



Politechnika Łódzka

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej

dr hab. inż. Marian Wolszczak

RECENZJA

pracy doktorskiej pana mgr Konrada Skotnickiego pt. „Reakcje rodnikowe chinoksalin-2-onów w aspekcie ich zastosowań farmakologicznych”

Przedłożona mi przez Radę Naukową Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie do recenzji rozprawa doktorska mgr Konrada Skotnickiego została wykonana w Zakładzie Naukowym Centrum Badań i Technologii Radiacyjnych pod kierunkiem prof. dr hab. Krzysztofa Bobrowskiego. Tematyka rozprawy jest bardzo aktualna o dużym aspekcie poznawczym i, co ważne, jest istotna z punktu widzenia potencjalnych zastosowań farmakologicznych pochodnych chinoksalin-2-onu.

Rozprawa poświęcona jest radiacyjnemu otrzymywaniu i analizie (spektralnej i kinetycznej) rodników powstałych podczas jednoelektronowego utleniania i redukcji pochodnych chinoksalin-2-onu. Porównane zostały także reaktywności jonorodników aktualnie stosowanego leku - karoweryny (1-[2-(dietyloaminoetylo)-3-[(4-metoksyfenylo)metylo]-2(1H)-chinoksalinon) z reaktywnością rodników otrzymywanych z udziałem pochodnych chinoksalin-2-onu. Ważnym aspektem rozprawy było także zbadanie reaktywności wygenerowanych podczas radiolizy impulsowej rodników badanych związków z wybranymi aminokwasami.

Ogólna ocena projektu doktorskiego i dokonań naukowych Doktoranta

Praca doktorska mgr Skotnickiego dotyczy aktualnej i ważnej tematyki badawczej dotyczącej reakcji rodnikowych pochodnych chinoksalin-2-onu i mieści się w szerokim programie badań, jakie prowadzi jego promotor, Pan Prof. Krzysztof Bobrowski. Jego zespół znany jest z szeregu ważnych dokonań, zarówno w badaniach eksperymentalnych jak i teoretycznych, dotyczących reakcji rodnikowych w układach biologicznie ważnych. O randze tych badań świadczą m.in. bardzo liczne cytowania.

Moja ogólna ocena dokonań naukowych pana mgr inż. Skotnickiego jest bardzo wysoka. Doktorant jest współautorem 5 publikacji naukowych, w międzynarodowych czasopismach o bardzo dużym współczynniku oddziaływania (łączna wartość IF wynosi ponad 12.4). Jest on również



Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej
90-924 Łódź, ul. Wróblewskiego 15, budynek C2
tel. 42 631 31 59, fax 42 631 30 87, e-mail: marianwo@mitr.p.lodz.pl
e-mail: marian.wolszczak@p.lod www.mitr.p.lodz.p



