

Gdańsk, 22.12.2021 r.

Prof. dr hab. Wojciech Kamysz
Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej
Wydział Farmaceutyczny
Gdański Uniwersytet Medyczny

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

pt. „Opracowanie metod chromatograficznych w optymalizacji projektowania oraz
otrzymywania nowych radiofarmaceutyków”,

wykonanej przez Pana mgr. farm. Pawła Kręciszę

Radiofarmaceutyki stosowane są do celów medycznych i składają się z radioizotopu danego pierwiastka. Mają one istotne znaczenie w terapii nowotworów jak i diagnostyce. Rodzaj użytego radionuklidu zależy ściśle od zastosowania. Przykładami radiofarmaceutyków są jodek sodu ($\text{Na}^{[131\text{I}]}$), stosowany w scyntygrafii gruczołu tarczycowego, czy też fludeoksyglukoza (^{18}F) stosowana m.in. do oceny różnicowej pojedynczych guzów oraz wykrywaniu raka nieznanego pochodzenia. Często stosowane są także ligandy (prekursory chemiczne do preparatów radiofarmaceutycznych), których celem jest dostarczenie izotopu do właściwego miejsca w organizmie. Prekursory wykazują zdolność do wiązania (kompleksowania) izotopu promieniotwórczego a ponadto cechuje je zwiększone powinowactwo do określonych struktur lub narządów będących pożądanym miejscem działania radiofarmaceutyku. Przykładem takiego leku jest $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tektrotyd stosowany w diagnostyce guzów neuroendokrynych wykazujących ekspresję receptorów somatostatyny. Projektowanie nowych radiofarmaceutyków wymaga narzędzi umożliwiających wydajną i precyzyjną ocenę właściwości fizykochemicznych cząsteczki, które związane są z zagadnieniami farmakokinetyki. W dalszej perspektywie, cechy fizykochemiczne

związku mogą rzutować na sukces danego działania medycznego. Niestety metody obliczeniowe, choć coraz bardziej doskonałe, nie wykazują pełnej zgodności z eksperymentem. W związku z tym, zachodzi potrzeba skonfrontowania obliczonych parametrów dla danej cząsteczki z wartościami eksperymentalnymi. Optymalizacja tego etapu jest istotnym elementem na drodze do usprawnienia projektowania nowych radiofarmaceutyków. Ich otrzymywanie związane jest także z koniecznością przeprowadzenia oczyszczania za pomocą technik chromatograficznych. Stosowane metody wymagają odpowiedniej optymalizacji w celu zwiększenia wydajności całego procesu.

Celem dysertacji było opracowanie metod chromatograficznych pozwalających na ocenę właściwości fizykochemicznych tetrahydroakrydyn oraz usprawnienie oczyszczania związków z tej grupy. Praca doktorska Pana mgr. farm. Pawła Kręciszka składa się z 82 stron, w tym streszczenia w języku polskim oraz angielskim, spisu treści, wykazu stosowanych skrótów, 24 rysunków oraz 11 tabel. Praca została podzielona na wstęp, opis celu pracy, część opisującą parametry fizykochemiczne oraz zastosowanie chromatografii w naukach farmaceutycznych ze szczególnym uwzględnieniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej i chromatografii typu flash, podsumowanie i wnioski, bibliografię, publikacje będące podstawą rozprawy, oświadczenia współautorów oraz podsumowanie dorobku naukowego. Dysertacja jest przygotowana w sposób staranny i jej układ jest typowy dla tego typu prac.

W części teoretycznej Doktorant w przystępny sposób przedstawił informacje dotyczące parametrów fizykochemicznych takich jak wartość pK_a oraz $\log P$, które są istotne z punktu widzenia farmakokinetyki oraz projektowania leków. Ponadto poruszone zostały kwestie związane ze stabilnością substancji czynnej. Istotną częścią pracy są rozdziały odnoszące się do technik chromatograficznych stosowanych w analizie i preparatyce środków leczniczych. Rozdział „Podsumowanie i wnioski” zwięźle prezentuje najważniejsze dokonania Autora z zakresu prowadzonych prac. W publikacji 1 (*Physicochemical evaluation of new tetrahydroacridine and iodobenzoic acid hybrids as the next step in the design of potential drugs for treating Alzheimer's disease*) ustalono, że miejsce wiązania atomu jodu w pierścieniu aromatycznym reszty kwasu jodobenzoowego jak i długość łańcucha węglowodorowego

