



93-232 Łódź  
ul. Lodowa 106

tel.: 042 2723633  
fax.: 042 2723630

NIP: 982-03-52-085  
REGON: 100492431

Zaopatrzenie  
tel.: 042 2723600

Łódź, 23 kwietnia 2024 r.

dr hab. Agnieszka B. Olejniczak, prof. IBM PAN  
Instytut Biologii Medycznej PAN  
ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź,  
tel. 42-272-36-37  
e-mail: [aolejniczak@cbm.pan.pl](mailto:aolejniczak@cbm.pan.pl)

## RECENZJA

**pracy doktorskiej mgr farm. Marii Podsiedlik  
pt. "Wpływ wybranych leków przeciwpsychotycznych na biochemiczne aspekty choroby Alzheimera"  
przedstawiona Radzie Nauk Farmaceutycznych Wydziału Farmaceutycznego  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi**

Recenzowana rozprawa doktorska mgr farm. Marii Podsiedlik została wykonana i przygotowana w Katedrze Chemii Medycznej, Zakładzie Chemii Bionieorganicznej, Wydziału Farmaceutycznego, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Promotorem tej pracy jest dr hab. n. med. Joanna Sikora, prof. uczelni, a promotorem pomocniczym dr hab. n. farm. Magdalena Markowicz-Piasecka, prof. uczelni.

Praca została przygotowana w sposób tradycyjny, w formie 238-stronicowej rozprawy (wraz z załącznikami), na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne. Składa się ona z następujących części: teoretycznej, badawczej zawierającej opis materiałów, metod i wyników. Następnie w pracy znajduje się podsumowanie wyników i próba oceny zależności aktywności badanych leków przeciwpsychotycznych od ich struktury chemicznej jak również dyskusja wyników oraz powstałe po analizie wyników wnioski. Pracę uzupełnia wykaz skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, cytowane piśmiennictwo, spis rysunków, tabel, wykresów i zestawienie aktualnego dorobku Doktorantki.

Cześć teoretyczna pracy (czterdzieści trzy strony) wprowadza w zagadnienia związane z chorobą Alzheimera (AD) - chorobę zwyrodnieniową mózgu, klinicznie objawiającą się zaburzeniami pamięci i innymi funkcjami poznawczymi, głównie dotyczącą osób w wieku podeszłym. Biorąc pod uwagę epidemiologię, na świecie choruje na nią 15-25 mln ludzi, natomiast w Polsce ok. 500 tysięcy. Poszukiwanie nowych substancji aktywnych, nowych leków na AD jest ogromnym wyzwaniem naukowym, ale i społecznym.

Doktorantka kompleksowo podeszła do omówienia zagadnień związanych z AD rozpoczynając od przedstawienia danych epidemiologicznych, następnie aspektów zdrowotnych, diagnostyki jak również



patologicznych podstaw powstania choroby. W sposób kompetentny opisała hipotezy związane z przyczynami i rozwojem tej jednostki chorobowej (hipoteza cholinergiczna, teoria amyloidowa, teoria białka *tau*, wpływ stresu oksydacyjnego). Następnie mgr M. Podsiedlik omawia zagadnienia związane z rozwojem nowych leków w kontekście wcześniej omówionych hipotez powstawania tej choroby. Ważnymi podrozdziałami związanymi z pracą doktorską są omówione zastosowania leków przeciwpsychotycznych w leczeniu AD oraz koncepcji i strategii związanych z repozycjonowaniem leków. W sposób kompleksowy wprowadzają one w dalsze zagadnienia związane z pracą, ale przede wszystkim jednoznacznie przekonują czytelnika co do ważności podjętego tematu. Chciałabym zachęcić Doktorantkę do przekształcenia tej części pracy doktorskiej, w materiał pracy przeglądowej, dla studentów, w przyszłości.