HR EXCELLENCE IN RESEARCH



Politechnika Łódzka

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej

dr hab. inż. Marian Wolszczak

współautorem pięciu prac naukowych, opublikowanych w czasopismach nie objętych listą filadelfijską. Indeks Hirscha Autora wynosi trzy, a ilość cytowań według bazy Web of Science - trzynaście (10 bez samocytowań) i trzynaście zgodnie z danymi bazy Scopus (11 bez samocytowań). Brał on osiemnastokrotnie udział w konferencjach naukowych, dziewięciu międzynarodowych i dziewięciu krajowych, mając osiem wystąpień ustnych. Odbył krótkoterminowe staże naukowe, dwukrotnie w Notre Dame Radiation Laboratory w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej (30.09-7.10.2014 i 15.10-14.12.2016) oraz na Uniwersytecie w Palermo (program ERASMUS+ 27.09-02.10.2015). Kierował dwoma projektami badawczymi: *Generowane radiacyjnie procesy rodnikowe pomiędzy aminokwasami a pochodnymi chinoksalin-2-onu z punktu widzenia ich zastosowań farmakologicznych* (Narodowe Centrum Nauki, PRELUDIUM, 2014/15/N/ST4/02914 15.07.2015-14.07.2018) oraz *Generowane radiacyjnie procesy rodnikowe w pochodnych fenylenodiaminy jako radiosensybilizatorach w leczeniu nowotworów (01.08.2016-31.07.2017 - projekt wewnętrzny w ramach dotacji celowej z Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego)*. Brał udział również w realizacji projektów w ramach współpracy z grupą prof. Janusza Raka z Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, grupą prof. Julia De la Fuente z Uniwersytetu Chilijskiego w Santiago (Chile) oraz grupą prof. Branki Mihaljevič z Instytutu Ruder Bosković w Zagrzebiu (Chorwacja). Mgr inż. Konrad Skotnicki posiadał dużą wiedzę, dotyczącą szeroko rozumianej chemii radiacyjnej o czym mogłem się przekonać podczas XVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych im. Marii Skłodowskiej-Curie, który odbył się w Siedlcach we wrześniu 2016. Na tej konferencji przedstawił w profesjonalny sposób wyniki swoich badań i był niewątpliwie najbardziej aktywnym młodym uczestnikiem Zjazdu.

Uwagi szczegółowe i dyskusja

Rozprawa doktorska obejmuje 148 stron druku. Jej układ nie budzi zastrzeżeń i odpowiada ogólnie przyjętemu schematowi prezentacji prac naukowych.

Praca składa się z ośmiu podstawowych rozdziałów: *Wprowadzenie, Część literaturowa, Cel i zakres pracy, Metodyka badań, Wyniki badań, Dyskusja wyników, Wnioski oraz Literatura*. Otwiera ją *Wykaz stron*, następnie zamieszczono *Wykaz skrótów* (niestety pominięty w *Wykazie stron*). Rozdział



Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej
90-924 Łódź, ul. Wróblewskiego 15, budynek C2
tel. 42 631 31 59, fax 42 631 30 87, e-mail: marianwo@mitr.p.lodz.pl
e-mail: marian.wolszczak@p.lod www.mitr.p.lodz.p



HR EXCELLENCE IN RESEARCH



Politechnika Łódzka

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej

dr hab. inż. Marian Wolszczak
zatytułowany *Wprowadzenie* (strony 7-10) zawiera podstawowe informacje o pochodnych chinoksaliny.

Część literaturowa poświęcona jest głównie wyjaśnieniu aktywności biologicznej badanych związków oraz dotyczy podstaw chemii radiacyjnej zastosowanych rozpuszczalników. Ten fragment rozprawy świadczy o dogłębnym przestudiowaniu przez Autora dostępnych danych literaturowych. Liczne schematy pozwalają poznać równowagi kwasowo-zasadowe oraz te pomiędzy tautomerycznymi formami chinoksalin-2-onów. Opisane procesy związane z fotoindukowanym transferem elektronu czy badania elektrochemiczne są istotne w zrozumieniu mechanizmu redukcji lub utleniania związków, zawierających pierścień chinoksaliny. Cennym fragmentem *Części literaturowej* jest zwięzłe wykazanie, że technika radiolizy impulsowej jest efektywną metodą generowania i badania reaktywnych form związków o znaczeniu biologicznym. Reaktywność rodników OH z tryptofanem, tyrozyną oraz metioniną została przeanalizowana w kontekście reakcji rodników aminokwasów z pochodnymi chinoksalin-2-onu. Wyjaśnienie wpływu podstawnika na aktywność biologiczną wskazuje jak ważne jest badanie, które pozycje i jakie podstawniki determinują przydatność aplikacyjną badanych związków.

