



Zakład Biologii Farmaceutycznej i Biotechnologii Roślin Leczniczych
Department of Pharmaceutical Biology and Medicinal Plant Biotechnology

**Recenzja
pracy doktorskiej mgr Tomasza Deptuły**

**pt.: „Wpływ podstawników polieteryowych na aktywność biologiczną analogów
kurkuminy”**

**Praca została wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego
pod kierunkiem dr hab. Beaty Gruber i prof. dr hab. Adama Krówczyńskiego**

Tematyką przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej pana mgr Tomasza Deptuły jest wpływ podstawników polieteryowych na aktywność biologiczną analogów kurkuminy.

Związki naturalne, do których zalicza się również kurkuminę, cieszą się dużą popularnością zarówno wśród pacjentów - w przypadku roślinnych preparatów leczniczych, wśród konsumentów - w przypadku roślinnych suplementów diety, jak i wśród naukowców, jako interesujący materiał do badań, zwłaszcza badań chemicznych i biologicznych.

Obecnie, efektywność związków naturalnych stosowanych w lecznictwie i roślinnych preparatów leczniczych jest weryfikowana naukowo, a ich skuteczność terapeutyczna dokumentowana jest badaniami toksykologicznymi, farmakologicznymi i klinicznymi.

Badana przez pana mgr Tomasza Deptułę kurkumina jest aktywnym metabolitem wtórnym - pochodną polifenoli - występującą w kłączach *Curcuma longa* L. (syn. *C. domestica* Valeton), wieloletniej rośliny należącej do rodziny Zingiberaceae (imbirowate). W Polsce, *Curcuma longa* nie występuje w stanie naturalnym. Roślina ta uprawiana jest w południowej i południowo-wschodniej Azji tropikalnej dla pozyskiwanej z jej kłączy kurkumy - znanej i używanej przyprawy. Kurkumina jest jednym ze składników tej przyprawy.

Curcuma longa L. oraz inny gatunek z tego rodzaju *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. (D. Dietrich.) są roślinami leczniczymi. W Farmakopei Polskiej X oraz w Farmakopei Europejskiej przedstawione są wymagania ogólne oraz monografie szczegółowe roślinnych substancji leczniczych otrzymywanych z tych gatunków. Są to: *Curcuma longae rhizoma* – kłącze ostrzyżu długiego oraz *Curcuma xanthorrhizae rhizoma* – kłącze kurkumy jawańskiej.

Szeroko zakrojone w ostatnich kilku dekadach badania wykazały, że kurkumina jest silnym środkiem przeciwzapalnym o dużym potencjale terapeutycznym i chemoprewencyjnym wobec różnych nowotworów. Hamuje proliferację i przerzuty guzów ludzkich poprzez regulację różnych czynników transkrypcyjnych, czynników wzrostu, cytokin, kinaz białkowych i innych enzymów. Indukuje apoptotyczną śmierć komórek oraz hamuje proliferację komórek nowotworowych poprzez inhibicję cyklu komórkowego.

Natomiast badania farmakokinetyczne wykazały, że kurkumina jest szybko metabolizowana w wątrobie, gdzie zachodzi jej glukuronizacja oraz siarkowanie, a następnie jest wydalana z organizmu. Szybki metabolizm kurkuminy, jej niewielka wchłanianość z przewodu pokarmowego i słaba rozpuszczalność w płynach ustrojowych wskazują na jej niską dostępność biologiczną.

Z licznego piśmiennictwa naukowego wynika, że podejmowane były różne strategie badawcze mające na celu zniesienie ograniczeń wynikających ze słabej dostępności biologicznej kurkuminy i uzyskania skuteczności terapeutycznej ze zmniejszoną toksycznością. Jedną ze strategii były próby stosowania kurkuminy w różnych systemach dostarczania leków, takich jak liposomy, micelle, połączenia z polisacharydami, kompleksy fosfolipidowe, czy też opłaszczanie kurkuminy nanocząstkami albuminy, tzw. nanokurkumina.

Strategią, której podjął się pan mgr Tomasz Deptuła były poszukiwania rozpuszczalnych w wodzie, nowych syntetycznych analogów kurkuminy z hydrofilowymi podstawnikami polieterowymi, a także zbadanie *in vitro* ich cytotoksyczności wobec komórek prawidłowych, w tym przypadku prawidłowych limfocytów B (GM14467) i komórek nowotworowych – ludzkich komórek białaczki promielocytarnej (HL60) oraz zbadanie ich aktywności apoptotycznej. Ponadto, biorąc pod uwagę strukturę kurkuminy (β -diketon występujący w cyklicznej formie enolowej stabilizowanej wiązaniami wodorowymi), kolejnym celem pracy, co prawda nieobjętym tematem pracy, było otrzymanie analogów kurkuminy o właściwościach mezogenicznych.

Zatem tematyka badawcza podjęta przez Doktoranta jest aktualna i ważna, ponieważ dotyczy badań mających na celu uzyskanie odpowiedzi czy otrzymane na drodze syntezy nowe polieterowe analogi kurkuminy są aktywne biologicznie i w związku z tym, czy mają potencjał terapeutyczny?

