

**Ocena rozprawy doktorskiej Katarzyny Szczepańskiej pt. „Poszukiwanie nowych ligandów receptorów H<sub>3</sub> histaminowych w grupie pochodnych piperazyny”**

Szanowna Pani Prof. Wesołowska,

Dziękuję za list z dnia 27 lutego 2020 r., w którym poprosiła mnie Pani o recenzję powyższej rozprawy. Niniejszym chciałabym potwierdzić, że mam wystarczającą wiedzę, doświadczenie oraz kwalifikacje do napisania wnioskowanej recenzji. Od ponad 20 lat jestem profesorem chemii farmaceutycznej, pracując na tym stanowisku na uniwersytecie w Bonn od 1998 r. Opublikowałam ponad 400 oryginalnych artykułów, artykułów przeglądowych i patentów w dziedzinie chemii farmaceutycznej i medycznej, w tym farmakologii molekularnej i chciałabym nadmienić, że nie występują przeszkody natury technicznej lub prawnej ani konflikt interesów, ni stronniczość, które uniemożliwiłyby mi dokonanie oceny pracy przedstawionej przez Panią Szczepańską.

W skład rozprawy Katarzyny Szczepańskiej wchodzi pięć publikacji wraz z obszernym i aktualnym wprowadzeniem, opisem tła pracy i celu badań oraz rozdziałem o metodologii podzielonej na projektowanie ligandów i badania farmakologiczne. Praca jest kumulatywną rozprawą doktorską, zawierającą dodatkowo dotychczas nieopublikowane wyniki badań. Pani Szczepańska jest pierwszą autorką trzech oryginalnych publikacji, które już się ukazały, jednego artykułu przeglądowego w temacie badań, jak również współautorką publikacji, w której jeden z jej związków został poddany ocenie farmakologicznej w badaniach *in vivo*. Ponadto Pani Szczepańska jest współautorką czterech dodatkowych publikacji na inny temat, które nie są częścią zgłoszonej rozprawy.

Praca naukowa Katarzyny Szczepańskiej koncentruje się na specyficznej klasie receptorów sprzężonych z białkiem G, należących do podrodziny rodopsyno-podobnych GPCR, a mianowicie na receptorach histaminowych. Głównym celem pracy było opracowanie ligandów specyficznych dla podtypu receptora H<sub>3</sub> histaminowego. Podczas gdy dla receptorów H<sub>1</sub> oraz H<sub>2</sub> skuteczne leki są już dostępne na rynku, receptor histaminowy H<sub>3</sub> został odkryty bardzo późno i dopiero w ostatnich latach otrzymano silne ligandy dla tego podtypu receptora. Grupa badawcza Profesor Katarzyny Kieć-Kononowicz opracowała dotychczas szereg ligandów receptora H<sub>3</sub>

histaminowego, a w niniejszej pracy pani Szczepańska skupiła się na optymalizacji wcześniej opracowanych struktur wiodących: DL76 i DL77. W systematyczny sposób zaprojektowała nowe struktury docelowe poprzez modyfikację poszczególnych fragmentów cząsteczek. Ta systematyczna metodologia doprowadziła do otrzymania bardzo silnych antagonistów receptora H<sub>3</sub> histaminowego o wysokim powinowactwie i sile działania w niskim zakresie nanomolowym. Ponadto, dla najlepszych związków oznaczono ich właściwości fizykochemiczne i farmakokinetyczne, a następnie zoptymalizowano struktury pod kątem właściwości, które są ważne dla skuteczności *in vivo*. Istotnie, jeden z najlepszych związków, związek 9 (KSK19), wykazywał silną skuteczność w badaniach na zwierzętach, np. w teście biernego unikania wskazującym na penetrację ośrodkowego układu nerwowego i aktywność w OUN. Co więcej, związek ten przebadano na zwierzętach karmionych dietą wysokotłuszczową i stwierdzono, że prowadzi on do znacznego obniżenia przyrostu masy ciała w porównaniu z grupą kontrolną. Otwiera to drogę do nowych zastosowań terapeutycznych ligandów receptora histaminowego H<sub>3</sub>.