W rozdziale *Cel i zakres pracy* Doktorant w pierwszej kolejności zaprezentował cztery główne hipotezy badawcze. Pierwsza z nich dotyczy roli ochronnej pochodnych chinoksalin-2-onów wobec układów białkowych narażonych na stres oksydacyjny. Dwie kolejne związane są z reakcjami rodnikowymi: rodników badanych związków z resztami aminokwasowymi w peptydach i/lub białkach lub rodników aminokwasowych z pochodnych chinoksalin-2-onów. Ostatnia z nich związana jest z zagadnieniem efektywności karoweryny jako zmiatacza wolnych rodników tlenowych. W tym samym rozdziale Autor zaprezentował plan i koncepcję badań. Wysoko oceniam załączone w dalszej części rozdziału wyjaśnienia precyzujące zamierzenia badawcze w odniesieniu do tych już uprzednio opisanych w literaturze.

Kolejny siedmiostronicowy rozdział *Metodyka badań* zawiera opis układu do radiolizy impulsowej z wykorzystaniem akceleratora liniowego LAE10 oraz źródeł promieniowania γ . Zawiera on liczne schematy i zdjęcia aparatury w tym układzie przepływowego umożliwiającego "odświeżanie" roztworu podczas radiolizy. Informacje zawarte w omawianym rozdziale pozwalają poznać szczegóły układu do radiolizy impulsowej dotyczące zastosowanej dawki,



Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej
90-924 Łódź, ul. Wróblewskiego 15, budynek C2
tel. 42 631 31 59, fax 42 631 30 87, e-mail: marianwo@mitr.p.lodz.pl
e-mail: marian.wolszczak@p.lod www.mitr.p.lodz.p



HR EXCELLENCE IN RESEARCH



Politechnika Łódzka

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej

dr hab. inż. Marian Wolszczak

przedziału czasowego rejestracji sygnałów czy objętości napromieniowanego roztworu.

Najobszerniejszy rozdział 5 (67 stron) stanowi najważniejszą część rozprawy. Poświęcony jest opisowi wyników badań. Rozdział zawiera liczne podrozdziały, w których doktorant dokładnie omawia procedury badawcze służące charakterystyce parametrów spektralnych i kinetycznych procesów rodnikowych inicjowanych radiacyjnie oraz przedstawia wyniki badań. Wyniki dotyczą dużej ilości pochodnych chinoksalin-2-onów czego konsekwencją jest ogrom wykresów, widm i zależności kinetycznych. Badane związki przyporządkowano do grup: grupa I (7-NH₂-3MeQ, 7-CH₃O-3MeQ, 7-CN-3MeQ) oraz grupa II (7-CH₃-3MeQ, 7-F-3MeQ, 3MeQ, 7-CF₃-3MeQ). Analizę wyników ułatwiłoby czytelnikowi pracy zebranie wzorów strukturalnych związków na jednej rycinie.

Na szczególną pochwałę zasługuje rozdział 6 rozprawy zatytułowany *Dyskusja*. Tu Autor w zwięzły sposób (na 13 stronicach) podsumował zebrane wyniki eksperymentalne. Starannie omówione zostały mechanizmy min. redukcji i utlenienia, addycji rodników [•]OH do badanych związków. Pracę wieńczy część zatytułowana *Wnioski*, która jest listą dokonań badawczych Autora.

Praca jest napisana poprawnym językiem, w sposób jasny, wystarczająco zwięzły, bez zbędnych komentarzy, co sprawia, że zapoznanie z treścią rozprawy jest łatwe. Cytowane źródła literaturowe (211 pozycji), ilustrujące omawiane zagadnienia zostały prawidłowo dobrane.

Realizacja zaplanowanych badań wymagała od doktoranta znakomitego przygotowania teoretycznego w zakresie biologii molekularnej, chemii radiacyjnej, spektroskopii optycznej a także praktycznej umiejętności stosowania zaawansowanych metod analitycznych i fizykochemicznych.

