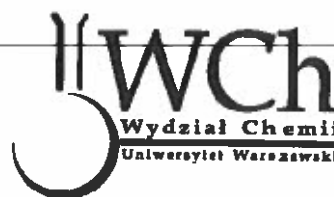




UNIwersytet

Warszawski
Wpisał: [illegible]
WPEŁNIŁO

24. 10. 2024



Warszawa, dn. 11.10.2024

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Betlejewskiej-Kielak, zatytułowanej „Kompleksy β -cyklodekstryny z wybranymi pochodnymi kwasu arylopropionowego”

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr. Katarzyny Betlejewskiej-Kielak jest wynikiem pracy wykonanej w Zakładzie Chemii Organicznej i Fizycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz Zakładu Leków Syntetycznych Narodowego Instytutu Leków pod kierunkiem naukowym dr hab. Kingi Ostrowskiej. Promotorem pomocniczym jest dr hab. Piotr Luliński.

Układ pracy jest klasyczny. Podzielona jest formalnie na dwie części: literaturową oraz doświadczalną. Pierwsza z nich jest bardzo zwięzła i liczy 15 stron. Kończą ją założenia i cele pracy jak również przedstawienie metodyki prowadzonych badań. Druga, znacznie obszerniejsza dotyczy badań własnych. Ta część liczy 58 stron. Kolejna przedstawia wnioski, spis 12 publikacji i 11 wystąpień konferencyjnych, w wyodrębnieniu tych które ściśle wiążą się merytorycznie z przedstawioną pracą doktorską, oraz bibliografia licząca 100 pozycji literaturowych. Dodatkowo zamieszczone jest streszczenie w języku polskim i angielskim, spisy tabel rysunków, wykaz stosowanych skrótów oraz kopie dwóch publikacji, będących podstawą pracy doktorskiej: *Comprehensive characterization of the ketoprofen- β -cyclodextrin inclusion complex using X-ray techniques and NMR spectroscopy* oraz *Comprehensive characterization of the flurbiprofen/ β -cyclodextrin inclusion complex using X-ray techniques and NMR spectroscopy*. Artykuły zostały opublikowane odpowiednio w *Molecules* (2021, 26, 4089) oraz w *Journal of Molecular Structure* (2023, 1285, 135450). Całość liczy 151 stron.

Tematyka pracy doktorskiej jest bardzo interesująca. Dotyczy syntezy i badania właściwości fizykochemicznych wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych z β -cyklodekstryną. Otrzymanie kompleksów tego typu w znaczącym stopniu może modyfikować właściwości substancji aktywnych farmaceutycznie np. poprzez zmianę

Prof. dr hab. Michał K. Cyrański
Pasteura 1
02-093 Warszawa
e-mail: mkc@chem.uw.edu.pl
Tel: 22 55 26 360

rozpuszczalności, trwałości, biodostępności, maskowanie nieprzyjemnego smaku, koloru czy zapachu. Warto w tym miejscu nadmienić, iż w konsekwencji subgeneryki muszą podlegać pełnym badaniom rejestracyjnym, które są wymagane dla substancji oryginalnych, co naturalnie wiąże się z poważnymi nakładami finansowymi. Nie zmienia to jednak faktu, iż układy takie mogą mieć szereg pożądanych właściwości, lepszych niż układy oryginalne i w chwili obecnej (jak podaje doktorantka) znanych i dostępnych jest ok. 130 kompleksów różnych API z cyklodekstrynami. Nie mam wątpliwości, iż jest to ważny kierunek badawczy o znaczącym potencjale komercyjnym.

Część literaturowa stanowi bardzo zwięzłe wprowadzenie do tematyki badań. Pierwszy fragment przedstawia ogólną wiedzę dotyczącą mechanizmu działania niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Następnie przedstawiona jest budowa pochodnych kwasu arylopropionowego powszechnie wykorzystywanych jako niesteroidowe leki przeciwzapalne: ketoprofenu, ibuprofenu, flurbiprofenu oraz naproksenu. Są to związki, których aktywność zależy od formy enancjomerycznej. Niestety wartości dotyczące aktywności poszczególnych form doktorantka przedstawiła jedynie w przypadku ketoprofenu i ibuprofenu. Z ciekawości, czy mógłbym prosić o przedstawienie danych dla pozostałych związków podczas publicznej obrony? W dalszej części przedstawiona została ogólna charakterystyka cyklodekstryn, które są cyklicznymi oligosacharydami zbudowanymi z jednostek α -D-glukopiranozy połączonymi wiązaniami α -1,4-glikozydowymi. Najbardziej znanymi cyklodekstrynami są α -, β - oraz γ -cyklodekstryna. W stanie krystalicznym układy te są stabilnymi hydratami, zawierającymi od 8 do 18% cząsteczek wody. Sporo uwagi doktorantka poświęca β -cyklodekstrynie, której wprowadzenie rozpuszczalność w wodzie jest najmniejsza, ale jest ona zarazem układem o bardzo niskiej toksyczności. W pracy omówione są kompleksy inkluzyjne z udziałem cyklodekstryny jak również czynniki wpływające na ich tworzenie się i stabilność. Zwięzłe omówiona jest architektura kompleksów inkluzyjnych oraz wymienionych jest osiem metod syntezy tego typu układów. W końcowym fragmencie tej części pracy doktorantka przedstawia liczne zastosowania kompleksów cyklodekstryn oraz podaje przykładowe produkty lecznicze zawierające β -cyklodekstrynę, w tym preparaty zarejestrowane na terenie Polski.