Założenia i cel pracy zostały przedstawione na trzech stronach. Ta część pracy wg recenzenta jest zbyt długa, gdyż w pierwszym akapicie Doktorantka ponownie umieściła informacje związane z AD chociaż zostały one wcześniej przedstawione w części teoretycznej. Również informacje związane z wynikami badań *in silico* w kontekście zastosowania leków przeciwpsychotycznych w leczeniu AD dobrze wpisywałyby się w podrozdział związany z repozycjonowaniem leków. Cele szczegółowe pracy natomiast zostały zawarte w punktach, zwięźle, czytelnie i uzasadniają celowość zaplanowanych badań, ich wpływ na rozwój i poszerzenie wiedzy związanej z potencjalnym zastosowaniem leków przeciwpsychotycznych w leczeniu AD. Aby uzyskać wyznaczony końcowy cel Doktorantka założyła realizację pięciu zadań badawczych takich jak 1. Ocena stopnia hamowania aktywności ludzkich AChE i BuChE przez badane związki oraz wyznaczenie wartości stężenia hamującego aktywność enzymów w 50%; 2. Wyznaczenie parametrów kinetycznych reakcji enzymatycznych i wskazanie typu inhibicji; 3. Ocena potencjalnego synergizmu badanych substancji z donepezilem/rywastygminą w stosunku do AChE i BuChE oraz komputerowa symulacja synergizmu i antagonizmu badanych leków z wykorzystaniem programu CompuSyn; 4. Określenie wpływu badanych leków na agregację A $\beta$ ; 5. Ocena potencjału oksydacyjnego analizowanych związków w warunkach indukowanego stresu oksydacyjnego badanego w erytrocytarnym oraz komórkowym modelu *in vitro*.

W rozdziale Część badawcza Doktorantka zawarła szczegółową charakterystykę materiałów i odczynników (należy pochwalić zamieszczenie pełnych nazw chemicznych badanych związków co się nieczęsto już nawet zdarza w rozprawach doktorskich w dyscyplinie nauk chemicznych), dokładne opisy przeprowadzonych doświadczeń oraz walidację zastosowanych testów. Badania zostały zaplanowane



93-232 Łódź  
ul. Lodowa 106

tel.: 042 2723633  
fax.: 042 2723630

NIP: 982-03-52-085  
REGON: 100492431

Zaopatrzenie  
tel.: 042 2723600

prawidłowo i wykonane z wykorzystaniem odpowiednich metod i technik badawczych. Ta część rozprawy jest zredagowana poprawnie, obejmuje niezbędne szczegóły do powtórzenia opisanych tam eksperymentów. Wsparta jest dwudziestoma sześcioma tabelami, zawierającymi np. dokładny skład prób kontrolnych czy też badanych oraz trzema rysunkami. Chciałabym jednak zwrócić uwagę na słabą jakość rysunków przedstawiających badane związki, są one zbyt małe co utrudnia porównywanie struktur. Zwracam również uwagę na poprawność zapisu nazw związków chemicznych – symbol atomu azotu, tlenu, do którego przyłączony jest podstawnik zapisuje się kursywą. Ponadto w opisach związanych z przygotowaniem roztworów badanych związków należy podać końcowe stężenie rozpuszczalnika użytego do przygotowania roztworu związku chemicznego ze względu na pracę z materiałem biologicznym i potencjalnym wpływ tego rozpuszczalnika na składniki biologiczne. Również pewną niedogodnością w opisach roztworów badanych związków było podawanie ich stężenia w  $\mu\text{g/L}$  bądź  $\mu\text{mol/L}$  (np. kwetiapiny fumaran, donepezilu chlorowoderek), jednostki te powinny być ujednolicone dla wszystkich substancji. Nie znalazłam informacji o programie obliczeniowym z pomocą którego opracowano dane statystyczne.