Analizując wartości stałych szybkości dla reakcji chinoksalin-2-onu i jego pochodnych z produktami radiolizy wody, Autor stwierdził (strony 53, 119, 122, 125), że są one reakcjami kontrolowanymi dyfuzyjnie. Bardzo możliwe, że ma rację ale uzasadnienie bazuje jedynie na stwierdzeniu, że wartości wyliczonych stałych są duże, rzędu 10¹⁰ dm³mol⁻¹s⁻¹. Sądzę, że możliwe jest przeanalizowanie czy opisywane reakcje są w pełni kontrolowane przez dyfuzję. Najłatwiej jest zastosować równanie Smoluchowskiego-Einsteina (S-E). W literaturze nie podano wartości współczynnika dyfuzji *D* dla chinoksalin-2-onu (lub pochodnych), ale można wykorzystać wartość *D* dla



Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej
90-924 Łódź, ul. Wróblewskiego 15, budynek C2
tel. 42 631 31 59, fax 42 631 30 87, e-mail: marianwo@mitr.p.lodz.pl
e-mail: marian.wolszczak@p.lod www.mitr.p.lodz.p



HR EXCELLENCE IN RESEARCH



Politechnika Łódzka

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej

dr hab. inż. Marian Wolszczak

chinoksaliny (wartość typowa dla małych aromatycznych cząsteczek). Następnie należy wyliczyć z równania S-E wartości stałych szybkości reakcji (k_{S-V}) jednego wybranego zmiataacza z produktami radiolizy wody ($\cdot\text{OH}$, $\text{N}_3\cdot$, e^-_{aq}) i porównać z wartościami stałych eksperymentalnych, k_{eks} . Jeżeli różnice pomiędzy wartościami wyliczonymi i obserwowanymi będą podobne znaczyć to będzie, że wszystkie reakcje są kontrolowane dyfuzyjnie, jeżeli któraś ze stałych k_{eks} będzie wyraźnie mniejsza od k_{S-V} wskaże to, że w tym przypadku tak nie jest. Wykazanie, że dana reakcja nie jest kontrolowana jedynie przez dyfuzję stwarza możliwości zbadania mechanizmu reakcji. Jest to często stosowane w przypadku reakcji zmiataczy z rodnikiem $\cdot\text{OH}$. Prosiłbym Autora aby podczas publicznej obrony pracy wyjaśnił jak zaplanować eksperymenty radiolizy impulsowej aby tego dokonać.

W pracy wyliczono dużą ilość stałych szybkości reaktywnych indywiduów powstałych w wyniku radiolizy roztworów badanych chinoksalin-2-onami. W przypadku reakcji elektronu hydratowanego wartości stałej szybkości zmiatania e^-_{aq} i tworzenia produktu są w bardzo dobrej zgodności. Wyznaczone eksperymentalnie stałe szybkości k_{obs} zależą liniowo od stężenia zmiataacza c_z . Sądzę, że Doktorant powinien na tych wykresach umieszczać wartość stałej szybkości zaniku elektronu solwatowanego dla roztworu bez zmiataacza. Drugorzędowa stała szybkości reakcji $\cdot\text{OH}$, $\text{N}_3\cdot$ lub e^-_{aq} z danym zmiataaczem jest równa współczynnikowi kierunkowemu równania funkcji liniowej dla zależności k_{obs} od c_z . W przypadku reakcji $\cdot\text{OH}$, $\text{N}_3\cdot$ należy zastosować funkcję liniową postaci: $y=ax$, a nie $y=ax+b$. Stała szybkości k_{obs} dla zerowego stężenia zmiataacza musi równać się 0. Niestety kilkakrotnie Doktorant zastosował niewłaściwą funkcję (np. Rys.71 czy Rys. 72). Nie doprowadziło to jednak do znaczącego błędu w wartości stałej szybkości, gdyż wartość parametru b jest bliska zeru.

Nieliczne błędy stylistyczne i żargonowe wynikają prawdopodobnie z chęci uniknięcia powtórzeń, gdyż Autor wielokrotnie stosuje prawidłowe sformułowania, by zamienić je wkrótce na błędne.

