

Prof. dr hab. Zbigniew Szewczuk  
Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski  
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław  
e-mail: zbigniew.szewczuk@chem.uni.wroc.pl  
tel.: 713757212

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Adamskiej-Bartłomiejczyk zatytułowanej  
„Projektowanie, synteza i badanie właściwości farmakologicznych nowych analogów  
peptydów opioidowych”

Morfina jest jednym z najsilniejszych analgetyków pozwalającym skutecznie nieść ulgę choremu cierpiącemu nawet najsilniejsze bóle. Niestety, morfina powoduje szereg efektów ubocznych, takich jak zaparcia, zaburzenia układu oddechowego i tolerancja. Dlatego poszukuje się nowych analgetyków, które byłyby równie skuteczne jak morfina lecz pozbawione działań niepożądanych. Szczególnym zainteresowaniem naukowców cieszą się naturalne peptydy opioidowe, oddziałujące z tymi samymi receptorami co morfina. Niestety, peptydy te nie znalazły zastosowania w terapii przeciwbólowej z powodu ich niskiej biodostępności i selektywności działania, a ponadto krótkiego czasu działania biologicznego spowodowanego ich szybką degradacją proteolityczną w krwi.

Obecnie w wielu ośrodkach naukowych prowadzi się intensywne badania nad nowymi analogami peptydów opioidowych odporniejszych na proteolizę i pozbawionych działań ubocznych. Jest to ogromne wyzwanie o dużym potencjale aplikacyjnym, w którym Zakład Chemii Biomolekularnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierowany przez Panią Profesor dr hab. Annę Janecką odnosi od lat wiele sukcesów.

W badania te włączyła się mgr inż. Anna Adamska-Bartłomiejczyk, która wykonała pod kierunkiem prof. dr hab. Anny Janeckiej pracę doktorską poświęconą syntezie i badaniom aktywności biologicznej nowych analogów dwóch peptydów opioidowych – morficeptyny i endomorfiny-2. Przedstawiona do recenzji rozprawa jest przykładem starannie przemyślanej i wykonanej pracy doktorskiej, a jej tematyka badawcza jest bardzo aktualna i ważna.

Podstawę rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Adamskiej-Bartłomiejczyk stanowią cztery prace oryginalne i jedna praca przeglądowa, które powstały w latach 2015-2017. We wszystkich tych publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem. Przedstawionym do recenzji publikacjom towarzyszy 33-stronnicowy tekst rozprawy, podzielony na cztery zasadnicze części: *Część teoretyczna, Założenia i cel pracy, Wyniki oraz Wnioski*. Rozprawę

kończy spis cytowanej *Literatury* (87 odnośników literaturowych) oraz *Streszczenie* pracy w języku polskim i angielskim.

Pierwszy rozdział (*Część teoretyczna*) został udokumentowany 142 cytowaniami. Autorka opisała w nim receptory opioidowe i ich ligandy. Następnie przedstawiła opisane w literaturze naukowej peptydy opioidowe - endomorfiny i morficeptynę. Omówiła ich konformacje i degradacje enzymatyczne oraz przenikanie przez barierę krew-mózg. Rozdział ten został napisany przystępnie i stanowi cenne źródło starannie wybranych informacji naukowych. Doktorantka udowodniła tym samym, że posiada wiedzę teoretyczną niezbędną do przeprowadzenia badań naukowych związanych z tematem rozprawy doktorskiej.

W rozdziale drugim Autorka przedstawiła cel swojej rozprawy doktorskiej, którym było otrzymanie nowych analogów endomorfiny-2 i morficeptyny, w celu poszukiwaniu związków o różnym profilu powinowactwa do receptorów opioidowych. Realizacja takiego zadania wymagała przeprowadzenia syntez dwudziestu nowych peptydów zawierających aminokwasy niebiałkowe lub odpowiednio cyklizowanych oraz czterech związków referencyjnych.

Kolejny rozdział (*Wyniki*) zawiera opis przeprowadzonych badań, uzyskane wyniki i ich dyskusję. Doktorantka podzieliła swoje osiągnięcia eksperymentalne na trzy części:

1. Analogi morficeptyny zawierających 4,4-difluoroprolinę.
2. Liniowe i cykliczne analogi zawierające N-metylowane aminokwasy.
3. Cykliczne analogi zawierające prolinę oraz kwasy piperydino-2-, 3- i 4-karboksyłowe.

Z rozdziału tego wynika, że Autorka prawidłowo zaprojektowała i przeprowadziła wszystkie eksperymenty. Badania te wymagały od Doktorantki opanowania wielu różnych technik stosowanych w wieloetapowej syntezie peptydów i ich cyklizacji, oczyszczania otrzymanych produktów i ich analizy z wykorzystaniem metod fizykochemicznych oraz biochemicznych. Należy zwrócić uwagę, że niektóre z syntez były wyjątkowo trudne i wymagały od Doktorantki przeprowadzenia wielu eksperymentów w celu optymalizacji ich wydajności. W szczególności dotyczy to syntezy cyklicznych analogów zawierające N-metylowane aminokwasy.