Ponadto, przedstawiona do recenzji praca jest napisana zwięźle, liczy 79 stron. Układ pracy jest klasyczny z podziałem na:

- (i) wstęp, w którym Doktorant w szerokim zakresie uzasadnia cel podjętych przez siebie badań, poprzez przedstawienie właściwości biologicznych kurkuminy, wskazując na korzyści i problemy w potencjalnej terapii z zastosowaniem kurkuminy. Dalej, we wstępie Doktorant omawia syntezę analogów kurkuminy oraz przedstawia charakterystykę ciekłych kryształów;
- (ii) część doświadczalną zawierającą materiał i metody stosowane w pracy, w tym metody syntezy analogów kurkuminy, badania ich aktywności biologicznej oraz badania właściwości ciekłokrystalicznych otrzymanych związków;
- (iii) omówienie wyników badań własnych;
- (iv) dyskusję wyników;
- (v) wnioski;
- (vi) piśmiennictwo cytowane oraz (vii) streszczenie w języku angielskim.

Do rozprawy włączone są dwie publikacje, w tym jedna praca eksperymentalna opublikowana w *Liquid Crystals*, czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym o współczynniku oddziaływania 2,486, w której Doktorant był współautorem oraz druga publikacja przeglądowa, opublikowana w *Postęпах Fitoterapii*, w której Doktorant był pierwszym autorem.

Na podkreślenie zasługuje zachowanie prawidłowych proporcji pomiędzy poszczególnymi częściami pracy, bogate i aktualne piśmiennictwo cytowane (157, w większości aktualnych, naukowych pozycji literaturowych). Praca jest bogato udokumentowana fotografiami (19 fotografii z zakresu badań biologicznych i krystalograficznych), wykresami (8), tabelami (3) oraz rycinami (25), co wyczerpująco i przejrzysto prezentuje przeprowadzone badania biologiczne i chemiczne.

Zastosowane w pracy metody badawcze, tj.: techniki chromatograficzne, NMR, Western blot, mikroskopia polaryzacyjna, skaningowa kalorymetria różnicowa są nowoczesne i odpowiadają współczesnym wymaganiom dla tych kierunków poszukiwań.

Innymi zalety recenzowanej pracy są:

- (i) elementy nowości - analogi polieterowe kurkuminy i ich aktywność biologiczna nie były dotychczas opisane w piśmiennictwie naukowym, a co za tym idzie, uzyskane w niniejszej pracy wyniki badań istotnie poszerzyły aktualny stan wiedzy w tym zakresie i powinny być opublikowane;
- (ii) wnikliwa dyskusja właściwości zsyntetyzowanych związków w odniesieniu do kurkuminy i innych jej pochodnych;

(iii) wskazanie sugestii odnośnie dalszych kierunków badań, nad modyfikacjami cząsteczki kurkuminy, które pozwoliłyby uzyskać związek o większej cytotoksyczności i selektywności względem komórek nowotworowych.

Uwagi do pracy:

1. Nie w każdym przypadku dane w Tabeli 2 (str. 46) są kompatybilne z danymi na Wykresach 1-8 (str. 43-46).
2. W rozdziale „Wyniki”, w podrozdziale „Ocena morfologiczna (str. 46-54), Doktorant powołuje się w tekście na nieodpowiednie ryciny dokumentujące wyniki badań, co wprowadza pewne zamieszanie.
3. Drobne uwagi edytorskie:
 - stosowanie określenia „Rysunek” zamiast „Rycina”, (rysunek kojarzy się z odręcznym rysunkiem),
 - na str. 68 powinna być rycina 25, a nie 10 ponieważ wcześniej, przedostatnia rycina na str. 56 ma numer 24),
 - tytuł „Streszczenie” dla streszczenia w języku angielskim powinien być również w języku angielskim („Summary” lub „Abstract”).

Powyższe uwagi nie zmniejszają merytorycznej wartości pracy.

Podczas obrony pracy doktorskiej chciałabym prosić pana mgr Tomasza Deptułę o odniesienie się do uwag (pomijając uwagi edytorskie) oraz o przedyskutowanie poniższych zagadnień:

1. Co skłoniło pana do podjęcia się badań polieterowych, a nie innych analogów kurkuminy?
2. Co pan sądzi o możliwości zastosowania związków ciekłokrystalicznych w naukach medycznych, sugestie, przykłady?

Podsumowując, rozprawa doktorska pana mgr Tomasza Deptuły zawiera elementy nowości naukowej, jest dobrze zaplanowanym oryginalnym zagadnieniem naukowym. Tematyka pracy jest aktualna i istotna w aspektach otrzymywania analogów związków naturalnych o potencjale terapeutycznym. Wskazuje na ogólną wiedzę teoretyczną Doktoranta w dyscyplinie naukowej, umiejętność prowadzenia prac eksperymentalnych oraz właściwą ich ocenę.

Tak więc, wyrażam przekonanie, że przedstawiona do oceny rozprawa pana mgr Tomasza Deptuły pt. „Wpływ podstawników polieterowych na aktywność biologiczną analogów kurkuminy” spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim zgodnie z art. 13

ustawy z dnia 14 marca 2003 *o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz.U. 2003 r., nr 65 poz. 595, Dz.U. 2005 r., nr 164 poz. 1365, Dz.U. 2011 r., nr 84 poz. 455, Dz. U. 2014 r. poz. 1852, 2015 r. nr 249, poz.1767) oraz ustawą z dnia 27 lipca 2005 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym*.

Przedstawiam zatem Wysokiej Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego wniosek o dopuszczenie pana mgr Tomasza Deptuły do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Biologii Farmaceutycznej
i Biotechnologii Roślin Leczniczych
Agnieszka Pietrosiuk
Dr hab./n. farm. Agnieszka Pietrosiuk

.....
Dr hab. n. farm. Agnieszka Pietrosiuk

Warszawa, 06 października 2016 r.

WARSZAWSKI
UNIwersytet Medyczny
Zakład Biologii Farmaceutycznej
i Biotechnologii Roślin Leczniczych
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa