



Gdańsk, 11.05.2017r.

Ocena

Pracy doktorskiej

„Ocena farmakologiczna udziału receptorów α_2 -adrenergicznych w efektach mydriatycznych pochodnych imidazoliny w oparciu o analizę ilościowych zależności struktura-aktywność (QSAR)”

Autorstwa mgr farm. Joanny Raczak-Gutknecht

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska łączy w sobie cechy klasycznej doświadczalnej pracy farmakologicznej z najnowszymi metodami modelowania molekularnego i analityki. Temat pracy nawiązuje do wieloletniej tradycji tematycznej Katedry Biofarmacji i Farmakodynamiki, gdzie praca doktorska została wykonana a badania dotyczyły ocenę farmakologiczną udziału receptorów α_2 -adrenergicznych w efektach mydriatycznych pochodnych imidazoliny. Oprócz klasycznych badań doświadczalnych przeprowadzono również analizę ilościowych zależności badanych związków imidazolinowych, co znakomicie wzbogaciło pracę nadając jej walory nowoczesnej, aktualnej i wartościowej. Nie sposób przy ocenie tej pracy nie wspomnieć o promotorze, którym jest prof. Roman Kaliszan, czł. rzecz.



KATEDRA I ZAKŁAD FARMAKOLOGII

80-204 Gdańsk, ul. Dębowa 23
sekretariat 058 349-18-12, pracownie 058 349-18-14 do 26;
fax 058 349-18-11
e-mail: farmakol@gumed.edu.pl
Kierownik: *prof. dr hab. Ivan Kocić* tel. 058 349-18-10



PAN i czł. kor. PAU, wieloletni kierownik Katedry Biofarmacji i Farmakodynamiki i pionier metody QSAR na skalę światową.

Pracę czyta się z dużą przyjemnością, ponieważ jest napisana zwięźle i konkretnie, a jednocześnie porusza niezwykle dużo istotnych z punktu widzenia farmakologicznego zagadnień i daje kompletną odpowiedź na założenia przedstawione w rozdziale o celach pracy.

Problematyka poruszana w tej pracy jest niezwykle kompleksowa (dotyczy bowiem receptory α_2 -adrenergicznych) a zarazem aktualna i o dużym znaczeniu praktycznym. Przytoczę tutaj chociażby badania związane z drzeniami pooperacyjnymi związanymi z stosowaniem leków znieczulających ogólnie, które są skutecznie eliminowane lekami pobudzającymi receptor α_2 -adrenergiczny powodując redukcję aktywności współczulnej i ośrodkowej regulacji napięcia w mięśniach gładkich naczyń (*Cochrane Database Syst Rev 2015, Aug 10*), nie wspominając szczegółowo o efektach hipotensyjnych, obniżających ciśnienie śródgałkowe oka czy korzystnie wpływające w zespołach abstynencyjnych opioidowych czy alkoholowych.

W ramach tej pracy przebadano 20 związków imidazolinowych i precyzyjnie obliczono parametry farmakologiczne jak E_{max} , ED_{50} , $\log(1/ED_{50})$, wśród nich dwa całkowicie nowe związki: marsanidyna i 7-metylomarsanidyna. Co więcej, przeprowadzono analizę zaangażowania odpowiednich podtypów receptora α_2 -adrenergicznego, oraz obliczono lipofilność związków imidazolinowych i 16 parametrów strukturalnych. Stosując metodę QSAR natomiast, stwierdzono w podgrupie 8 pochodnych imidazoliny (klonidyna, lofeksydyna, moksonidyna, brimonidyna, medetomidyna, detomidyna, cirazolina i oksymetazolina) istotną zależność między $\log(1/ED_{50})$ a $\log kw$.



KATEDRA I ZAKŁAD FARMAKOLOGII
80-204 Gdańsk, ul. Dębowa 23
sekretariat 058 349-18-12, pracownie 058 349-18-14 do 26;
fax 058 349-18-11
e-mail: farmakol@gumed.edu.pl
Kierownik: *prof. dr hab. Ivan Kocić* tel. 058 349-18-10



Także model rozszerzenia źrenic szczura zasługuje na wyróżnienie i jest dobrze dobrany, ponieważ mydriaza, to efekt związany ekskluzywnie z stymulacją receptorów α_2 -, nie imidazolinowych i nie α_1 -adrenergicznych. Praca wykazała, że nowe związki, marsanidyna i 7-metylomarsanidyna mają działanie agonistyczne w odniesieniu do receptora α_2 -adrenergicznych, przy czym powinowactwo marsanidyny było około 5-krotnie większe od 7-metylomarsanidyny i klonidyny. Na szczególną uwagę zasługuje stwierdzenie ważnej roli podtypu receptora α_{2D} -adrenergicznych w efekcie rozszerzania źrenic i wykluczenie podtypów 2B i 2C w tym zjawisku.

