



RECENZJA

**rozprawy doktorskiej pt. „Kompleksy inkluzyjne diaminopochodnych
cyklodekstryn z biologicznie aktywnymi związkami pochodzenia roślinnego
i wybranymi lekami”**

wykonanej przez lek. med. Iwonę Popiołek

**pod kierunkiem promotora: prof. dr. hab. Krzysztof Szczubiałkę
w Zakładzie Chemii Fizycznej i Elektrochemii w Zespole Nanotechnologii
Polimerów i Biomateriałów**

Przedstawiona do recenzji praca traktuje o otrzymywaniu układów związków aktywnych biologicznie/farmakologicznie z zmodyfikowanymi cyklodekstrynami, potwierdzeniu tożsamości tych układów oraz konsekwencji ich tworzenia w odniesieniu do zmian właściwości fizycznych i biologicznych badanych związków aktywnych.

Zaprezentowane przez Doktorantkę część teoretyczna, przebieg prac badawczych i otrzymane wyniki mają charakter typowy dla opracowania monografii na stopień doktora. Doktorantka na 169 stronach opracowania zamieściła: (i) wstęp będący częścią teoretyczną pracy, zawierający podstawowe wiadomości o charakterystyce budowy cyklodekstryn, profilach działania związków aktywnych oraz przebiegu wybranych badań biofarmaceutycznych, (ii) cel, który został krótko, ale jasno zdefiniowany, (iii) opis przebiegu eksperymentów, dobrze udokumentowanych, (iv) podsumowanie i wnioski oraz (v) materiały i metody badań. Uzupełnieniem prezentacji jest zestawienie rycin, równań, wybranych wyników prezentujących dane pierwotne oraz spis odpowiednio dobranej literatury.

Jako modelowe związki wykazujące aktywność biologiczną, Doktorantka wybrała związki pochodzenia roślinnego z grupy flawonoidów (genisteinę, daidzeinę, kwercetynę), z grupa alkaloidów (berberinę), pochodzące z królestwa grzybów (molizynę) oraz związki otrzymywane syntetycznie (aripirazol, bikulutamid). Wspólnym ograniczeniem w stosowaniu terapeutycznym związków modelowych jest ich słaba rozpuszczalność. Zgodnie z klasyfikacją BCS (*ang. Biopharmaceutics Classification System*), rozpuszczalność to kluczowy parametr determinujący biodostępność związków aktywnych biologicznie, a zatem siłę ich farmakologicznego działania. Wśród metod poprawy rozpuszczalności słabo rozpuszczalnych związków popularnym postępowaniem jest łączenie ich z solubilizatorami. Zaproponowane przez Doktorantkę postępowanie wpisuje się w trend badań nad farmaceutykami w kierunku poprawy ich rozpuszczalności i posiada znaczny potencjał aplikacyjny, mając na uwadze fakty, że do 80% innowacyjnych aktywnych farmaceutycznie związków jest słabo rozpuszczalnych w wodzie. Zaproponowana synteza diaminopochodnych cyklodestryn jest godna podziwu w odniesieniu do celowości podjętych działań, zaplanowania ich przebiegu, zastosowania odpowiednich technik analitycznych (analiza elementarna, miareczkowanie potencjometryczne, analiza widm FT-IR, H^1 -NMR). Właściwie też zostały przeprowadzone badania funkcjonalności zsyntetyzowanych nośników cyklodestrynowych: ocena mukoadhezji, zdolność do kompleksowania jonów miedzi, odporność na działanie α -amylazy, ocena właściwości aktywności biologicznej (wpływ na proliferację wybranych linii komórkowych zdrowych i z ekspresją nadmiernych podziałów).

Dobrym wprowadzeniem do prezentacji wyników eksperymentalnych jest część teoretyczna pracy – wstęp, gdzie Doktorantka analizuje chemizm cyklodestryn, specyfikę tworzenia kompleksów inkluzyjnych, ale także podsumowuje aktualny stan badań nad działaniem biologicznym związków modelowych.

Kolejne etapy prac eksperymentalnych obejmowały otrzymywanie układów zmodyfikowanych kationowo cyklodestryn z daidzeiną, genisteiną, kwercetyną, berberyną, molizyną, bikulamidem, aripirazolem. Każdy z zaprezentowanych etapów prac badawczych charakteryzował się nieco innym profilem przeprowadzonych badań. Cyklodestrynowe układy daidzeiny były analizowane pod kątem modyfikacji jej rozpuszczalności w szerokim zakresie pH, wyznaczenia jej udziału w otrzymywanych układach. Co warto podkreślić, do charakterystyki układów cyklodestrynowych, zostały zastosowane analizy widm UV-VIS dichroizmu kołowego, stanowi to właściwe podejście, jakkolwiek rzadkie. Efekt inkluzji



daidzeiny w struktury zmodyfikowanych cyklodestryn był oceniony poprzez analizę przenikania przez systemy błon sztucznych modelu PAMPA, pozwalające na ocenę przenikania związków aktywnych uwarunkowaną dynamiką różnic stężeń na drodze dyfuzji biernej. Uzupełnieniem charakterystyki zmian właściwości fizycznych daidzeiny były badania jej wpływu na linie wybranych komórek nowotworowych. Badania tożsamości zmodyfikowanych układów cyklodestrynowych dla genisteiny i kwercetyny były profilowo spójne z tymi zaprezentowanymi dla daidzeiny, jakkolwiek potwierdziły jak niewielkie zmiany w budowie chemicznej związków aktywnych mogą zmieniać ich oddziaływanie w obrębie kompleksów inkluzyjnych oraz implikować różne nasilenie efektów zmian właściwości fizycznych i biologicznych. Uzupełnieniem tej części badań, dla związków z grupy flawonoidów była ocena cytotoksyczności spreparowanych układów cyklodestrynowych daidzeiny, genisteiny, kwercetyny wobec zdefiniowanych modeli komórkowych.

Mając na uwadze, profil aktywności farmakologicznego berberyny, Doktorantka badała jej układy z zmodyfikowanymi cyklodestrynami w kierunku wyznaczenia stałych kompleksowania, zmian w widmach UV-Vis dichroizmu kołowego, przenikania przez układy błon, wpływu na metabolizm i proliferację linii komórek prawidłowych i nowotworowych, ale także w obszarze wyznaczania potencjału antyoksydacyjnego oraz wpływu na metabolizm glukozy.

Badania zmodyfikowanych układów cyklodestrynowych molizyny obejmowały ocenę zmian rozpuszczalności po skompleksowaniu oraz wpływu na zdrowe i nowotworowe komórki, celem zdefiniowania toksyczności.

Jako ostatnie z prac eksperymentalnych, Doktorantka zaprezentowała zmianę rozpuszczalności związków aktywnych otrzymywanych syntetycznie jako efekt utworzenia kompleksów inkluzyjnych.

Po części eksperymentalnej, Doktorantka zestawiała najważniejsze wnioski. Zostały one skonstruowane prawidłowo w odniesieniu do uzyskanych wyników prac eksperymentalnych, w obszarze badań nad syntezą diaminopochodnych cyklodestryn, oceny zmian rozpuszczalności związków modelowych jako następstwa tworzenia kompleksów inkluzyjnych z ich udziałem, poszukiwania nowych profili działania terapeutycznego dla związków modelowych.

W przedstawionej do recenzji pracy, nie znajdujemy typowej dyskusji wyników jako oddzielnie wydzielonego obszaru. Co jednak, należy zaznaczyć Doktoranta, podjęła dyskusję

nad otrzymanymi wynikami badań eksperymentalnych oraz dokonała ich porównywania względem siebie i danych literaturowych jako integralnej części dla każdego z profili zaprezentowanych badań kolejnych związków modelowych.

Podsumowując, uważam, że w efekcie przeprowadzonych badań Doktorantka uzyskała dwa znaczące osiągnięcia: (1) zaplanowana i przeprowadziła syntezę wartościowych nośników diaminopochodnych cyklodestrynowych, które posiadają znaczący potencjał modyfikowania rozpuszczalności trudno rozpuszczalnych związków aktywnych biologicznie, wraz ze znaczną funkcjonalnością w zakresie rozszerzania właściwości istotnych z punktu widzenia rozwoju farmaceutycznego przyszłych postaci leków (2) udowodniła, że układy dostarczania oparte na zastosowaniu jako nośników diaminopochodnych cyklodestryn stanowią cenne studium badań nad możliwością modyfikacji rozpuszczalności i działania biologicznej uzwiązków, które zostały w niniejszej pracy zastosowane jako modelowe.

Zaplanowany zakres badań, użyte narzędzia analityczne oraz dobrane modele biologiczne dowodzą znaczącego zaangażowania Doktorantki, znacznej wiedzy oraz pracowitości. Holistyczne podejście do charakterystyki układów dostarczania związków słabo rozpuszczalnych realizowane przez zespół Pana Prof. Szczubiałki Chemików dowodzi ponad dyscyplinowanego zorientowania naukowego, co przekłada się na najwyższy poziom jakości prowadzonych badań naukowych. Takie kompleksowe podejście, jak zostało zaprezentowane w niniejszej pracy, obejmujące wszystkie obszary rozwoju układu dostarczania substancji aktywnej biologicznie jest jeszcze rzadkie w realiach polskich zespołów badawczych, a w przypadku przedstawionego scenariusza badawczego wymaga wyróżnienia (!).

Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na pewne niespójności nomenklaturowe: pojęcie „substancji aktywnej” nie może być utożsamiane z pojęciem „leku”. Nazwa „lek” powinna być zarezerwowana dla postaci farmaceutycznej. Proszę też o odpowiedź – co stanowiło kryterium wyboru linii komórkowych w badaniach oceny działania nowych pochodnych cyklodestrynowych?

Odnosząc się do walorów poznawczych niniejszego opracowania, zaprezentowanych elementów nowości i aplikacyjności dla otrzymanych wyników oraz także odpowiedniej jakości raportowania wyników, ich dyskusji oraz doboru literatury wnoszę do Wysokiej Rady

Dyscypliny Nauk Chemicznych Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pani lek. med. Iwony Popiołek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, z uwagi na powyższe walory przedstawionej do recenzji pracy, zwracam się z prośbą o wyróżnienie opracowania w odniesieniu do przede wszystkim argumentów innowacyjności i ponad dziedzinowego podejścia do realizacji zaplanowanych zadań badawczych

Poznań 2 czerwca, 2021 r.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Farmakognozji


prof. dr hab. Judyta Cielecka-Piontek

Judyta Cielecka-Piontek