(linkera diaminowego) mają istotne znaczenie dla wyznaczonej wartości pKa jak i logP. W badaniach zostały wykorzystane niepromieniotwórcze izotopy jodu. Wyznaczone eksperymentalnie wartości zwykle różniły się od obliczonych (wyjątek stanowią wartości pKa₁). Ponadto określona została stabilność chemiczna jednego ze związków. Uwzględniony został szeroki panel czynników mogących potencjalnie prowadzić do degradacji związku – hydroliza kwaśna i zasadowa, utlenianie, wpływ wysokiej temperatury i promieniowania UV. Co istotne, Doktorant chcąc zapewnić jak najwyższą jakość badań ilościowych i jakościowych przeprowadził walidację metody chromatograficznej zgodnie z wytycznymi Międzynarodowej Rady Harmonizacji Wymagań Technicznych dla Rejestracji Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi – ICH Q2 (R1). Niemniej jednak Doktorant nie uniknął błędów podczas przygotowywania artykułu. Podpis pod wzorami strukturalnymi w publikacji 1 wydaje się być nieprawidłowy, ponieważ związki z numeracją „3” jak i „2”, wg tego co jest zapisane, zawierają linker diaminowy o tej samej liczbie atomów węgla (3). Praca, do której odnoszą się badania (Skibiński et al. 2018) jak i opis wyników w tej samej publikacji, wskazują jednak na to, że związki te zawierały łączniki o różnej liczbie atomów węgla (od 2 do 4).

W publikacji nr 2 (*Thin-Layer Chromatography Gradient Optimization Strategy for Wet Load Adsorption Flash Chromatography*) Doktorant podjął się optymalizacji metody oczyszczania za pomocą chromatografii typu flash. W badaniach wykorzystano mieszaninę chlorowodorków takryny i tioridazyny oraz karbamazepinę ze względu na ich duże podobieństwo pod względem elucji. Wynikiem prac było potwierdzenie skuteczności stosowania techniki TLC do opracowywania warunków metody oczyszczania związków za pomocą chromatografii typu flash. Takie podejście pozwala na szybkie i skuteczne ustalenie warunków metody prowadzącej do zadowalającej separacji związków. Skuteczność i użyteczność tego podejścia została także zweryfikowana podczas oczyszczania związków z grupy tetrahydroakrydyn. Na uwagę zasługuje fakt, że Doktorant dokonał gruntownego przeglądu literatury w zakresie peptydów i przeciwciał znakowanych radioizotopami uwzględniając przy tym rodzaje ligandów (chelatorów). W rezultacie powstała publikacja przeglądowa (nr 3, *Radiolabeled Peptides and Antibodies in Medicine*), która odnosi się do najnowszych doniesień z dziedziny medycyny nuklearnej. W każdej z prac wchodzących

w skład rozprawy Doktorant jest autorem wiodącym co wskazuje na jego duży wkład w powstanie wszystkich publikacji.

Realizując poszczególne cele dysertacji, Doktorant wykazał się umiejętnością planowania badań i znajomością technik chromatograficznych, które właściwie wykorzystał. Przeprowadzone badania doprowadziły do uzyskania interesujących rezultatów, na podstawie których Doktorant wyciągnęła istotne wnioski. Za najbardziej doniosłe osiągnięcia niniejszej rozprawy uważam:

- Określenie wartości pKa i logP dla pochodnych tetrahydroakrydyn za pomocą techniki HPLC;
- Zbadanie stabilności chemicznej pochodnej tetrahydroakrydyny;
- Wykorzystanie techniki TLC do opracowania strategii optymalizacji doboru metody (obliczanie nachylenia gradientu) oczyszczania chromatograficznego typu flash.

Rezultatem prac jest poszerzenie zakresu wiedzy z danej dziedziny oraz uzasadnienie dla stosowania technik chromatograficznych w celu optymalizacji projektowania oraz otrzymywania nowych radiofarmaceutyków. W nawiązaniu do poruszanej w rozprawie tematyki, proszę Doktoranta o udzielenie odpowiedzi na następujące pytania:

- Jakie inne elementy poza uwzględnionymi w rozprawie wymagają optymalizacji zarówno podczas projektowania jak i otrzymywania nowych radiofarmaceutyków?
- Czy zastosowane w pracach badawczych związki można nazwać formalnie radiofarmaceutykami?

Stwierdzam, że przedłożona do recenzji dysertacja Pana mgr. Pawła Kręcisz pt. „Opracowanie metod chromatograficznych w optymalizacji projektowania oraz otrzymywania nowych radiofarmaceutyków”, spełnia wszystkie wymogi merytoryczne i formalne stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 z późn. zm.) z uwzględnieniem art. 179 ust. 1 i 2 ustawy

z dnia 3 lipca 2018 r. przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1669 z późn. zm.). W związku z tym wnoszę do Rady Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Pana mgr. farm. Pawła Kręciszka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Chemii Nieorganicznej

Kay
prof. dr hab. Wojciech Kamysz