Wyniki badań biologicznych okazały się bardzo ciekawe. Jednym z największych sukcesów Doktorantki jest odkrycie wyjątkowo wysokiego (na poziomie subnanomolowym) powinowactwa tetrafluorowego analogu morficeptyny o sekwencji Tyr-F<sub>2</sub>Pro-Phe-D-F<sub>2</sub>Pro-NH<sub>2</sub> do receptorów mu-opioidowych. Otrzymane przez Nią N-metylowane analogi peptydów opioidowych również wykazywały wysoką selektywność w

stosunku do tego receptora. Innym ciekawym wynikiem było odkrycie wpływu wielkości pierścienia na aktywność cyklicznych analogów zawierających *N*-metylowane aminokwasy. Moje szczególne zainteresowanie wzbudziły badania nad bicyklicznymi analogami, w których poza cyklizacją przez łączenie łańcuchów bocznych wprowadzono cykliczny aminokwas - prolinę lub kwasy piperidyno-karboksyłowe. Umożliwiło to wymuszenie konfiguracji *cis* na wiązaniu peptydowym za resztą Phe<sup>3</sup>, co skutkowało zmianą selektywności tych analogów względem receptorów opioidowych.

Uzyskane wyniki zostały już opublikowane w specjalistycznych czasopismach naukowych, takich jak *Bioorg. Med. Chem.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *J. Pept. Sci.* Prace te zostały więc wcześniej poddane drobiazgowej ocenie przez recenzentów i mogły zostać poprawione. Nie mam więc uwag krytycznych. W trakcie czytania tych prac nasunęły mi się pytania, które z przyjemnością przedyskutuję z Doktorantką w trakcie publicznej obrony. Z własnego doświadczenia wiem, że cyklizacje peptydów są zadaniem trudnym i czasochłonnym. Niewątpliwie, racjonalna optymalizacja warunków cyklizacji powinna wynikać z dokładnej analizy produktów ubocznych powstałych podczas pierwszych prób takiej reakcji. Dlatego proszę o wyjaśnienie, jakie produkty uboczne towarzyszyły cyklicznemu produktowi i jakie wnioski Autorka wyciągnęła z ich obecności? Czy niską wydajność reakcji cyklizacji można tłumaczyć wyłącznie "zawadą przestrzenną spowodowaną bliskością dwóch grup *N*-metylowych"? Czy produkty cyklodimeryzacji lub oligomeryzacji towarzyszyły właściwemu produktowi (cyklomonomerowi)? Jaki może być wpływ dimeryzacji na aktywność cyklicznych peptydów opioidowych?

W rozdziale *Streszczenie* Autorka zwięźle omówiła uzyskane wyniki i wskazała swoje największe osiągnięcia. Doktorantka udowodniła, że dobrze rozumie wartość swoich badań i potrafi z należytą krytyką do nich podejść. Uważam, że opisany w Rozprawie zakres prac badawczych był bardzo duży, przekraczający wymagania stawiane pracom doktorskim.

Doktorantka jest współautorką dziewięciu publikacji naukowych, oraz jednego wniosku patentowego. W większości tych prac Pani Adamska (obecnie Adamska-Bartłomiejczyk) jest pierwszym autorem, co dowodzi Jej wiodącej roli w przeprowadzonych badaniach. Ponadto przedstawiła wiele komunikatów na różnych konferencjach. Dorobek naukowy Doktorantki jest zatem bardzo okazały i zasługuje na wyróżnienie.

Uważam, że recenzowana rozprawa stanowi przykład konsekwentnej realizacji dobrze przemyślanego i zaplanowanego założenia badawczego. Autorka uzyskała szereg ważnych i ciekawych rezultatów, wykazała umiejętność posługiwania się wieloma nowoczesnymi metodami badawczymi i zdolnością krytycznej interpretacji uzyskanych wyników. W mojej opinii, recenzowana rozprawa stanowi samodzielne rozwiązanie przez Doktorantkę problemu naukowego, związanego z określeniem zależności pomiędzy strukturą a aktywnością analogów peptydów opioidowych. Wnioski wyciągnięte z wyników badań mgr inż. Anny Adamska-Bartłomiejczyk mogą być pomocne naukowcom projektującym nowe leki przeciwbólowe. Rozprawa autorstwa mgr inż. Anny Adamska-Bartłomiejczyk została napisana poprawnym językiem, dobre wrażenie sprawia estetyczny wygląd pracy.

Recenzowaną rozprawę oceniam bardzo wysoko. Uważam, że rozprawa doktorska mgr inż. Adamska-Bartłomiejczyk stanowi cenny wkład naukowy i spełnia wymagania określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami). Dlatego stawiam wniosek do Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Pani mgr inż. Anny Adamskiej-Bartłomiejczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoką wartość merytoryczną badań wykonanych przez Doktorantkę a także duży dorobek publikacyjny, wnoszą o wyróżnienie recenzowanej rozprawy.

Wrocław, 27 sierpnia 2017 r.

*L. Kucuk*