

Poznań, 2 listopada 2020 r.

R E C E N Z J A
rozprawy doktorskiej mgr Barbary Seroki
pt. „Synteza steroidowych diamin i ich kompleksów z platyną
o potencjalnym zastosowaniu w medycynie”

Choroby nowotworowe są problemem globalnym ludzkości i jedną z najczęstszych przyczyn umieralności. We współczesnej chemii organicznej szczególne miejsce zajmuje właśnie poszukiwanie nowych związków biologicznie aktywnych, w tym przeciwnowotworowych, oraz nowych, możliwie prostych i wydajnych metod ich syntezy.

Ważną grupą leków przeciwnowotworowych są związki platyny(II). Bardzo prostym związkiem kompleksowym jest cisplatyna, znana od połowy XIX wieku, a stosowana w leczeniu od kilku dziesięcioleci. Od wielu lat trwają prace, których celem jest synteza nowych leków zawierających platynę, także z wykorzystaniem różnych nośników oraz nanotechnologii. O intensywności tych badań świadczy praca przeglądowa T. C. Johnstona i współpracowników z 2016 r., zawierająca 561 pozycji literatury.

Związki hybrydowe (koniugaty) zawierające dwie lub więcej jednostek strukturalnych o różnych właściwościach biologicznych stanowią przedmiot zainteresowania badaczy od kilku dziesięcioleci, a wynika to z interesujących, często nieoczekiwanych właściwości biologicznych, a nawet zastosowań takich połączeń.

Syntetyczne koniugaty steroidów to duża grupa związków, w których jednostki steroidowe połączone są z innymi związkami o odmiennych właściwościach fizykochemicznych, biologicznych i/lub medycznych. Do nich należą koniugaty steroidów z aminami, poliaminami i aminokwasami.

W literaturze opisano dużą grupę kompleksów platyny, które są związkami hybrydowymi zawierającymi steroidy z grupy hormonów i kwasów żółciowych. Niektóre wykazywały aktywność przeciwnowotworową.

Mimo tych licznych prac chemików syntetyków tylko sześć małowartościowych kompleksów platyny(II) znalazło zastosowanie w leczeniu (stan według ww. publikacji), a cisplatyna należy do najczęściej stosowanych w terapii przeciwnowotworowej, mimo szeregu efektów ubocznych.

Jest zastanawiające, że jako leki przeciwnowotworowe do zastosowań klinicznych zostały zakwalifikowane, z wyjątkiem cisplatyny, tylko związki

WPLYNĘŁO DO DZIEKANATU

Białystok, dnia 0 9 L I S . 2020

zawierające w sferze koordynacyjnej platyny dwa atomy azotu grup aminowych i dwa atomy tlenu połączone z jedną lub dwiema grupami elektronoakceptorowymi. Może to być wskazówką, w jakim kierunku prowadzić dalsze badania?

W tej tematyce podjęła badania mgr Barbara Seroka i ich rezultatem jest rozprawa doktorska, która została wykonana w Zakładzie Chemii Produktów Naturalnych Wydziału Chemii Uniwersytetu w Białymstoku pod kierunkiem dr. hab. Zenona Łotowskiego.

Nie mam wątpliwości, że temat badań podjętych przez doktorantkę jest ważny, interesujący i ciągle aktualny, zarówno pod względem poznawczym jak i praktycznym. Badania były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki.

Rozprawa ma 137 stron i układ powszechnie stosowany w pracach z zakresu chemii organicznej. Składa się z trzech rozdziałów zatytułowanych: „Przegląd literaturowy”, „Badania własne” i „Część eksperymentalna” oraz spisu literatury. Na początku pracy znajduje się „Streszczenie” w języku polskim i angielskim, „Spis treści”, „Wykaz stosowanych skrótów” oraz „Cel i założenia pracy”.

W rozdziale 1 pt. „Przegląd literaturowy” autorka przedstawiła aktualny stan badań nad związkami o właściwościach przeciwnowotworowych zawierających platynę. Z olbrzymiej literatury na ten temat wybrała najważniejsze publikacje, 175 pozycji. Omówiła takie zagadnienia jak historia odkrycia cisplatyny i jej prostych analogów, a także innych, bardziej skomplikowanych strukturalnie kompleksów platyny, mechanizm ich działania na poziomie komórkowym i w terapii nowotworów. Opisała też mechanizmy transportu i skomplikowane układy nośnikowe dla transportu leków platynowych. Znaczną część tego przeglądu stanowi omówienie dość dużej grupy związków kompleksowych platyny(II) zawierających podjednostki steroidowe, przede wszystkim żeńskie hormony płciowe i kwasy żółciowe. Wyniki badania ich aktywności przeciwnowotworowej wskazują na celowość dalszych poszukiwań. Ten bardzo dobrze napisany 40-stronicowy przegląd świadczy o dobrej znajomości literatury dotyczącej omawianych zagadnień i w przekonujący sposób uzasadnia podjęcie badań w kierunku uzyskania nowych kompleksów platyny jako potencjalnych leków przeciwnowotworowych zawierających lipidowe fragmenty steroidowe.

