RPU/8474/2026

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
BIURO RADY DYSCYPLINY
FARMACEUTYCZNE
wpł. dnia 29-04-2026
L. dz. RN-BF/ 4100.7.2025

DR HAB. WOJCIECH SZCZOŁKO

UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KATEDRA I ZAKŁAD TECHNOLOGII CHEMICZNEJ ŚRODKÓW LECZNICZYCH

[redacted]

[redacted]

Poznań, dnia 29 kwietnia 2026 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Tytuł pracy: Synteza nowych pochodnych kwasu 5-amino-3-metyloizoksazolo-4-karboksylowego o potencjalnych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i przeciwbiofilmowych

Imię i nazwisko: mgr Urszula Ewelina Bąchor

Miejsce realizacji pracy doktorskiej: Katedra i Zakład Chemii Organicznej i Technologii Leków Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im Piastów Śląskich we Wrocławiu

Promotor: Dr hab. Marcin Mączyński, prof. uczelni

Promotor pomocniczy: Dr Malwina Brożyna

Pani mgr Urszula Ewelina Bąchor podczas realizacji pracy doktorskiej włączyła się w interdyscyplinarne badania obejmujące otrzymanie i ocenę właściwości nowych pochodnych kwasu 5-amino-3-metyloizoksazolo-4-karboksylowego o potencjalnej aktywności immunomodulującej oraz o potencjalnych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych. Temat ten był realizowany w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej i Technologii Leków pod kierunkiem promotora niniejszej pracy, Pana Dr. hab. Marcina Mączyńskiego, prof. uczelni oraz promotora pomocniczego Dr Malwiny Brożyna. Problem badawczy sformułowany w temacie pracy dotyka szeregu aspektów szczegółowych zmierzających do poszerzenia wiedzy na temat pochodnych kwasu 5-amino-3-metyloizoksazolo-4-karboksylowego. Jednakże, w szerszym kontekście, eksploruje przestrzeń chemiczną tych pochodnych w kierunku potencjalnego zastosowania immunomodulującego oraz przeciwdrobnoustrojowego. W ostatnich latach zakażenia szpitalne stały się poważnym problemem zdrowia publicznego, wynikającym głównie z narastającej lekooporności drobnoustrojów, w tym wielolekooporności bakterii Gram-dodatnich. Istotnym czynnikiem utrudniającym terapię jest zdolność zarówno bakterii, jak i grzybów, do tworzenia biofilmu. Tematyka badań podjęta w dysertacji jest bardzo aktualna naukowo, a także uzasadniona zarówno społecznie, jaki ekonomicznie, gdyż dotyczy narastającej lekooporności drobnoustrojów, a więc z ogromnym zapotrzebowaniem na nowe i skuteczne leki.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska została przygotowana w oparciu o jedną pracę przeglądową opublikowaną w 2025 oraz cztery prace eksperymentalne opublikowane w 2019, 2021, 2023 i 2024 roku. Prace te ukazały się w czasopismach należących do wydawnictwa *MDPI* (*International Journal of Molecular Sciences*), *Royal Society of Chemistry* (*RSC Advances*) oraz w

[redacted]

Polskim Towarzystwie Farmaceutycznym (*Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*). Ponadto, przedstawione powyżej prace zostały opatrzone wspólnym wstępem, celem pracy, omówieniem każdej z publikacji, wnioskami oraz spisem literatury. Zamieszczone zostało również streszczenie w języku polskim i angielskim. We wszystkich publikacjach wchodzących w skład cyklu Doktorantka jest pierwszą autorką, a Jej wiodąca rola w zakresie wykonania badań oraz przygotowania publikacji do druku została potwierdzona stosownymi oświadczeniami współautorów. Ważnym elementem jest zdobycie finansowania na badania w ramach dwóch projektów badawczych: (i) Projekt w ramach subwencji Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu 2023 pt. „Synteza nowych hybrydowych heterocyklicznych pochodnych izoksazolu o potencjalnej aktywności przeciwbakteryjnej"; (ii) Projekt dla Młodych Naukowców realizowany w latach 2016-2018 pt. „Reakcje wieloskładnikowe w poszukiwaniu substancji biologicznie czynnych" gdzie Doktorantka była kierownikiem projektu, co świadczy o zdobytym doświadczeniu w kierowaniu projektem.

