

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Adama Edwarda Sikory
pt. „**Rozdział kinetyczny racemicznych form leków beta-adrenolitycznych
z wykorzystaniem lipaz jako enancjoselektywnych biokatalizatorów**”

Przedstawiona do recenzji praca została wykonana w Katedrze i Zakładzie Chemii Leków Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy. Promotorem pracy jest prof. dr hab. Michał P. Marszałł, a promotorem pomocniczym dr n. farm. Tomasz Siódmiak.

Praca doktorska dotyczy optymalizacji kinetycznego rozdziału (*R,S*)-atenololu z zastosowaniem lipaz pełniących funkcję enancjoselektywnych biokatalizatorów w formie wolnej oraz immobilizowanej. Ponadto Doktorant wykonał ocenę ich aktywności katalitycznej oraz opracował metodę jednoczesnego oznaczenia substratów oraz produktów enancjoselektywnej biotransformacji przy zastosowaniu chromatografii typu UPLC-MS/MS. Cel pracy został określony zwięźle i trafnie, jest również spójny z tytułem dysertacji.

Historia farmacji, medycyny pokazuje jak wiele aspektów fizykochemicznych i biologicznych ma wpływ na działanie leków. Jednym z parametrów jest chiralność, która od dziesięcioleci sprawia problemy. Z pozoru ta sama substancja pod względem chemicznym, ale posiadająca centrum chiralne może mieć różne właściwości farmakologiczne. W przypadku różnych leków obserwuje się znaczne różnice w farmakokinetyce, farmakodynamice czy nawet toksyczności leków. Czasami różnice te są niewielkie. Wiele obecnie stosowanych leków takich jak cetyryzyna, ibuprofen czy ketoprofen jest w postaci racemicznej. W zależności od właściwości biologicznych poszczególnych izomerów istnieje bardzo często konieczność oczyszczania i rozdzielania związków. W tym zakresie szuka się metod, które w sposób szybki a przede wszystkim wydajny są w stanie rozdzielić mieszaninę racemiczną. Zazwyczaj sprawia to problem natury technicznej jak i później analitycznej. Dlatego też należy podkreślić bardzo duże znaczenie przedstawionej do recenzji pracy i jej wpływu nie tylko na naukę ale również ukierunkowuje działy badawczo-rozwojowe firm farmaceutycznych do potencjalnego wdrożenia zaprezentowanych metod.

Recenzowana praca doktorska ma układ spójnego tematycznie zbioru czterech publikacji naukowych z załączonymi oświadczeniami współautorów i komentarzem Doktoranta do każdej z nich. Trzy publikacje są oryginalne w których doktorant jest pierwszym autorem oraz jedna jest publikacją przeglądową. Jest to zgodne z art. 13 ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym, ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz o zmianie niektórych innych ustaw.” Artykuły opublikowano przede wszystkim w recenzowanych czasopismach z Listy Filadelfijskiej o łącznym współczynniku oddziaływania 2,915. Zbiór publikacji umiejscowiony jest w dysertacji w miejscu gdzie zwykle opisane są badania własne doktoranta wraz z wynikami i dyskusją. Poprzedza je część opisowa licząca 12

stron tekstu. Zawiera ona „Wykaz skrótów”, krótkie wprowadzenie do tematu oraz „Cel” pracy”.

We wstępie Doktorant w sposób niezwykle klarowny opisuje zagadnienia związane z metodami rozdziału pozwalającymi na uzyskanie optycznie czystych związków. Jednak skupił się tylko na rozdziale kinetycznym, który i tak jest opisany w załączonej publikacji przeglądowej. Ciekawą opcją byłoby przytoczenie i opisanie również pozostałych metod rozdziału związków chiralnych.

Cel pracy został przedstawiony na stronie 18. Został on zaprezentowany w sposób precyzyjny. Należy podkreślić, że Doktorant jednocześnie określił etapy realizacji tego celu jako poszczególne zadania badawcze co oznacza, że jego praca była przemyślana. Realizował ją etapami, konsekwentnie co stanowi dowód na dojrzałość naukową Doktoranta.

W ramach prowadzonych badań Doktorant podjął się rozdziału racemicznej mieszaniny (*R,S*)-atenololu. Wykorzystał do tego lipazy z *Candida rugosa* w formie wolnej oraz imobilizowanej. ocenił on również ich aktywności katalityczną. Co jest warte zauważenia Doktorant realizował cel stopniowo w sposób uporządkowany.

W pierwszym etapie pracy doświadczalnej mgr Adam Sikora opracował i zoptymalizował rozdział kinetyczny (*R,S*)-atenololu z zastosowaniem dwóch izoform lipaz w rozpuszczalnikach organicznych W celu optymalizacji rozdziału chromatograficznego typu UPLC-MS/MS. Doktorant użył sześciu różnych faz chiralnych. Wyniki badań przeprowadzonych przez doktoranta potwierdziły, że komercyjnie dostępne lipazy różnie wpływają na efektywność rozdziału kinetycznego mieszaniny racemicznej atenololu. Ponadto wykazał, że rodzaj zastosowanego białkowego katalizatora, a także stężenie i typ donora grupy acetylowej oraz środowisko reakcji mają znaczący wpływ na wydajność systemu katalitycznego. Otrzymane wyniki były znaczące dla realizacji podstawowego celu badawczego i pozwoliły na dalsze prace.

W kolejnym etapie badań doktorant wykorzystał wcześniej uzyskany octan (*S*)-atenololu o wysokiej czystości enancjomerycznej i dokonał immobilizacji dwóch izoform lipaz z *Candida rugosa* na sześciu nowo zsyntetyzowanych magnetycznych nanomateriałach. Wybrane immobilizaty wykorzystał następnie w reakcji enancjoselektywnej acetylacji racemicznego atenololu.

Wykorzystanie superparamagnetycznych nanocząsteczek żelaza było nowatorskim rozwiązaniem i świadczy o otwartości doktoranta do podejmowania wyzwań oraz poszukiwania nowych rozwiązań. Następnie prowadzone przez Doktoranta badania potwierdziły większą aktywność katalityczną białkowego katalizatora, a użycie magnetycznych nanocząstek (o właściwościach paramagnetycznych) umożliwiło łatwe odseparowanie związanej lipazy ze środowiska reakcji oraz ponowne wykorzystanie jej w kolejnych cyklach katalitycznych. Daje to obraz prowadzenia badań w sposób przemyślany realizowany z ukierunkowaniem na realizację założonych celów, szukanie nowych ponadstandardowych rozwiązań stawia prowadzone przez niego badania na bardzo wysokim poziomie.

Podsumowując, rozprawa doktorska jest przygotowana starannie. Poza publikacjami zawiera wszystkie oświadczenia współautorów z których wynika, że Doktorant Adam Edward Sikora posiada wiodący wkład przy planowaniu i wykonywaniu badań oraz przy przygotowywaniu publikacji.

Temat podjęty przez doktoranta jest nowatorski i łączy w sobie zarówno klasyczne podejście do technik analitycznych jak i wykracza poza utarte szablony klasycznej farmacji. Łączy w sobie techniki separacji związków chiralnych metodami enzymatycznymi przy uwzględnieniu zagadnień związanych z nanotechnologią i tzw. „zieloną chemią”. Uzyskane wyniki mają wartość nie tylko poznawczą, ale mogą posłużyć jako wskazówki przy produkcji czystych chiralnie leków.

Doktorant przygotowując rozprawę doktorską wykazał się ponad przeciętnymi zdolnościami. Potrafił zaplanować i zrealizować szeroki zestaw badań oraz doświadczeń obejmujący praktycznie cały obszar nauk farmaceutycznych. Wykonane przez niego doświadczenia obejmowały elementy syntezy, identyfikacji struktur, analizy ich oraz wykonanie badań biologicznych. Należy również podkreślić, że doktorant sięga po nowe zdobycze nauki jakimi są elementy nanotechnologii. Sposób interpretacji wyników przez niego i sformułowania wniosków zarówno w publikacjach jak i w polskim komentarzu do publikacji i streszczeniach świadczą o dużej dojrzałości badawczej i jego multidyscyplinarnym podejściu do nauki.

Przygotowana dysertacja w pełni spełnia warunki określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14.03.2003 z późniejszymi zmianami (Dz. U. nr 65 poz. 595) jak również w rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 3.10.2014.

Tym samym wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy o dopuszczenie mgr Adama Edwarda Sikorę do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wnioskuję o wyróżnienie przygotowanej przez Pana magistra rozprawy doktorskiej.

KIEROWNIK
Pracowni Radiofarmacji
Zakładu Chemii Farmaceutycznej, Analizy Leków i Radiofarmacji
Katedry Chemii Farmaceutycznej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi


Prof. dr hab. n. farm. Paweł Szymański