Inne drobne błędy to:

-brak w spisie treści informacji o streszczeniach w języku angielskim (strona 146) i polskim (strona 147)

-strona 10, opis rysunku tylko częściowo przetłumaczono na język polski



Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej
90-924 Łódź, ul. Wróblewskiego 15, budynek C2
tel. 42 631 31 59, fax 42 631 30 87, e-mail: marianwo@mitr.p.lodz.pl
e-mail: marian.wolszczak@p.lodz www.mitr.p.lodz.p



HR EXCELLENCE IN RESEARCH



Politechnika Łódzka

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej

dr hab. inż. Marian Wolszczak

- strona 12, quinalphos ma polską nazwę - kwinalfos
- strona 32, wewnątrz rysunków 17 i 18 opisy w języku angielskim
- strona 42, jest grupa powinno być grupą
- strona 46, niezręczność językowa: „źródło światła w postaci lampy”
- strona 69, niekonsekwencja w opisie osi Y raz jest $Gx\epsilon$ dla wstawek GxEps
- strona 85, w opisie rysunku jest absorpcji, powinno być absorbancji
- strona 86, niekonsekwencja w opisie osi Y raz jest $Gx\epsilon$ dla wstawki GxEps
- strona 90, komentarz (*patrz rozdział 0*) odnosi się do nieistniejącego rozdziału
- strona 92, w opisie osi Y rysunku 59 jest Gxe powinno być $Gx\epsilon$
- strona 93, w opisie osi X wstawek rysunku 60 jest czas [nm] winno być [s]
- strona 94, jest „w celu w celu” powinno być „w celu”
- strona 95, w opisie osi X wstawki rysunku 61 jest czas [nm] winno być [s]
- strona 96, stwierdzenie „składa się z superpozycji” jest niezręczne
- strona 99, zamiast „wygenerowanie rodników w aminokwasie” sądzę, że lepiej brzmi „wygenerowanie rodników aminokwasów”
- strona 99, zamiast „W układzie badawczym” lepiej napisać „W układzie badanym”
- strona 107, jest zwrot „zlokalizowanemu pierścieniu pirazyny” chyba brak tu w
lub ewentualnie *na*
- strona 107, w opisie osi Y rysunku 69 jest GXx powinno być Gxe
- strona 119, opis Schematu 13 informuje o reakcjach z udziałem rodnika hydroksylowego a w schemacie pojawia się również rodnik N_3^{\bullet}
- strona 120, jest „dlaczego jej udział” powinno być „dlatego jej udział”



Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej
90-924 Łódź, ul. Wróblewskiego 15, budynek C2
tel. 42 631 31 59, fax 42 631 30 87, e-mail: marianwo@mitr.p.lodz.pl
e-mail: marian.wolszczak@p.lod www.mitr.p.lodz.p



HR EXCELLENCE IN RESEARCH



Politechnika Łódzka

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej

dr hab. inż. Marian Wolszczak

-strona 124, jest „*efekt kaptodatywny [209]*” powinno być „*efekt kaptodatywny [208]*”

-strona 131, jest „*takie efektu*” powinno być „*takiego efektu*”

Powyższe uwagi nie wpływają na wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej i są jedynie drobnymi błędami edytorskimi, które większość z nas popełnia przygotowując publikacje.

Jak już wspomniałem, praca jest napisana bardzo poprawnie i cechuje ją staranność wykonania rysunków, przejrzyste są również wzory strukturalne badanych związków i schematy reakcji. Mam przekonanie, że Autorowi zabrakło jedynie cierpliwości w przygotowaniu spisu odnośników literaturowych. Przykładem może być strona 137, gdzie na dwadzieścia trzy pozycje literaturowe tylko sześć jest w pełni poprawnie napisana. I tu błędy są drobne, np. raz pojawiają się tytuły, w których słowa rozpoczynają się dużą literą w innych pisane są małymi literami. W przyjętej przez Doktoranta konwencji, podawane jest w odnośniku jedynie nazwisko pierwszego autora (lub wymieniane są dwa jeżeli taka była ilość współautorów), ale kilkakrotnie błędnie wymienia on wszystkich autorów.