Publikacja przeglądowa jest ważnym elementem tej rozprawy doktorskiej, pomagającym w usystematyzowaniu wiedzy, identyfikacji luk badawczych i wskazaniu kierunków przyszłych badań. W pracy tej Doktorantka koncentruje się na hybrydowych cząsteczkach zawierających elementy zarówno izoksazolowe, jak i oksazolowe, zwraca również uwagę na ich różnorodny potencjał terapeutyczny. W pracy przedstawiono systematyczny przegląd właściwości biologicznych takich hybryd jak oksazol-oksazol, oksazol-izoksazol oraz izoksazol-izoksazol, ze szczególnym uwzględnieniem ich właściwości przeciwnowotworowych, przeciwbakteryjnych, przeciwgruźliczych, przeciwzapalnych i przeciwwirusowych. Ponadto, omówiona została także elastyczność strukturalna wspomnianych układów oraz ich potencjalne zastosowania w terapii różnorodnych jednostek chorobowych. Publikacja przeglądowa podsumowuje także postępy w hybrydyzacji molekularnej pierścieni izoksazolowych i oksazolowych odnotowane od 1995 do końca 2024 i obejmuje analizę 53 związków hybrydowych. Płynność w przykazywaniu specjalistycznych informacji zawartych w tej publikacji przeglądowej wskazuje na gruntowne zapoznanie się z literaturą przedmiotu, umiejętność integrowania wiedzy z różnych źródeł oraz rzetelną ogólną wiedzę teoretyczną Autorki.

W pierwszej pracy oryginalnej pt. „Synthesis, immunosuppressive properties, mechanism of action and X-ray analysis of a new class of isoxazole derivatives" Autorka otrzymała, z wykorzystaniem trójskładnikowej reakcji Passeriniego, serię nowych związków zawierających fragment izoksazolowy. Zbadała także wpływ nowych związków na proliferację ludzkich jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (PBMC) indukowaną fitohemaglutyniną A (PHA), produkcję czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF-α) w pełnej krwi ludzkiej stymulowanej lipopolisacharydem (LPS) oraz na dwukierunkową mieszaną reakcję limfocytarną (MLR) PBMC. Dodatkowo sprawdziła wpływ 1-(cykloheksylokarbamoilo)cykloheksylowego 5-amino-3-metyloizoksazol-4-karboksylanu (PUB1) na ekspresję cząsteczek sygnałowych związanych z apoptozą komórek w komórkach Jurkat. Wyniki wykazały, że związki te w różnym stopniu hamowały proliferację PBMC indukowaną mitogenami

w sposób zależny od dawki oraz produkcję TNF-α przy stężeniu 10 μg/ml. Związek PUB1, wybrany na podstawie najsilniejszej aktywności antyproliferacyjnej, wykazał również zdolność hamowania MLR. Uzyskane dane sugerują, że działanie immunosupresyjne PUB1 zależy od indukcji receptora Fas oraz zwiększenia ekspresji kaspazy 8.

W drugiej pracy oryginalnej pt. „New water-soluble isoxazole-linked 1,3,4- oxadiazole derivative with delocalized positive charge", Doktorantka przedstawia syntezę oraz charakterystykę fizykochemiczną nowego związku heterocyklicznego: bromku 5-amino-2-(5-amino-3-metylo-1,2-oksazol-4-ylo)-3-metylo-2,3-dihydro-1,3,4-oksadiazol-2-yliowego, który wykazuje nietypową delokalizację ładunku elektronowego wynikającą z lokalnego dodatniego ładunku na atomie węgla w fragmencie oksadiazolowym. Autorka poddała otrzymany związek analizie rentgenostrukturalnej, która wykazała, że cząsteczka krystalizuje w układzie monoklinicznym, w grupie przestrzennej $P2_1/c$. Oba pięcioczłonowe pierścienie są płaskie i skręcone względem siebie, tworząc motyw pierścieniowy z przeciwjonem, w którym oddziaływania typu H/Br należą do dominujących. Następnie związek ten został poddany szczegółowej analizie MS, w której charakteryzował się wysoką efektywnością jonizacji w trybie ESI-MS oraz ulegał dysocjacji w obrębie fragmentu oksadiazolowego w warunkach ESI-MS/MS, przy niskich energiach zderzeń. Przedstawiony związek stanowi interesujący przykład stabilnego karbokationu heterocyklicznego, który może służyć jako nowa struktura wiodąca.