Wyniki przeprowadzonych prac doświadczalnych (odpowiednia zgoda Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, RNN/278/19/KE) zostały również zawarte w rozdziale Cześć badawcza, na pięćdziesięciu dwóch stronach. To obszerna część rozprawy, bogata w dane liczbowe, która została przedstawiona skrupulatnie, w większości z wykorzystaniem czytelnych i edytorsko dopracowanych wykresów słupkowych (ze względu na ilość badanych związków, w kilku zakresach stężeń). Taki sposób prezentacji znacznie ułatwia śledzenie i porównywanie otrzymanych wyników. Mgr M. Podsiedlik przedstawia wyniki zgodnie z kolejnością badań zaproponowanych w szczegółowych celach badawczych. Ze względu na dużą zawartość danych liczbowych bardzo dobrym pomysłem było przygotowanie podsumowania uzyskanych wyników wraz z próbą oceny zależności aktywności analizowanych związków przeciwpsychotycznych od ich struktury chemicznej, w formie opisowej jak i tabelarycznej (Tabela 46). Wśród otrzymanych najważniejszych wyników doświadczalnych należy wymienić: 1. Promazyna i kwetiapina były najlepszymi inhibitorami aktywności ChE, 2. Promazyna wykazała najsilniejszy synergizm ze związkiem wzorcowym – donepezilem, obniżając  $\text{IC}_{50}$  wobec BuChE o prawie 65%; 3. Analiza mieszanin leku przeciwpsychotycznego ze związkiem wzorcowym rywastygminą wykazała, że największy wpływ na hamowanie inhibicji AChE ma kombinacja z pimozydem; 4. Najsilniejszą inhibicję procesu agregacji  $\text{A}\beta$ , w przedziale czasowym 10-60 min. i 90 min. zarejestrowano dla promazyny, po 24 godzinach inkubacji zarejestrowano dla benperidolu (w stężeniu 10



$\mu\text{g/L}$ ) natomiast po 48 godzinach inkubacji odnotowano dla bromperidolu i promazyny; 5. Kwetiapina w stężeniu  $80 \mu\text{g/L}$  wykazała ochronne działanie wobec błon białkowo-lipidowych erytrocytów i spowodowała statystycznie istotny spadek hemolizy o 23,92% w porównaniu z kontrolą AAPH, która wyniosła 53,40%; 6. Kwetiapina i promazyna spowodowały spadek tworzenie methemoglobiny z AAPH (dla kwetiapiny w stężeniu 80 i  $400 \mu\text{g/L}$ , po 5 godzinach; dla promazyny w stężeniu 10 i  $50 \mu\text{g/L}$ , po 24 godzinach); 7. Wykazano ochronną rolę badanych związków na żywotność komórek linii HUVEC w warunkach stresu oksydacyjnego, w przypadku hodowli astrocytów taką aktywność posiadały benperidol (5 i  $10 \mu\text{g/L}$ ), penfluridol ( $12,5 \mu\text{g/L}$ ), pimozyd ( $15 \mu\text{g/L}$ ), promazyna (25 i  $50 \mu\text{g/L}$ ). Podsumowując, wśród badanych związków swoją aktywnością wyróżniły się kwetiapina, promazyna oraz bromperidol. Wygenerowane wyniki zostały omówione w rozdziale zat. Dyskusja wyników. Doktorantka w tej dobrze przygotowanej części rozprawy zinterpretowała wyniki w oparciu o najnowsze doniesienia literaturowe.

W nawiązaniu do wyników i dyskusji nasunęły mi się następujące pytania:

1. Czy została sprawdzona stabilność chemiczna badanych związków w warunkach prowadzonych doświadczeń (stosowane bufony, zróżnicowany czas prowadzonych doświadczeń)?
2. Czy rzeczywiście za aktywność kwetiapiny i promazyny odpowiada obecność atomów siarki i azotu w płaskiej, trójcyklicznej strukturze? Być może obecność samego układu policyklicznego (pochodne takich struktur charakteryzują się szeroką aktywnością biologiczną) byłaby wystarczająca w kontekście przeprowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej badań?
3. Biorąc pod uwagę, że bromperidol jest aktywniejszy niż haloperidol czy można zakładać, że trifluperidol byłby bardziej aktywny niż bromperidol? Czy związek ten był rozważany w badaniach *in silico*?
4. Co Doktorantka miała na myśli pisząc o „...wyczerpaniu się właściwości antyoksydacyjnych AA oraz badanych związków”? (strona 148).

