

Prof. dr hab. Monika Wujec
Katedra i Zakład Chemii Organicznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Lublin, 16.07.2020 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Urszuli Tałaj pt. „Synteza i ocena aktywności biologicznej peptydów sygnałowych” wykonanej w Zakładzie Chemii Organicznej Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Od zarania dziejów człowiek szukał panaceum, dzięki któremu można zachować młody wygląd. Zdobycze techniki dostarczyły wielu narzędzi pozwalających opóźnić proces starzenia się. Koncerny kosmetyczne prześcigają się w tworzeniu nowych form kosmetycznych, wprowadzają coraz to nowsze substancje aktywne, mające zapobiegać starzeniu się skóry, jak też niwelować oznaki starzenia. Wśród nich od wymieniane są peptydy. Praktycznie każda licząca się firma branży kosmetycznej ma w swoim portfolio opatentowaną cząsteczkę, będącą peptydem.

Wobec powyższego wybór tematu pracy doktorskiej wydaje się jak najbardziej uzasadniony.

Praca doktorska Pani Urszuli Tałaj opracowana jest w sposób typowy dla rozpraw doktorskich, z klasycznym podziałem na rozdziały: wstęp, część teoretyczna, cel pracy, część eksperymentalna, wyniki, dyskusja, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz literatura.

Rozprawa doktorska mgr Urszuli Tałaj liczy 123 strony tekstu, w których zawartych jest 32 ryciny oraz 25 tabel. Ryciny umieszczono w tekście, co ułatwia korzystanie z nich w czasie czytania. Praca napisana jest poprawnie pod względem językowym i stylistycznym. Piśmiennictwo jest właściwie dobrane i cytowane, liczy 143 pozycje.

We wprowadzeniu Doktorantka omawia budowę i funkcje skóry oraz zagadnienia związane z procesem starzenia się skóry. Ponadto, podaje charakterystykę peptydów aktualnie stosowanych w kosmetologii.

Celem rozprawy doktorskiej mgr Urszuli Tałałaj było otrzymanie pochodnych peptydu KTTKS oraz ocena ich aktywności biologicznej.

W pierwszym etapie pracy Doktorantka, w wyniku syntezy na nośniku stałym otrzymała 30 peptydów, będących analogami KTTKS ze zmodyfikowanym C- i N-terminalnym końcem z dobrą wydajnością w zakresie 42-68%. Modyfikacje polegały na:

- przeprowadzeniu grupy karboksylowej w amidową
- zablokowaniu grupy aminowej w wyniku reakcji z chlorkiem kwasu palmitynowego, 1-acetyloimidazolem oraz kwasem liponowym
- zamianie aminokwasu lizyny na argininę.

W części eksperymentalnej Pani Tałałaj opisuje bardzo szczegółowo procedurę syntezy na nośniku. Jest to metoda wydajna, niestety również bardzo pracochłonna. Coraz częściej do syntezy peptydów wykorzystuje się syntezytory peptydów, tutaj jednak Doktorantka wykonała reakcje metodą tradycyjną. Każdy etap wymaga kilkukrotnego użycia reagentów. Każdorazowo konieczne jest sprawdzenie czy reakcja przebiega tak jak zakładamy. Jest to długi, wymagający cierpliwości i skrupulatności proces chemiczny. Otrzymane peptydy oczyszczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej, wyznaczając dla każdego z nich czas retencji. Masa otrzymanych związków została potwierdzona metodą spektrometrii mas.

Kolejnym etapem pracy była ocena aktywności biologicznej nowosyntetyzowanych peptydów obejmująca badania cytotoksyczności wobec fibroblastów oraz wpływ na aktywność plazminy, trombiny, aktywatorów plazminogenu tkankowego (tPA) i urokinazowego (uPA), kalikreiny, tripsyny i chymotrypsyny.

Badania właściwości hamujących w stosunku do enzymów wykonano metodą amidolityczną, natomiast testy cytotoksyczności metodą Carmichael'a z użyciem soli tetrazolowej (MTT). Spośród wszystkich otrzymanych analogów najaktywniejsze w stosunku do badanych enzymów okazały się peptydy N-palmitynowane. Wyznaczone wartości IC_{50} zawierały się w granicach 0,00021 - 0,0086 mM. Wartości IC_{50} dla pozostałych peptydów były o 4 rzędy wielkości wyższe.

Wyniki badań na komórkach prawidłowych wskazały na zdolność nasilania wzrostu fibroblastów przez trzy spośród badanych peptydów, wobec czego dodatkowo zbadano ich wpływ na biosyntezę DNA oraz kolagenu w komórkach. Zaobserwowano wyraźny, niezależny od stężenia wzrost syntezy kolagenu pod wpływem wszystkich trzech testowanych peptydów. Natomiast wpływ na biosyntezę DNA tylko w przypadku jednego analogu.

Podsumowaniem przedstawionej rozprawy jest bardzo ciekawy rozdział Dyskusja. Autorka pokusiła się o analizę zależności pomiędzy budową peptydu a jego aktywnością. Wskazała, jakie elementy struktury są istotne dla efektu biologicznego a także wytłumaczyła w sposób jednoznaczny wybór przeprowadzonych modyfikacji. Na szczególną uwagę zasługuje dyskusja wyników badań własnych z wcześniejszymi doniesieniami literaturowymi. Rozdział ten świadczy o bardzo dobrym opanowaniu przez Doktorantkę wiedzy, zarówno chemicznej jak i z zakresu kosmetologii.

Podsumowując stwierdzam, że cele pracy zostały zrealizowane a osiągnięte wyniki stanowią istotny wkład w poszukiwanie nowych związków o działaniu przeciwstarzeniowym. Niektóre z otrzymanych pochodnych mogą znaleźć zastosowanie w recepturze kosmetycznej.

W zasadzie nie mam uwag krytycznych. Ale...

- Czy Doktorantka sama wykonała badania biologiczne? Brak jest w pracy wskazania gdzie zostały wykonane.
- W Tabeli 23 brakuje nagłówka kolumny, powinien być %.
- Strona 41/42 Zdanie: Jednak zwiększając swoją liofilowość zwiększa swoją przepuszczalność - jest niezrozumiałe
- Jak to bywa przy tak obszernych opracowaniach, Autorka nie ustrzegła się błędów stylistycznych i językowych. W ramach ćwiczenia wzrokowego proszę je znaleźć. Znajdują się na stronach 15(3x), 16, 21, 24, 25, 33, 37, 39, 41, 42, 44, 53, 56, 61, 62, 63, 91, 92, 105.

Reasumując, przedstawioną do oceny rozprawę doktorską mgr Urszuli Tałałaj pt. „Synteza i ocena aktywności biologicznej peptydów sygnałowych” oceniam wysoko, uważam ją za nowatorską, interesującą, w pełni spełniającą wymagania stawiane rozprawom doktorskim.

Z wielką przyjemnością mam zaszczyt przedstawić wniosek Radzie Dyscypliny w dziedzinie nauk farmaceutycznych Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Urszuli Tałałaj do dalszych etapów przewodu doktorskiego.