

**Katedra i Zakład Syntezy i Technologii Chemicznej Środków  
Lecznicznych z Pracownia Modelowania Komputerowego**

*Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
ul. Chodźki 4A, 20-093 Lublin,  
Tel./fax. 0-81-4487270/4487272*

**Chair and Department of Synthesis and Chemical Technology  
of Pharmaceutical Substances with Computer Modeling Lab**

*Faculty of Pharmacy with Division of Medical Analytics  
Medical University of Lublin  
4A Chodzki str., 20-093 Lublin, Poland  
Phone/fax \*048-81-4487270/4487272*

---

Lublin, 15-05-2023

**Recenzja rozprawy doktorskiej**

**Mgr farm. Wojciecha LEWANDOWSKIEGO**

**z Katedry i Zakładu Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej,  
Wydziału Farmaceutycznego, Uniwersytetu Medycznego w Warszawie**

**oraz  
Adamed Pharma**

**pt. „Asymetryczna metoda wytwarzania nowego inhibitora mdm2.”**

Leki małowcząsteczkowe wprowadzane do leczenia mają coraz bardziej skomplikowaną strukturę w celu lepszego dopasowania do miejsca aktywnego białka, które jest celem. Z tego samego powodu zawierają coraz więcej asymetrycznych atomów węgla. Jednocześnie wymagania procesów technologicznych powinny zapewniać minimalną ilość etapów syntetycznych, taniość i dostępność substratów i katalizatorów, mało odpadów łatwych do zutylizowania oraz w miarę prosty sposób oczyszczenia, najlepiej przez krystalizację z pominięciem rozdzielaczy chromatograficznych szczególnie na fazach chiralnych. Opracowanie syntezy takich leków ze skalowaniem do skali półtechnicznej i technicznej nie jest więc procesem łatwym.

Praca doktorska mgr Lewandowskiego dotyczy opracowania optymalnej metody syntezy kandydata na lek AD-021.32 w terapii przeciwnowotworowej, którego celem molekularnym jest inhibicja interakcji pomiędzy białkami mdm2 i p53. Nowa asymetryczna ścieżka syntezy, umożliwiająca pominięcie drogiego

chromatograficznego rozdziłu racematu, byłaby bardzo korzystna na dalszym etapie rozwoju cząsteczki. Doktorant w oparciu o analizę retrosyntetyczną oraz zidentyfikowane kluczowe przekształcenia asymetryczne zaprojektował potencjalne drogi syntezy prowadzące do AD-021.32. Drogi te zweryfikował eksperymentalnie.

W oparciu o przegląd literaturowy syntezy asymetrycznych 3-aminooksindoli oraz oksindolo- $\gamma$ -laktamów doktorant zidentyfikował 12 podstawowych szlaków przekształceń o stereoselektywnym potencjale do wykorzystania w opracowaniu syntezy asymetrycznej AD-021.32. W sumie zaprojektowano 47 potencjalnych dróg syntezy. Spośród nich 42 warianty zostały zweryfikowane przez wykonanie niewiarygodnej ilości 1239 eksperymentów (!). Trzy ścieżki doprowadziły do otrzymania produktu końcowego w postaci racematu. Dwie z nich dały w wyniku produkt o niskiej czystości enancjomerycznej i niewielkich wydajnościach. Poza tym obie zawierały dużą ilość etapów (bliskie 10). Najbardziej obiecująca metoda (oznaczona w dysertacji jako S6V1) obejmowała tylko 6 etapów i prowadziła do produktu o wysokiej czystości (ponad 98%) i nadmiarze enancjomerycznym (blisko 90%). W sumie doktorant otrzymał między innymi 63 nowe, nieopisane do tej pory związki oraz jeden katalizator chiralny [REDACTED].

W przeglądzie literatury źródłowej doktorant omówił rolę białka p53, znane inhibitory interakcji mdm2-p53 oraz badania kliniczne z ich udziałem. Omówił także metody asymetrycznej syntezy pochodnych 3-aminooksindoli. Przegląd ten był podstawą dla opracowania planowanych szlaków syntetycznych.

Część eksperymentalna opisuje krok po kroku weryfikację każdego zaplanowanego szlaku i identyfikacją problemów obejmujących warunki przebiegu reakcji, właściwy dobór rozpuszczalników czy katalizatorów, oraz rozdział i oczyszczanie. W badaniach analitycznych doktorant stosował metody chromatograficzne i spektralne. UHPLC w badaniach czystości oraz nadmiaru enancjomerycznego, NMR i MS w analizie struktury.

Cel, który postawił sobie doktorant, czyli opracowanie wydajnej asymetrycznej metody otrzymywania związku AD-021.32 został skutecznie zrealizowany. Testowane szlaki, chociaż zatrzymane na którymś etapie często okazywały się użyteczne dla otrzymania wstępnych półproduktów. Bardzo często służyły także weryfikacji i optymalizacji warunków poszczególnych etapów, które mogły być wykorzystane w innych wariantach. Wybrany szlak S6V1 został jeszcze na koniec zoptymalizowany pod względem otrzymywania kluczowych substratów, doboru rozpuszczalników,

warunków halogenowania (chlorowanie, bromowanie), warunków [REDACTED] (katalizator, rodzaj i ilość zasady, rozpuszczalnik, [REDACTED] czy temperatura), itd. Dodatkowo doktorant omówił także badania analityczne i opracowanie metody analizy nadmiaru enancjomerycznego oraz syntezą zanieczyszczeń dla potwierdzenia mechanizmów ich powstawania i wpływu na wydajność procesów.