Podsumowanie

Od ponad trzydziestu lat stosuję w badaniach techniki radiacyjnej i spektroskopii optycznej i sądzę, że upoważnia mnie to do stwierdzenia, że materiał doświadczalny został zebrany w sposób **profesjonalny i wyjątkowo rzetelny**. Podczas realizacji pracy doktorskiej Autor dokonał setek pomiarów radiolizy impulsowej, dotyczących reakcji badanych związków z rodnikami hydroksylowymi, kilkoma rodnikami selektywnie utleniającymi (np. rodnikiem azydkowym) czy elektronem hydratowanym. Pomiarzy zostały wykonane dla roztworów wodnych lub gdy pochodne chinoksalin-2-onów rozpuszczono w acetonitylu lub alkoholach. Wiele z eksperymentów Doktorant powtórzył, nasycając poddane radiolizie roztwory różnymi gazami (min. argonem, podtlenkiem azotu, tlenem).

Chciałbym stwierdzić, że rozprawa Pana mgr inż. Konrada Skotnickiego stanowiła dla mnie zajmującą lekturę ze względu na zawarty w niej bardzo bogaty materiał doświadczalny i zagadnienia związane z ciekawą grupą pochodnych chinoksalin-2-onu. Nie ulega wątpliwości, że Doktorant w pełni



Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej
90-924 Łódź, ul. Wróblewskiego 15, budynek C2
tel. 42 631 31 59, fax 42 631 30 87, e-mail: marianwo@mitr.p.lodz.pl
e-mail: marian.wolszczak@p.lod www.mitr.p.lodz.p



HR EXCELLENCE IN RESEARCH



Politechnika Łódzka

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej

dr hab. inż. Marian Wolszczak

zrealizował zamierzony cel badań, uzyskując ciekawe i cenne wyniki, które stanowią podstawę do dalszych badań z tego zakresu.

Autor konkluduje swoją pracę doktorską ostrożnym stwierdzeniem: *”Otrzymane wyniki poszerzają wiedzę o reakcjach rodnikowych heterocyklicznych związków zawierających azot, które są szeroko stosowane w projektowaniu i syntezie nowych leków.”*

W mojej ocenie wyniki pracy doktorskiej dostarczyły już cennych informacji, rokujących praktyczne zastosowanie zmodyfikowanych chinoksalin-2-onów. Gratulując Autorowi **świetnej** pracy doktorskiej, życzę mu, aby któryś z przebadanych związków okazał się lekiem stosowanym w medycynie.

Oceniając wysoko poziom badań naukowych przedstawionych w rozprawie doktorskiej w konkluzji stwierdzam, że przedstawiona przez Doktoranta rozprawa spełnia standardy stawiane pracom doktorskim oraz wymogi *art. 13 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 14 marca 2003 (Dz U. Nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami)* i wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej o dopuszczenie mgr inż. Konrada Skotnickiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Rozprawa doktorska mgr Konrada Skotnickiego zarówno swym zakresem, poziomem badań i rangą osiągnięć naukowych wykracza poza poziom typowych prac doktorskich. **W związku z tym wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej rozprawy.**

Łódź, 2018-02-12

Marian Wolszczak



Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej
90-924 Łódź, ul. Wróblewskiego 15, budynek C2
tel. 42 631 31 59, fax 42 631 30 87, e-mail: marianwo@mitr.p.lodz.pl
e-mail: marian.wolszczak@p.lod www.mitr.p.lodz.p



HR EXCELLENCE IN RESEARCH