Struktura przedstawionej mi do oceny pracy wygląda następująco: praca liczy 99 stron, składa się z 12 części (razem z streszczeniami w języku polskim i angielskim, oraz CV i spisem tabel i rycin), z czego wstęp został zawarty w 30 stronach, Materiał i metody- 10 stron, Wyniki 25 stron i Dyskusja 9 stron. Piśmiennictwo (143 pozycji) jest dobrze dobrane i technicznie dobrze opracowane.

We wstępie autorka w sposób bardzo szczegółowy ale zwięzły i konkretny wprowadza czytelnika do sedna problemu, podając podstawowe informacje dotyczące złożoność rodziny receptorów α_2 -adrenergicznych. Bardzo ważnym wydaje się opisanie aktualnej wiedzy medycznej w kwestii klasyfikacji receptorów α_2 -adrenergicznych i imidazolinowych i zrozumienia ich roli fizjologicznej i klinicznej. **Cel pracy** został precyzyjnie i jednoznacznie sformułowany. Seria ligandów α_2 została dobrana nie tylko pod względem powinowactwa do poszczególnych receptorów, ale również pod względem struktury chemicznej.



Metodologia tutaj zastosowana zasługuje na szczególną uwagę. Zastosowano model doświadczalny szczególny, bo w warunkach *in vivo* oraz metodę QSAR i opisano deskryptory molekularne z empirycznymi modelami matematycznymi. Badania zaplanowano bardzo precyzyjne, ze wszystkimi szczegółami. Opisano przebieg doświadczeń, badane związki i protokole doświadczeń, zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną. Sposób zaplanowania i przeprowadzenia doświadczeń jest moim zdaniem wzorowy.

Wyniki pracy przedstawiono w postaci 26 rysunków i 3 tabel, razem z kolorową ilustracją efektu mydriazy otrzymanego za pomocą kamery (Ryc.23, efekt marsanidyny). Wyniki są przedstawione w sposób przejrzysty, zrozumiały i logiczny, opisując po kolei wszystkie badane parametry. Na szczególną uwagę zasługują wyniki dotyczące porównania parametrów otrzymanych w doświadczeniach farmakologicznych z parametrami uzyskanymi z analiz QSAR.

W Dyskusji można zauważyć dojrzałość podejścia do podjętego tematu i bardzo dobre przygotowanie autorki w problematyce poruszanej w rozprawie zarówno doświadczalnej jak i analitycznej.

Obowiązkiem recenzenta jest jednak nie tylko przyjemność wskazywania osiągnięć ale również przedstawienie wątpliwości i niedociągnięć, których w tej pracy jest niewiele.

Z formalnego punktu widzenia, jest kilka drobnych błędów w pisowni (str., 9, 114, $\alpha 2C$, zamiast $\alpha 2c$; str.30, 11.9, właściwości materiałowe zamiast materiałowe, , str. 37, 115, uretnu zamiast uretanu; str. 39, 11.6, ujemny loganytm zamiast logarytm).

Z merytorycznego punktu widzenia, brakuje mi szczegółowego wyjaśnienia dlaczego wybrano dawki jakie w pracy zastosowano, szczególnie jeżeli jest to tylko jedna dawka, jak w przypadku



KATEDRA I ZAKŁAD FARMAKOLOGII

80-204 Gdańsk, ul. Dębowa 23
sekretariat 058 349-18-12, pracownie 058 349-18-14 do 26;
fax 058 349-18-11
e-mail: farmakol@gumed.edu.pl
Kierownik: *prof. dr hab. Ivan Kocić* tel. 058 349-18-10



substancji AGN192403 (5mg/kg). Ponadto, należy wyjaśnić, czy określenie, że wartości Emax przedstawiono jako średnie z minimum 5 doświadczeń, czy tu chodzi o 5 pomiarach na różnych zwierzętach, czy pomiarach na tej samej źrenicy tego samego zwierzęcia, co w tym drugim przypadku zmniejsza wartość naukowa dokonanej obserwacji.

Podsumowując, uważam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim i **wniosuję do wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie**


mgr farm Joanny Raczak Gutknecht

do dalszych etapów zmierzających do nadania stopnia naukowego doktora oraz o wyróżnienie pracy ze względu na walory edukacyjne i naukowe.

Prof. dr hab. med. Ivan Kocić



Kierownik Katedry i Zakładu Farmakologii

Gdańsk, dnia 11.05.2017r.

Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego