jako dodatek do opatrunków i zawiesin do płukania w leczeniu trudno gojących się ran.
2. Publikacja 2 jest artykułem przeglądowym przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat modyfikacji chemicznych i ich wpływu na aktywność biologiczną popularnego modelowego polifenolu – galusanu epigallokatechiny (EGCG), obficie występującego w liściach zielonej herbaty. Ta praca, moim zdaniem, stanowi wartość dodaną cyklu publikacji, będąc również ciekawym wprowadzeniem do chemii i biochemii związków, którymi zajmował się Doktorant.
3. Publikacja 3 opisuje badania, które doprowadziły do otrzymania biblioteki blisko 30 związków chemicznych inspirowanych strukturą chemiczną kurkuminy. Związki te zostały szczegółowo scharakteryzowane fizykochemicznie oraz przebadane pod kątem ich aktywności przeciwnowotworowej. Najaktywniejsze pochodne (Z4 i Z6) charakteryzowały się dobrymi parametrami IC_{50} w teście MTT na liniach nowotworowych ludzkiego nowotworu pęcherza moczowego, wysoką selektywnością i nie wykazały ostrej toksyczności w teście Microtox®.
4. W Publikacji 4 zawarto wyniki obejmujące syntezę i charakterystykę fizykochemiczną nowej, czwartorzędowej amoniowej pochodnej kurkuminy, zaprojektowanej do zastosowań w terapii fotodynamicznej skierowanej przeciwko drobnoustrojom (APDT). Na drodze syntezy chemicznej otrzymano i scharakteryzowano czwartorzędową amoniową pochodną kurkuminy (związek Z9), która wykazywała

korzystne cechy fotostabilności i właściwości generowania tlenu singletowego, co kwalifikowało ją do dalszych badań biologicznych. Co godne uwagi, pochodna ta nie wykazywała toksyczności wobec normalnych i rakowych linii komórek ludzkich przy równoczesnej silnej fotocytotoksyczności wobec *S. aureus*, *S. pyogenes* i *P. aeruginosa*.

Badania i analizy opisane ww. artykułach stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej mgr. Pawła Bakuna są bardzo ciekawe i poznawczo ważne. Nie mam żadnych wątpliwości, że stanowią one bardzo dobry przykład rozwiązywania problemów naukowych i wskazują na umiejętność samodzielnego prowadzenia prac badawczych przez Doktoranta. Publikacje te wraz z komentarzem są dowodem, że Doktorant posiada odpowiednią wiedzę teoretyczną i praktyczną w zakresie prowadzonych badań. Stwierdzam zatem spełnienie przez mgr. Paweł Bakuna warunków merytorycznych wymaganych od kandydatów to stopnia doktora.

Podczas lektury publikacji i Komentarza nasunęły mi się jednak pewne kwestie, co do których chciałbym poznać opinię doktoranta, a mianowicie:

1. W badaniach nad polifenolami, a szczególnie kurkumina, często podnoszony jest problem: AIC (ang. assay interference compound), PAINS (ang. pan-assay interference compound) i IMP (ang. invalid/improbable metabolic panacea). Proszę o wyjaśnienie tych kwestii.
2. Odnośnie terapii fotodynamicznej. Dlaczego tlen singletowy (w stanie singletowym) jest bardziej reaktywny niż tlen trypletowy (w stanie trypletowym), który jest dwurodnikiem?
3. Wiadomo, że polifenole tworzą kompleksy z jonami metali. Jaki wpływ może to mieć na ich właściwości antyoksydacyjne?
4. Na Rys. 2 kurkumina przedstawiona jest w formie enolowej, natomiast na Rys. 4, pochodna kurkuminy Z5 i Z7, w formie ketonowej. Proszę wyjaśnić, która z tych form dla kurkuminy jest trwalsza i w jaki sposób równowaga keto-enolowa zależy od warunków reakcji.
5. Jakie są przyczyny chemicznej niestabilności kurkuminy i główne ścieżki jej degradacji? Dlaczego nowe pochodne kurkuminy opisywane w niniejszej pracy są bardziej stabilne niż kurkumina? Dlaczego wykazują większą biodostępność? Czy w organizmach zwierzęcych istnieją jakieś receptory/cele molekularne kurkuminy?
6. Publikacja 3, Fig. 1, etap ii. Proszę o wyjaśnienie roli boranu tributylu i *n*-butyloaminy w mechanizmie tego etapu.
7. Publikacja 4, str. 3, zdanie: „*Firstly, we wanted to avoid unexpected side reactions, mainly substitution reactions.*” Proszę o wyjaśnienie i rozwinięcie tego stwierdzenia.
8. Publikacja 4, str. 3, zdanie: “... *BF₂ protection improves the chemical stability of the curcumin scaffold and thus often increases biological activity.*” Czy można oczekiwać podobnego efektu w przypadku pochodnych zawierających grupę BCl₂, BBr₂ albo BI₂? Czy takie pochodne są znane?

