



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra i Zakład Chemii Leków

dr hab. Piotr Świątek prof. uczelni

17.07.2023

OCENA

rozprawy doktorskiej mgr farm. Karoliny Maciejewskiej-Stupskiej pt. „Ocena nowych hybryd akrydyny w kierunku poszukiwania ligandów wielofunkcyjnych” wykonanej w Katedrze Chemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem prof. dr hab. Pawła Szymańskiego oraz dr Kamili Czarneckiej (promotor pomocniczy)

W przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej mgr farm. Karolina Maciejewska-Stupska podjęła tematykę poszukiwania nowych związków hybrydowych opartych na strukturach cyklopentachinoliny oraz akrydyny, które w przyszłości mogłyby stać się kandydatami na leki stosowane w hamowaniu objawów choroby Alzheimera. Schorzenie to stanowi główną przyczynę otępienia u osób starszych. Szacuje się, że około 13% populacji krajów wysoko rozwiniętych w wieku ponad 65 lat jest dotkniętych tą chorobą. W Polsce mamy ok. 350 tys. zdiagnozowanych przypadków a roczne koszty choroby Alzheimera przekraczają w kraju 11 miliardów złotych. Te statystyki wyraźnie wskazują na potrzebę skutecznej farmakoterapii. Obecnie prowadzone prace badawcze skupiają się przede wszystkim na próbach wdrożenia leczenia przyczynowego i dotyczą immunoterapii oraz eliminacji nadmiaru β -amyloidu z organizmu. Nie mniej istotne jest poszukiwanie substancji, które hamują bądź spowalniają postępujący deficyt poznawczy osób chorych. W ten nurt badawczy wpisuje się praca Pani Karoliny Maciejewskiej-Stupskiej.

Oceniana dysertacja ma formę 117 stronicowej monografii, w skład której wchodzi następujące rozdziały: Część teoretyczna, Cel pracy, Część praktyczna, Wyniki i dyskusja oraz Wnioski. Rozprawę uzupełniają: Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wykaz zastosowanych skrótów oraz Bibliografia.

Chciałbym w tym miejscu zauważyć, że dysertacja w całości oparta jest o jedną publikację pt. „Novel cyclopentaquinoline and acridine analogs as multifunctional, potent drug candidates in Alzheimer’s disease”, która ukazała się w maju 2022 r w International Journal of Molecular Sciences. Wprawdzie Doktorantka jest pierwszym autorem tej publikacji i do dysertacji zostały dołączone, na moją prośbę, oświadczenia współautorów to należy podkreślić, że w treści rozprawy nie ma ani jednej wzmianki na temat tego, że prezentowany materiał został w całości opublikowany. Również w Bibliografii próżno szukać ww. publikacji. Artykuł 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce mówi, że rozprawę doktorską może stanowić praca pisemna, w tym monografia naukowa, zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, praca projektowa, konstrukcyjna, technologiczna, wdrożeniowa lub artystyczna, a także samodzielna i wyodrębniona część pracy zbiorowej. Trudno moim zdaniem stwierdzić, które z tych kryteriów spełnia przedstawiona do oceny rozprawa doktorska.

W Części teoretycznej Doktorantka zamieściła informacje, dotyczące epidemiologii choroby Alzheimera, jej etiologii, diagnostyki oraz czynników ryzyka. W tym rozdziale zostały omówione także hipotezy rozwoju choroby Alzheimera oraz obecne sposoby leczenia a raczej hamowania jej postępu. Niestety zabrakło w tej części zagadnień o zakrojonych na szeroką skalę poszukiwaniach nowych związków oraz nowych celów molekularnych dla substancji, które w przyszłości mogłyby stać się skutecznymi lekami w terapii chorób otępiennych, w tym choroby Alzheimera. W mojej opinii niepotrzebny jest z kolei podrozdział 1.5, w którym Pani Karolina Maciejewska-Stupska przedstawiła dane o pochodnych akrydyny i chinoliny jako związkach o różnorodnych właściwościach biologicznych, które niestety nie potwierdzają tezy, że warto poszukiwać nowych leków przeciw chorobie Alzheimera wśród tego typu substancji oraz ich hybryd. Materiał zebrany w tej części pracy wskazuje na tylko częściowe rozeznanie Doktorantki w szeroko zakrojonej tematyce dotyczącej postępów w leczeniu choroby Alzheimera.

Cel ocenianej pracy doktorskiej wpisuje się w standardy poszukiwań nowych kandydatów na leki, obowiązujących w chemii medycznej i obejmuje syntezę, wyjaśnienie struktury otrzymanych produktów, wstępne badania aktywności biologicznej oraz badania *in silico*. Mimo, iż ogólna koncepcja zrealizowanych badań została zaplanowana prawidłowo, uważam, że jest ona mało ambitna, szczególnie w odniesieniu do syntezy organicznej. Doktorantka za cel obrała sobie syntezę tylko ośmiu związków, które różniły się wyłącznie długością środkowego łańcucha alifatycznego. Tak mała liczba nie zróżnicowanych strukturalnie związków w zasadzie wyklucza szerszą dyskusję na temat zależności między

strukturą i działaniem w serii otrzymanych pochodnych. Tej części pracy dotyczy też drobna uwaga redakcyjna. Formułując cel pracy użyto czasu przeszłego charakterystycznego raczej dla rozdziałów dotyczących dyskusji czy podsumowań uzyskanych wyników.