Celem pracy doktorskiej była synteza i charakterystyka kompleksów β -cyklodekstryny z wybranymi pochodnymi kwasu arylopropionowego: ketoprofenu, ibuprofenu, flurbiprofenu oraz naproksenu. Układy tego typu nie były dotychczas opisane. Do otrzymania kompleksów wybrano trzy metody opisane w literaturze do otrzymywania kompleksów piroksydamu (P) z β -cyklodekstryną tj. współwytrącania, odparowania oraz ogrzewania pod chłodnicą

~~zwrotną. Otrzymane układy scharakteryzowano korzystając z metody dyfrakcji promieni rentgenowskich na materiale proszkowym (XRPD), na monokryształach (SCXRD), spektroskopii FTiR oraz NMR (^1H , ^{13}C) w roztworze. To czego brakowało mi w części literaturowej to przedstawienia teoretycznych podstaw tych metod. Rozumiem konieczność odpowiedniego wyboru treści oraz to, że metody te są powszechnie znane, jednak choćby skrótowy ich opis byłby w mojej ocenie wielce pożądany. W swej pracy doktorantka wykazała, iż wybrana metoda syntezy warunkuje powstanie stabilnego kompleksu oraz to, że struktura chemiczna gościa determinuje ten proces. Otrzymane kompleksy zostały scharakteryzowane w ciele stałym. Na podstawie badań spektroskopowych (z użyciem NMR) doktorantka wykazała również istnienie kompleksów inkluzyjnych w roztworze wodnym. Badania ujawniły, że synteza metodą ogrzewania pod chłodnicą zwrotną pozwoliła otrzymać kompleksy ketoprofenu, ibuprofenu, flurbiprofenu z β -cyklodekstryną, zaś metodą współwytrącania otrzymano jedynie kompleksy ibuprofenu i flurbiprofenu z β -cyklodekstryną. Metodą odparowania nie otrzymano żadnego w wymienionych wcześniej kompleksów. Żadna z zastosowanych metod syntetycznych nie doprowadziła również do powstania kompleksu naproksenu z β -cyklodekstryną.~~

Nie będę opisywał szczegółowo otrzymanych przez doktorantkę wyników badań strukturalnych, zwłaszcza że stanowią one podstawę prac opublikowanych w specjalistycznych periodykach naukowych, jednak w dalszej części skoncentruję się na pytaniach/uwagach które nasunęły się mi się podczas analizy recenzowanej dysertacji. Chciałbym by doktorantka ustosunkowała się do nich podczas obrony pracy doktorskiej.

1. Proces krystalizacji przeprowadzano metodą powolnego odparowywania rozpuszczalnika. W tym celu przygotowano kilka roztworów o różnych stężeniach metanolu (MeOH). W związku z powyższym powstaje pytanie dlaczego nie podjęto prób krystalizacji z wykorzystaniem innych rozpuszczalników, ewentualnie innymi metodami. Być może doprowadziłoby to do uzyskania nowych odmian polimorficznych.
2. Doktorantka używała w syntezie mieszanin racemicznych. Uważam, że niezwykle interesującym i perspektywnym byłoby użycie czystych optycznie enancjomerów. Ponadto, bardzo interesującym z punktu widzenia badań strukturalnych byłoby podjęcie prób otrzymania kompleksów z innymi cyklodekstrynami (α - i γ -).
3. W przypadku pomiarów rentgenostrukturalnych kompleksów ketoprofenu i flurbiprofenu do rozwiązania problemu fazowego nie wykorzystano metod bezpośrednich. Jaki był tego powód?