Wyniki swoich badań autorka przedstawiła w rozdziale 2 zatytułowanym „Badania własne” obejmującym 26 stron. Realizując cel pracy otrzymała na drodze kilkietapowych syntez szereg związków steroidowych zawierających ugrupowanie 1,2-diaminoetanu i 1,3-diaminopropanu połączone poprzez atom azotu ze szkieletem steroidowym w położeniu 3, 6 i 24. Substratami w tych syntezach były tosyłan lub mesyłan cholesterylu i eter silylowy litochołanu metylu. W syntezie pochodnych zawierających ugrupowania 1,2- i 1,3- diaminowe w położeniu 6 ważnym związkiem pośrednim był 6 β -azydo-3 α ,5 α -cyklocholestan. Aby otrzymać

odpowiednie diaminy autorka zastosowała reakcję alkilowania monoamin bromoacetonitrylem albo reakcję addycji typu aza-Michaela amin do akrylonitrylu. Produkty tych reakcji, cyjanoaminy, były redukowane wodorkiem litowo-glinowym. Wydajności reakcji były z reguły wysokie. Tak otrzymane diaminy poddane reakcji z tetrachloroplatynianem potasu zostały przekształcone w sześć kompleksów platyny(II).

Prostsza i skuteczniejsza okazała się trójetapowa synteza 1,2- i 1,3-diamin pochodnych kwasów żółciowych, które zostały otrzymane z kwasu litocholowego, deoksycholowego, hyodeoksycholowego i cholowego w sekwencji reakcji: kwas karboksylowy → ester metylowy → N-aminoalkiloamid → diamina. Tak otrzymano cztery N-podstawione pochodne 1,2-diaminoetanu i cztery 1,3-diaminopropanu. Dodatkowym atutem tej sekwencji reakcji był brak konieczności ochrony grup hydroksylowych fragmentu steroidowego. W reakcji tych diamin z tetrachloroplatynianem potasu otrzymano następane sześć kompleksów platyny(II). Wszystkie kompleksy zostały scharakteryzowane spektroskopowo (widma IR, MS i NMR).

W innym wariacie syntezy steroidowych diamin Autorka zastosowała jako substraty 3β-p-toluenosulfonian i 3β-metanosulfonian diosgenyłu. Próba syntezy azydków z tych substratów była nieudana, ale w reakcji mesylanu z 1,2- i 1,3-diaminami otrzymane zostały ich odpowiednie pochodne zawierające resztę steroidową dołączoną w pozycji 3α i 6β. Z tych czterech diamin otrzymano według standardowej metody kompleksy platyny(II). Związki te nie były testowane biologicznie.

W kolejnym wariacie syntezy związków docelowych, gdy substratami były kwas litocholowy i stigmasterol, autorka otrzymała w kilku etapach związki zawierające grupę aldehydową w łańcuchu bocznym. Próby zastosowania tych aldehydów, odpowiednio **26** i **63**, do wprowadzenia ugrupowania diaminowego jednak się nie powiodły ze względu na powstawanie trudnych do rozdziału diastereizomerycznych, nienasyconych alkoholi **58** i **59** oraz **65**.

Interesującym pomysłem było też zastosowanie galaktozyloaminy jako pomocnika chiralnego w reakcji Streckera z pochodną tributylodimetylosililową aldehydu litocholowego. Niestety, także w tym przypadku, powstający aminonitryl był mieszaniną trudną do rozdziału i dalsze prace zostały na tym etapie przerwane. Te trzy negatywne wyniki wymagały jednak znacznego nakładu pracy eksperymentalnej.

Autorka wykazała dobrą znajomość stosowanych w syntezie organicznej technik spektroskopowych. Wszystkie otrzymane w trakcie syntezy związki zostały poprawnie scharakteryzowane za pomocą widm w podczerwieni, magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H , ^{13}C i ^{195}Pt oraz wysokorozdzielczej spektrometrii mas.

Dla ośmiu kompleksów platyny (II) zbadano aktywność cytotoksyczną wobec komórek nowotworowych. Wyniki przedstawione w Tabeli 4 wskazują na pochodne kwasu litocholowego i deoksycholowego jako najbardziej aktywne, a

koniugat cis-dichloro(1,3-diaminopropano)platyny(II) z hydrofobową grupą 5 β -cholan-24-yłową wykazywał wartości IC₅₀ podobne do cisplatyny.

Część wyników opisanych w rozprawie została opublikowana w latach 2018 – 2020 w formie trzech artykułów, których, poza doktorantką i promotorem, jest jeszcze dziewięcioro współautorów.

W rozdziale „Część eksperymentalna” wszystkie procedury syntetyczne są dokładnie opisane, według ogólnie przyjętych zasad. Autorka wykazała biegłość w prowadzeniu eksperymentów i opanowanie technik eksperymentalnych syntezy w skali półmikro. Umieszczenie wzorów strukturalnych także w tej części rozprawy znacznie ułatwia jej czytanie. Rysunki, wzory związków chemicznych i schematy reakcji zamieszczone w pracy zostały wykonane bardzo starannie.

Poniżej przedstawiam kilka uwag.

- W części eksperymentalnej dla niektórych związków krystalicznych nie podano temperatur topnienia albo tych danych nie porównano z istniejącymi w literaturze. To samo dotyczy szeregu danych spektroskopowych.
- Autorka nie wyjaśniła, na jakiej podstawie przypisano konfigurację atomu węgla C-24 w galaktopiranozylo pochodnej **71**.
- Błędny jest wzór związku Bamet-UD2 na stronie 43.
- Za poważne niedociągnięcia pracy należy uznać brak cytowań literatury w odniesieniu do związków znanych i opisanych wcześniej. Autorka zsyntezowała szereg prostych pochodnych steroidów: cholesterolu, kwasów żółciowych, stigmasterolu i diosgeniny, stosując opisane metody syntezy lub ich modyfikacje. Związki te scharakteryzowała spektroskopowo, nie podała jednak, że były one znane i ich właściwości fizykochemiczne opisane, niektóre w patentach, inne w artykułach z lat 1950-tych i 1960-tych, a także w publikacjach wydanych nie tak dawno. Wymienię dla przykładu związki **47, 52, 56, 57, 62, 73, 77, 81, 99, 101, 102, 103**, a także amidy **110 – 113**. Czytelnik nieobeznany z tematem może odnieść wrażenie, że są to nowe, nieopisane wcześniej związki chemiczne.
- Brak jest informacji o tym, gdzie i przez kogo zostały wykonane badania biologiczne.
- W pracy zdarzają się błędy stylistyczne, literówki oraz pewne niezręczne sformułowania, na przykład na str.27 wiersz 10, str. 51 wiersz 3 od dołu, str. 52 wiersz 5, str. 71 wiersz 4 i 6 od dołu, str. 77 wiersz 15, str. 78 wiersz 5 i 14, str. 83 wiersz 6 od dołu.

Najważniejsze rezultaty rozprawy to:

- Nowe podejście do konstruowania kompleksów platyny(II), potencjalnych leków przeciwnowotworowych, polegające na połączeniu fragmentu steroidowego z ugrupowaniem 1,2-diaminoetanu i 1,3-diaminopropanu.
- Wykorzystanie handlowo dostępnych steroidów do takiej modyfikacji chemicznej ich grup funkcyjnych, która umożliwia tworzenie kompleksów z platyną(II).

- Synteza serii nowych pochodnych steroidów zawierających funkcjonalizowane grupy aminowe w pierścieniu A i B cholestanu i diosgeniny oraz w łańcuchu bocznym kwasów żółciowych: cyjanoamin, N-aminoalkiloamidów i N-aminoalkiloamin.
- Otrzymanie czternastu kompleksów cis-dichloro-(1,2-diaminoetano)-platyny(II) i cis-dichloro-(1,3-diaminopropano)platyny(II), w których jeden z atomów azotu jest połączony z resztą steroidową.
- Zbadanie aktywności przeciwnowotworowej otrzymanych kompleksów platyny(II) wskazujące na możliwość terapeutycznych zastosowań tych lub podobnych związków.

Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam w podsumowaniu, że rozprawa doktorska mgr Barbary Seroki pt. „Synteza steroidowych diamin i ich kompleksów z platyną o potencjalnym zastosowaniu w medycynie” jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego, a więc spełnia wymogi określone w art. 13 ustawy z dn. 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65/2003 poz. 595 z późniejszymi zmianami). Przedkładam zatem Radzie Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu w Białymstoku wniosek o dopuszczenie mgr Barbary Seroki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zdzisław Jarczyk