Rozprawa Pani Szczepańskiej rozpoczyna się aktualnym i wyczerpującym wprowadzeniem dotyczącym histaminy i jej receptorów, w tym molekularnych aspektów biologii struktury, przekazywania sygnału i ekspresji, oraz doskonałym przeglądem obecnie znanych ligandów dla podtypu H<sub>3</sub> receptora histaminowego, w tym ich potencjalnego zastosowania w różnych schorzeniach (Rozdział 1). Rozdział 2 opisuje tło pracy, przedstawiając poprzednie badania wykonane w grupie Prof. Kieć-Kononowicz, na których została oparta niniejsza rozprawa. Rozdział 3 w uporządkowany i zwięzły sposób opisuje cele zaplanowanych badań. Rozdział 4 zawiera szczegółowy opis zastosowanej metodologii, w tym projektowanie ligandów czterech różnych serii związków, które zostały następnie zsyntetyzowane. W szczególności ten rozdział, jak również cała rozprawa, wyraźnie pokazały bardzo ustrukturyzowane podejście stosowane przez doktorantkę. Strategie i metody syntetyczne zostały wyjaśnione na kilku informatywnych schematach, z następującym opisem badań *in vitro*, takich jak oznaczanie powinowactwa, selektywności, charakterystyka funkcjonalna z wykorzystaniem wysoce innowacyjnej technologii, badania metaboliczne, a także przepuszczalność przez bariery biologiczne, hepatotoksyczność i interakcje enzymatyczne. W rozdziale 5 wyniki zostały przedstawione i omówione w oparciu o aktualne doniesienia literaturowe. Ponownie, prezentacja wyników jest na najwyższym poziomie i dobrze zorganizowana, np. ważne wyniki są wyróżnione kolorem, a jej czytanie było

przyjemnością m.in. dzięki dużej łatwości zrozumienia użytych procedur oraz wyników i ich znaczenia. Rozdział 6 zawiera uwagi końcowe, które przedstawiają najważniejsze wyniki w szerszym kontekście i podkreślają najciekawsze odkrycia. Rozdział 7 zawiera listę ponad 100 odnośników literaturowych na temat rozprawy, w tym najnowsze osiągnięcia w jej dziedzinie. Bardzo pomocnym okazał się rozdział 8, który zawiera tabelę ze strukturami wszystkich końcowych związków wraz z ich powinowactwem do receptora H<sub>3</sub> histaminowego. Ta lista 80 produktów końcowych jest imponująca, szczególnie biorąc pod uwagę wysoką aktywność wielu związków. Pracę wieńczy przedruk 5 artykułów, których autorką oraz współautorką jest Pani Szczepańska.

Rozprawa Katarzyny Szczepańskiej dotyczy bardzo ważnych i aktualnych zagadnień chemii medycznej i farmaceutycznej. Doktorantka użyła nowoczesnych metodologii, aby osiągnąć zaplanowane cele i wykazała, że jest w stanie z powodzeniem prowadzić badania naukowe. Otrzymała bardzo silne ligandy receptora H<sub>3</sub> histaminowego, które okazały się aktywne w modelach zwierzęcych. Jestem pod ogromnym wrażeniem nie tylko ilości badań, które przeprowadziła kandydatka, ale również bardzo wysokiej jakości jej pracy. Na koniec chciałbym jeszcze raz podkreślić, że wprowadzenie do tematu i prezentacja wyników są doskonałe i dobrze skonstruowane, jak również to, że z wielką przyjemnością przeczytałam niniejszą rozprawę.

Wnoszę zatem do Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o zaakceptowanie rozprawy Katarzyny Szczepańskiej jako spełniającej w pełni wymagania, a zarazem doskonałej rozprawy doktorskiej oraz o promocję Pani Szczepańskiej i przyznanie jej nagrody stopnia naukowego doktora za jej ważną pracę.