4. Pomiary rentgenostrukturalne wykonywane były w temperaturze pokojowej (nie ma tej informacji podanej w części metodologicznej pracy, wartości te można odczytać z publikacji naukowych, również z Tabeli 9 na str. 74). Chciałbym by doktorantka przeanalizowała wpływ temperatury zarówno na jakość danych dyfrakcyjnych jak i na finalny model struktury. W tym kontekście warto zastanowić się czy obniżenie temperatury pomiaru zawsze jest wskazane, biorąc pod uwagę możliwość tworzenia różnych odmian polimorficznych, ale również adekwatność finalnego modelu do rozważań w warunkach fizjologicznych.
5. Kompleks ketoprofenu z β -cyklodekstryną krystalizuje w grupie przestrzennej $P2_1$ z dwiema cząsteczkami w komórce elementarnej. Biorąc pod uwagę iż niezależną część komórki elementarnej stanowią po dwie cząsteczki β -cyklodekstryną i dwie cząsteczki ketoprofenu w mojej ocenie w komórce elementarnej powinny być cztery cząsteczki a nie dwie. To również wynika z tabeli 1 na stronie 115. Bardzo proszę o komentarz.
6. Na rysunku 12 przedstawiono fragment, sieci a nie jest pisze doktorantka, niezależną część komórki elementarnej. Nie jest dla mnie również klarowne dlaczego zróżnicowano graficznie ketoprofen oraz β -cyklodekstrynę.
7. W przypadku kompleksu ketoprofenu z β -cyklodekstryną nieprecyzyjne jest dla mnie sformułowanie „zaburzenie z dwiema orientacjami każdej cząsteczki ketoprofenu”. Czy doktorantka ma na myśli nieporządek statyczny? Ponieważ używany był racemiczny ketoprofen a kompleks krystalizuje w niecentrosymetrycznej grupie przestrzennej, być może opisywany efekt strukturalny jest tego konsekwencją, choć jednocześnie zastanawiającym jest fakt, iż stosunek obu form nie wynosi 0.5:0.5. Generalnie, w mojej ocenie jest to bardzo interesujący przypadek gdy mieszanina racemiczna krystalizuje w grupie niecentrosymetrycznej.
8. W kryształach mogą występować różnego rodzaju nieporządki. Chciałbym by doktorantka omówiła to zagadnienie. Na czym polega nieporządek, w jaki sposób na drodze eksperymentalnej można odróżnić nieporządki statyczne od dynamicznych.
8. W opisie struktury kompleksu nie bardzo zrozumiałe jest dla mnie pojęcie „agregat centralny” – czy chodzi doktorantce o jednostkę centralną? Nie bardzo jest również zrozumiałe sformułowanie: „komórki jednostkowej”. Czy chodzi o komórkę elementarną? Przy okazji chciałem się upewnić, czy komórka elementarna zawiera 22 cząsteczki wody, czy to jej część niezależna (w takiej sytuacji w komórce elementarnej byłoby 44 cząsteczek wody). Podejrzewam to pierwsze, biorąc pod uwagę wzór sumaryczny zamieszczony w Tabeli 1 na stronie 115. Chciałbym jednak by doktorantka to skomentowała. Czy cząsteczki wody są uporządkowane czy też nie? Nie można tego wywnioskować z opisu czy z rysunku.

~~9. Kompleks flurbiprofenu z β -cyklodekstryną stanowi również bardzo interesujący~~ przypadek. Ponownie do syntezy użyto flurbiprofenu w formie racematu, a jednak kompleks krystalizuje w niecentrosymetrycznej grupie przestrzennej (P1) z dwiema cząsteczkami w niezależnej części komórki elementarnej. Czy występują tu może pseudo środki symetrii?

Praca jest napisana na ogół poprawnym językiem naukowym, choć zdarzają się niezręczności jak chociażby na stronie 17: „Struktura kryształów została określona metodą rentgenowskiej dyfrakcji kryształu” (poprawnie powinno być: „struktura kryształów została określona przy użyciu metody rentgenowskiej analizy strukturalnej na monokryształach) czy „widmo dyfrakcyjne” (str. 46) – poprawnie powinno być „dyfraktogram proszkowy”. Na rysunku 31 (strona 78) niepoprawnie użyto słowa konformacje – powinno być konfiguracje. Ponadto w pracy zdarzają się liczne literówki takie jak: pochodne kwasu arylopropionowego (powinno być pochodne kwasu arylopropionowego), str. 36; optymlizację (powinno być optymlizację), str. 36; różnicowej (powinno być różnicowej), str. 40; udoładnionozatem (powinno być udokładniono zatem), str. 40; potoczków (powinno być patyczków), str. 54; przekształć-ciła oraz kom-pleks (powinno być przekształciła oraz kompleks), str. 69; pasam (powinno być pasma) str. 73; cm^{-1} (powinno być cm^{-1}), str. 73; P1 powinno być P-1 (porównaj tabela 9), str. 76; podobny (powinno być podobna), str. 76; pasama (powinno być pasma), str. 91; pasam (powinno być pasm), str. 91; otrzmane (powinno być otrzymane), str. 91; zgone (powinno być zgodne), str. 91; syteza (powinno być synteza), str. 100. Błędy te nie umniejszają jednak wartości pracy.

Konkludując: stwierdzam, iż rozprawa doktorska mgr Katarzyny Betlejewskiej-Kielak zawiera istotne elementy nowości naukowej. Doktorantka postawiła problem badawczy, wykazała się wiedzą w zakresie prezentowanej tematyki przedmiotu oraz odpowiednim warsztatem badawczym. Uważam, że uzyskane przez nią wyniki są wartościowe z punktu widzenia badań strukturalnych układów o znaczeniu farmaceutycznym i są inspirujące do podjęcia dalszych badań. To interesująca tematyka badawcza o dużym potencjale również aplikacyjnym. W mojej ocenie praca doktorska mgr Katarzyny Betlejewskiej-Kielak spełnia warunki formalne przez obowiązującą ustawę o stopniach i tytułach naukowych. W związku z powyższym wnioskuję o dopuszczenie doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Michał K. Cyrański