Następująca po Celu pracy Część praktyczna, która zawiera spis użytych odczynników, przepisy preparatywne, metodologię badań biologicznych oraz komputerowych nie budzi zastrzeżeń. Jedna uwaga dotyczy opisu syntezy związków 2a-h. Znajduje się w nim informacja o określeniu temperatur topnienia uzyskanych produktów. Tymczasem jak wynika z Tabeli 4, związki 2e-h miały postać oleju.

W obszernym rozdziale 4 pt. „Wyniki i dyskusja” Doktorantka zamieściła przetłumaczone na język polski wszystkie wyniki opublikowane w pracy z 2022 r. Dotyczą one syntezy, aktywności otrzymanych związków wobec AChE i BuChE, działania antyoksydacyjnego i hepatotoksycznego dwóch produktów oraz badań *in silico*. Niestety należy uznać, że otrzymane wyniki prezentują niski poziom oryginalności. Szczególnie dotyczy to syntezy oraz zastosowanych metod oceny aktywności biologicznej związków. Z rozprawy możemy dowiedzieć się, że zastosowany substrat 9-chloro-2,3-dihydro-1H-cyklopenta[b]chinolina został otrzymany wcześniej w Zakładzie Chemii Farmaceutycznej, Analizy Leków i Radiofarmacji UM w Łodzi. W odniesieniu do serii kluczowych półproduktów oznaczonych jako 1a-h podany jest opis syntezy co sugeruje, że są to związki nowe. Tymczasem synteza tych związków została opublikowana w 2012 roku (Int. J. Mol. Sci. 2012, 13, 10067-10090; doi:10.3390/ijms130810067), więc nie stanowi elementu nowości. Drugi i w zasadzie ostatni etap syntezy jest z kolei opublikowany w co najmniej kilkunastu wcześniejszych pracach Promotorów rozprawy doktorskiej. Jedyną nowością w stosunku do wcześniejszych publikacji jest zastosowanie kwasu 9-akrydynokarboksylowego jako substratu. Procedurę otrzymywania chlorowodorków związków 2a-h trudno z kolei nazwać trzecim etapem syntezy. Dodatkowa uwaga dotyczy braku wartości przesunięć chemicznych przyporządkowanych sygnałom protonów grup -NH- w Tabelach 5 i 7.

W odniesieniu do wyników badań biologicznych mam podobne zastrzeżenia do tych, sformułowanych w kontekście syntezy. Niestety zastosowana metodyka jest wcześniej wielokrotnie publikowana i nie wnosi istotnych elementów nowości. Ponadto, w świetle przedstawionych w Części teoretycznej informacji, że takryna jest inhibitorem zarówno AChE jak i BuChE, weryfikacji powinny zostać poddane uzyskane i przedstawione w Tabeli 8 dane. Wynika z nich, że takryna zastosowana w badaniach jako lek referencyjny jest selektywna wobec butyrylocholinesterazy i działa hamująco ponad 30-krotnie silniej niż w stosunku do AChE. Ponadto w Tabeli 8 Doktorantka podaje wartości selektywności wobec

AChE i BuChE. Uważam, że jest to niepotrzebne. Jeżeli związek jest selektywny wobec jednego z enzymów to nie może być jednocześnie selektywny wobec drugiego. Należałoby zastąpić podane dane określeniem indeksu selektywności (selectivity index), który uwzględnia aktywność wobec obu enzymów. Ponadto część, dotycząca badania hepatotoksyczności pochodnych 3b i 3f należałoby uzupełnić o wyniki dla stosowanej w innych badaniach jako referencji, takryny. Bez tych danych ciężko interpretować uzyskane wyniki.

W rozdziale 4.6 zostały szczegółowo opisane wyniki dokowania molekularnego, które miały na celu wyjaśnienie natury oddziaływań otrzymanych substancji z centrum aktywnym enzymów. Pomimo ograniczonej ilości związków udało się wykazać kluczową rolę długości łańcucha alkilowego w wiązaniu z AChE i BuChE, oraz ułożenia pierścieni akrydyny i cyklopentachinoliny względem siebie. Zidentyfikowano ponadto specyficzne reszty aminokwasowe biorące udział w oddziaływaniu między ligandem a miejscem wiążącym enzymu.

W rozdziale 4.7 Pani Karolina Maciejewska-Stupska przedstawiła wyniki analizy komputerowej parametrów farmakokinetycznych związków 3a-h. Jak można zauważyć są one dość niejednolite co jest konsekwencją różnicy w długości łańcucha węglowego w poszczególnych produktach. Niezrozumiałym jest dla mnie opis parametrów toksykologicznych otrzymanych połączeń. Z jednej strony są informacje, że związki są nietoksyczne, z drugiej natomiast jest podana informacja o ponad 50% prawdopodobieństwie wywoływania efektu mutagennego i immunotoksycznego niektórych z nich.

We Wnioskach Doktorantka wskazała związek 3b jako ten, który ma największy potencjał jako substancja o wielokierunkowym działaniu, możliwym do wykorzystania w terapii choroby Alzheimerera.

Podsumowując i biorąc pod uwagę powyższą analizę, z przykrością muszę stwierdzić, że oceniana rozprawa doktorska Pani mgr Karoliny Maciejewskiej-Stupskiej prezentuje niski poziom naukowy. Nie stanowi oryginalnego rozwiązania problemu naukowego. W wielu miejscach wykorzystuje dane już wcześniej ujawnione a dodatkowo zawiera wyłącznie wyniki zamieszczone w publikacji z 2022 r. Powoduje to problem w ocenie, czy Doktorantka posiada umiejętność prowadzenia samodzielnej pracy naukowej.

Reasumując, stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska nie spełnia warunków określonych w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce i wnioskuję o niedopuszczenie mgr Karoliny Maciejewskiej-Stupskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

P. Stężycki