Przechodząc do podsumowania mojej oceny pracy doktorskiej stwierdzam, że temat podjęty przez Doktoranta jest zagadnieniem o ważnym znaczeniu z punktu widzenia poznawczego i aplikacyjnego, a zaproponowane modyfikacje w strukturze polifenoli znacząco zwiększają potencjał aplikacyjny tej klasy związków w zastosowaniach terapeutycznych. Sposób prezentacji materiału, interpretacja wyników eksperymentalnych, dobór metod badawczych w zależności od rozwiązywanego problemu, wskazują na dużą wiedzę Doktoranta w dziedzinie syntetycznej chemii organicznej, a w szczególności chemii polifenoli. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia więc warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.), Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.) i dlatego wnioskuję do Rady Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie mgr. Pawła Bakuna do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Z uwagi na wysoką merytoryczną wartość przedłożonej do recenzji pracy doktorskiej zwracam się także do Wysokiej Rady z wnioskiem o wyróżnienie przedmiotowej pracy.



Jacek Stawinski/

Prof. dr hab. Jacek Stawinski
jstau@ibch.poznan.pl
<http://organ.su.se/jis>

3 lutego 2025

Prof. dr hab. Błażej Rubiś
Przewodniczący
Rady Kolegium Nauk Farmaceutycznych
Biuro Rad Kolegiów Nauk
Kolegium Nauk Farmaceutycznych
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
ul. Fredry 10
61-701 Poznań
Poland

re: wniosek o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr. Pawła Bakuna.

Szanowny Panie Profesorze:

Jako recenzent pracy doktorskiej mgr. Pawła Bakuna pt. „*Synteza i charakterystyka fizykochemiczna modyfikowanych polifenoli o potencjalnym zastosowaniu w medycynie i farmacji*” miałem okazję ocenić rozprawę pod kątem jej oryginalności, naukowej rzetelności i wkładu w obszarze opracowywania nowych terapeutyków na bazie polifenoli. Po dokładnym zapoznaniu się z publikacjami wchodzącymi w skład pracy doktorskiej i Komentarzem Doktoranta, z przyjemnością rekomenduję przyznanie rozprawie wyróżnienia.

Rozprawa doktorska bazuje na 4 pracach opublikowanych w prestiżowych międzynarodowych czasopiśmie naukowych, których Doktorant był pomysłodawcą, pierwszym autorem i, co nie jest częstą sytuacją, autorem do korespondencji, wraz z promotorem pracy, Prof. Tomaszem Goślińskim. Publikacje wchodzące w skład recenzowanej pracy doktorskiej posiadają wysoką wartość merytoryczną i znacząco poszerzają wiedzę na temat projektowania nowych związków o działaniu terapeutycznym na bazie polifenoli.

Jak zaznaczyłem w recenzji, sposób prezentacji materiału, interpretacja wyników eksperymentalnych, dobór metod badawczych w zależności od rozwiązywanego problemu, wskazują na dużą wiedzę Doktoranta w dziedzinie projektowania nowych związków o znaczeniu terapeutycznym, a osiągnięte wyniki, na dużą biegłość eksperymentalną.

Biorąc pod uwagę rygor akademicki, oryginalny wkład jaki wnosi do projektowania nowych analogów polifenoli jako potencjalnych terapeutyków, multidyscyplinarne podejście do rozwiązywania problemów naukowych uważam, że rozprawa w pełni spełnia kryteria wyróżnienia. Praca ta pokazuje nie tylko naukowe zdolności kandydata, ale także jego potencjał do przyszłych badań naukowych. Jego dorobek naukowy i parametry bibliometryczne, jak na młodego naukowca, są również znakomite, o czym świadczy opis Aktywności Naukowej załączonej do rozprawy doktorskiej.

W związku z powyższym, gorąco polecam przyznanie wyróżnienia za tę rozprawę doktorską i gratuluję Panu mgr. Pawłowi Bakunowi tego ważnego osiągnięcia naukowego.

Dziękuję za rozważenie tej rekomendacji.

2 powisa