Praca jest bardzo obszerna i szczegółowa, a jednocześnie stosunkowo łatwa w czytaniu i przejrzysta. Należy podkreślić znakomitą znajomość syntezy organicznej szczególnie syntezy asymetrycznej, katalizatorów reakcji, parametrów decydujących o przebiegu reakcji i składzie produktu końcowego oraz potencjalnych zanieczyszczeń. Doktorant potrafi także stosować metody chromatograficzne z różną detekcją zarówno w analizie przebiegu reakcji jak i oczyszczaniu i rozdziale. Podobnie metoda NMR stosowana przez doktoranta na każdym etapie realizacji projektu (jedno i wielowymiarowy homo- i heteronuklearny) potwierdzają jego szeroką wiedzę i umiejętności.

Poziom pracy formalnie i merytorycznie jest bardzo wysoki, jednakże chciałbym poprosić doktoranta o wyjaśnienie kilku problemów, które zauważyłem czytając pracę:

- po pierwsze pominę literówki, opuszczone spójniki lub zaimki. Nie ma ich zbyt wiele i na pewno przy dokładnym czytaniu da się je znaleźć i usunąć;
- na stronie 92 doktorant pisząc o zakończeniu prac na wariantem S1V1 opisał go omyłkowo jako S1V2;
- na stronie 101 w tabeli 17 monitoring wskazuje na 44% produktu a wydajność to 80%. Różnica wymaga wyjaśnienia;
- na stronie 115 w opisie syntezy związku 46-rac oraz stronie 116 w tabeli 25 doktorant stosuje nieużywane już od lat stężenie normalne (3N HCl), należy to zmienić;
- proszę o wyjaśnienie różnic pomiędzy formami keto i enol w widmie związku 121, w widmie  $^1\text{H}$  NMR nie zauważyłem obecności enolowego (silnie kwaśnego) atomu wodoru, którego sygnał powinien pojawiać się przy niskich wartościach pola (przesunięcie chemiczne powyżej 10 ppm);
- na stronie 180 w opisie ścieżki S4V6 i S4V7 opisano dwie pochodne tym samym numerem - 156;

- na stronie 197 w opisie ścieżki S5V1 w schemacie 84 zaprezentowany jest hydrazyd kwasu p-toluenosulfonowego a w opisie jest to hydrazyd kwasu benzenosulfonowego 165;
- na stronie 205 użycie żargonowego zwrotu „w kanale” powinno być zastąpione bardziej zrozumiałym „w warunkach jonizacji negatywnej”;
- na stronie 224 opisane są jedynie katalizatory miedzi (II), chociaż wspomniano także o testowaniu katalizatorów miedzi (I);

Uwagi te przytaczam jedynie z obowiązku recenzenta, aby w przyszłości można je było uwzględnić.

Pomimo przedstawionych wyżej uwag moja ocena rozprawy doktorskiej mgr farm. Wojciecha LEWANDOWSKIEGO jest bardzo pozytywna ponieważ postawione cele badawcze i poznawcze zostały zrealizowane, a doktorant wykazał się znakomitym opanowaniem warsztatu badawczego i umiejętnością właściwego i skutecznego planowania badań. Uważam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr farm. Wojciecha LEWANDOWSKIEGO spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668). Składam zatem wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne, Wydziału Farmaceutycznego, Uniwersytetu Medycznego w Warszawie o dopuszczenie mgr Wojciecha LEWANDOWSKIEGO do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lublin, dn. 2023-05-15

## Wniosek o wyróżnienie

Z uwagi na bardzo szeroki zakres wykonanych eksperymentów, skuteczność w realizacji założeń projektu oraz uzyskane wyniki uważam, że doktorant posiadał bardzo szeroką wiedzę teoretyczną i umiejętności praktyczne, zarówno w planowaniu syntez, ich realizacji jak i prezentacji wyników. Doktorat zrealizowany został w ramach projektu „Doktorat wdrożeniowy” i myślę, że w pełni spełnia wymogi do wyróżnienia doktoratu.

Lublin, dn. 2023-05-15

Dokument zweryfikowano:

pod kątem ujawnienia informacji merytorycznych i zgodności z polityką ochrony własności przemysłowej Adamed Pharma S.A. zweryfikował rzecznik patentowy - Daniel Sulikowski

pod kątem zgodności z wewnętrzną procedurą ochrony bezpieczeństwa informacji Adamed Pharma S.A. zweryfikował Kierownik Działu Bezpieczeństwa Informacji - Daniel Grudzień

pod kątem zgodności z obowiązkami partnera, wynikającymi z umowy trójstronnej dla Adamed Pharma S.A. zweryfikowała Dyrektor Badań i Rozwoju - Anna Terlecka