W trzeciej pracy oryginalnej pt. „The *In Vitro* Impact of Isoxazole Derivatives on Pathogenic Biofilm and Cytotoxicity of Fibroblast Cell Line", Autorka przebadała 15 wcześniej otrzymanych pochodnych izoksazolu pod kątem aktywności wobec głównych patogenów ran tworzących biofilm: *Staphylococcus aureus* oraz *Pseudomonas aeruginosa*, a także wobec grzyba *Candida albicans*. W tym celu zastosowała oznaczenie minimalnego stężenia hamującego, ocenę redukcji biofilmu w płytkach mikrotitracyjnych, zmodyfikowaną metodę dyfuzyjno-krążkową oraz metody pomiaru aktywności opatrunków o działaniu antybiofilmowym. Ponadto zbadała cytotoksyczność oraz cytokompatybilność znanych pochodnych względem komórek tworzących łożysko rany - fibroblastów. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki wykazały, że wszystkie badane pochodne izoksazolu wykazywały aktywność przeciwdrobnoustrojową oraz niski efekt cytotoksyczny. Jednak aktywność przeciwdrobnoustrojowa dwóch związków — 2-(cykloheksyloamino)-1-(5-nitrotiofen-2-ylo)-2-oksoetylu 5-amino-3-metylo-1,2-oksazol-4-karboksylanu (PUB9) oraz 2-(benzyloamino)-1-(5-nitrotiofen-2-ylo)-2-oksoetylu 5-amino-3-metylo-1,2-oksazol-4-karboksylanu (PUB10) — była wyraźnie wyższa w porównaniu z pozostałymi analizowanymi związkami, szczególnie w przypadku PUB9 wobec *Staphylococcus aureus*, gdzie minimalne stężenie hamujące było ponad 1000 razy niższe niż dla innych pochodnych. Dodatkowo związki PUB9 i PUB10 były zdolne do redukcji ponad 90% komórek tworzących biofilm, niezależnie od gatunku drobnoustroju, wykazując jednocześnie brak (PUB9) lub umiarkowaną (PUB10) cytotoksyczność wobec fibroblastów oraz wysoką (PUB9) lub umiarkowaną (PUB10) cytokompatybilność względem tych komórek.

W czwartej pracy oryginalnej pt. „Novel Isoxazole-Based Antifungal Drug Candidates", Doktorantka zsyntezowała i scharakteryzowała nową serię ośmiu pochodnych opartych na izoksazolu oraz oceniła ich potencjał przeciwko *Candida albicans* w warunkach *in vitro*. Dwa związki, PUB14 i PUB17, wykazały selektywną aktywność przeciwgrzybiczą, nie wpływając jednocześnie negatywnie na korzystną mikrobiotę, taką jak bakterie z rodzaju *Lactobacillus*. Ponadto związki te charakteryzowały się istotnie niższą cytotoksycznością w porównaniu z powszechnie stosowanym miejscowym środkiem przeciwdrobnoustrojowym, chlorowodorkiem oktenidyny, co wskazuje na ich potencjał do bezpiecznego i skutecznego zastosowania klinicznego. Została także przebadana zdolność tych związków do eliminacji biofilmu tworzonego przez *Candida albicans,* wskazując na nowe podejście do zwalczania biofilmów i podkreśla potencjał pochodnych izoksazolu jako obiecujących kandydatów na leki o działaniu antybiofilmowym.

Wnioski z przedstawionych prac oryginalnych przedstawionych przez Doktorantkę są następujące:

1. Pochodne izoksazolu stanowią obiecującą grupę związków o szerokim potencjale biologicznym, obejmującym działanie immunosupresyjne, przeciwdrobnoustrojowe oraz przeciwgrzybicze.
2. Nowo zsyntetyzowane związki wykazują zdolność modulowania odpowiedzi immunologicznej, m.in. poprzez hamowanie proliferacji komórek PBMC oraz wpływ na mechanizmy apoptozy (np. aktywację szlaku Fas/kaspaza 8), co wskazuje na ich potencjalne zastosowanie w terapii chorób wymagających immunosupresji.
3. Badane związki wykazują istotną aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec kluczowych patogenów ran, takich jak *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*, a także zdolność do skutecznego ograniczania biofilmu, co jest szczególnie istotne w leczeniu przewlekłych, trudno gojących się ran.
4. Wybrane związki (np. PUB9 i PUB10) charakteryzują się wysoką skutecznością przy jednocześnie niskiej cytotoksyczności wobec fibroblastów, co sugeruje ich potencjalne bezpieczeństwo w zastosowaniach klinicznych.
5. Niektóre pochodne (PUB14 i PUB17) wykazują selektywną aktywność przeciwko Candida albicans, nie zaburzając jednocześnie korzystnej mikrobioty, takiej jak Lactobacillus, co stanowi istotną przewagę nad tradycyjnymi terapiami.
6. Związki te wykazują zdolność eliminacji biofilmu Candida, co otwiera nowe możliwości terapeutyczne w leczeniu zakażeń grzybiczych, w tym kandydozy sromu i pochwy.
7. Niska cytotoksyczność oraz wysoka cytokompatybilność badanych związków, w porównaniu z konwencjonalnymi środkami (np. octenidine dihydrochloride), wskazują na ich potencjał jako bezpieczniejszych alternatyw terapeutycznych.

8. Otrzymane wyniki uzasadniają konieczność dalszych badań, w tym badań in vivo oraz klinicznych, w celu potwierdzenia skuteczności i bezpieczeństwa tych związków oraz ich ewentualnego wdrożenia do praktyki medycznej.

Podsumowanie ogólne: Pochodne izoksazolu, szczególnie wybrane związki takie jak PUB1, PUB9, PUB10, PUB14 i PUB17, mogą stanowić nową generację wielofunkcyjnych związków terapeutycznych o ukierunkowanym działaniu i wysokim potencjale aplikacyjnym w leczeniu zakażeń oraz modulacji układu odpornościowego.

Analiza cyklu publikacji naukowych stanowiących dysertację pozwala z całą pewnością stwierdzić, że przedstawiona do oceny praca zawiera szeroki wachlarz wyników o wysokiej wartości naukowej stanowiących istotny wkład w aktualny stan wiedzy. Na wysokie uznanie zasługuje także sposób przygotowania przedstawionych publikacji, są one dopracowane edytorsko, a także każda z nich posiada obszerne materiały uzupełniające umożliwiające dogłębny wgląd w przeprowadzone badania oraz ich wysoką transparentność.

Podczas obrony pracy prosiłbym o odniesienie się do kilku kwestii: (*i*) w rozdziale Cele Badawcze pisze Pani o określeniu czystości otrzymanych związków, proszę podać jakimi metodami była ona sprawdzana; (*ii*) czy otrzymane związki są dobrze rozpuszczalne w wodzie? Jakimi metodami można ewentualnie zwiększyć ich rozpuszczalność w wodzie? (*iii*) czy związek przedstawiony w drugiej publikacji został poddany badaniom biologicznym?

Reasumując, uważam, że Pani mgr Urszula Ewelina Bąchor doskonale zmierzyła się z postawionym w temacie pracy problemem, wykazała się znajomością zagadnień teoretycznych i przygotowaniem warsztatowym. Moja wysoka ocena wartości merytorycznej przedstawionej dysertacji wynika z umiejętnego połączenia przez Doktorantkę wiedzy z zakresu syntezy chemicznej, analizy fizykochemicznej i chemii medycznej. Rozprawa doktorska, autorstwa mgr Urszula Ewelina Bąchor spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U z 2024 r. poz. 1571 t.j.). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy mgr Urszuli Eweliny Bąchor do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.

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

dr hab. Wojciech Szczołko

[redacted]