Proszę o ustosunkowanie się do tych pytań podczas publicznej obrony pracy doktorskiej.

Rozprawa podsumowana jest ogólnymi wnioskami. Uważam, że brakuje jeszcze jednego punktu w tej części, który wskazywałby na struktury wiodące typowane przez Doktorantkę do dalszych badań i rozwoju, np. badań na zwierzętach.

Bibliografia cytowana w pracy obejmuje 325 pozycji, w tym 10 pozycji w języku polskim, natomiast 17 pozycji odnosi się do stron internetowych, pozostałe pozycje to prace anglojęzyczne. Wszystkie publikacje zostały prawidłowo dobrane i zacytowane. Wykorzystane w pracy prawie wszystkie skróty zebrano w Wykazie skrótów, w porządku alfabetycznym, z podaniem ich nazw w językach



angielskim i polskim. Uzupełnieniem rozprawy jest Spis rysunków, tabel i wykresów – Doktorantka przygotowała trzynaście rysunków, czterdzieści siedem tabel i czterdzieści dwa wykresy.

Do rozprawy załączony został również aktualny dorobek naukowy mgr M. Podsiedlik. Sumarycznie jest to piętnaście publikacji. Praca w *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, 23(9):4621 zat. *The influence of selected antipsychotic drugs on biochemical aspects of Alzheimer's disease* zawiera część danych i wyników rozprawy doktorskiej. Na podkreślenie zasługuje fakt, że mgr M. Podsiedlik jest jej autorem korespondującym (udział Doktorantki w tej pracy został oszacowany na 70%). Pozostały dorobek obejmuje sześć publikacji anglojęzycznych, w dwóch z nich M. Podsiedlik jest pierwszą autorką. Pozostałe prace to publikacje przeglądowe w czasopiśmie *Farmakoekonomika Szpitalna*; ich jedyną autorką jest Doktorantka. Dorobek naukowy obejmuje również trzy krajowe doniesienia konferencyjne, w latach 2019-2021. Mgr M. Podsiedlik była kierownikiem projektu finansowanego przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi zat. *W poszukiwaniu nowych proleków metforminy. Badania in vitro – biogodność, farmakokinetyka*. Biorąc pod uwagę powyższe informacje wymieniony dorobek naukowy Doktorantki oceniam na bardzo dobry.

Praca napisana jest starannie, poprawnym językiem, z dbałością o jej formę graficzną. Doktorantka nie uniknęła błędów literowych, ale biorąc pod uwagę objętość pracy jest ich bardzo niewiele. Pojawiły się też drobne nieścisłości w zapisie słów np. *in vitro* - kursywą lub nie. Wymienione niedoskonałości nie mają wpływu na całkowitą wysoką ocenę pracy doktorskiej.

## Podsumowanie

Wyniki zamieszczone w rozprawie doktorskiej mgr Marii Podsiedlik zat. *Wpływ wybranych leków przeciwpsychotycznych na biochemiczne aspekty choroby Alzheimera* wnoszą wiele nowych informacji o potencjalnym zastosowaniu związków przeciwpsychotycznych u pacjentów ze zdiagnozowanym AD. Praca ta stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, dowodzi posiadania wiedzy teoretycznej w dyscyplinie nauki farmaceutycznej oraz umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, spełniając w pełni formalne i merytoryczne warunki stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.). W związku z tym wnoszę do Wysokiej Rady Nauk Farmaceutycznych, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr Marii Podsiedlik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Podpis jest prawidłowy

Dokument podpisany przez  
Agnieszka Ogińska  
Data: 2024.04.24 10:43:25 CEST