



UNIwersytet Medyczny w Białymstoku

Wydział Farmaceutyczny

Zakład Biotechnologii

15-089 Białystok, ul. Kilińskiego 1

Tel. (85) 748-57-01, FAX (85) 879-57-18

aniabiel@umb.edu.pl

Prof. dr hab. n. farm. Anna Bielawska

Białystok, 30. 03. 2020

Ocena pracy doktorskiej mgr Katarzyny Pańczyk pt. "Poszukiwanie związków o potencjalnej aktywności ośrodkowej w grupie pochodnych aminoalkanoli i piperazyny"

Zaburzenia psychiczne stanowią poważny problem społeczny narastający w okresach intensywnych przemian ustrojowych, społecznych, ekonomicznych i kulturalno-obyczajowych, czy też jak w tej chwili obserwujemy - w czasach pandemii. Przyczynami zagrożenia zdrowia psychicznego są m.in. kryzys norm i wartości, pandemie, słabe więzi rodzinne, ubóstwo, nadużywanie alkoholu, narkomania, przemoc seksualna, samobójstwa i wysoki poziom przestępczości. Nie bez znaczenia dla zdrowia psychicznego jest zjawisko bezrobocia, częste zmiany pracy, mobbing, wypalenie zawodowe, surowe reguły funkcjonowania społecznego i pogłębiająca się alienacja jednostki. Obserwujemy ponadto narastające problemy zdrowia psychicznego u dzieci i młodzieży, co jest szczególnie niepokojącym zjawiskiem. Jest to wynik wymagań przekraczających możliwości uczniów, patologii w relacjach między uczniami a nauczycielami, agresji i przemocy nie tylko w szkole, ale i w domu. Badania epidemiologiczne dotyczące częstości występowania zaburzeń psychicznych obejmujące całą populację i przeprowadzone z użyciem kryteriów diagnostycznych zawartych w ICD-10 należą w Polsce do rzadkości i dlatego tak często jesteśmy zmuszeni opierać się na wynikach pochodzących z piśmiennictwa zagranicznego. Według Światowego Raportu Zdrowia z 2001r. do roku 2020 zaburzenia psychiczne znajdują się na drugim miejscu w rankingu obciążenia chorobami na świecie. Zaburzenia psychiczne dotyczą w ciągu życia ponad 25% ludzi. Aktualnie spośród dzieci i młodzieży do lat 15, na różnego typu zaburzenia psychiczne cierpi aż 20%. Nie dziwi duże zainteresowanie struktur Światowej Organizacji Zdrowia problemem chorych z zaburzeniami psychicznymi. W 2004

roku belgijscy naukowcy zdecydowali się zbadać częstość występowania zaburzeń psychicznych w państwach Europy. Wyniki pokazały, iż w pewnym momencie życia i przez pewien czas wystąpiły one u aż ¼ badanych osób, w tym dwa razy częściej u kobiet niż u mężczyzn. Do zdecydowanie najczęstszych należały zaburzenia depresyjne i lękowe, które wystąpiły odpowiednio u 12,8% i 13,6% badanych (u części z nich występowały oba rodzaje). Z powodu dużej częstości występowania, a także uciążliwości chorób i obniżenia standardu życia pacjentów, rynek leków stosowanych w tych schorzeniach jest jednym z największych, a jego wartość rośnie z roku na rok. Same antydepresanty stanowią trzecią najczęściej sprzedawaną grupę leków na świecie, a firmy farmaceutyczne i ośrodki badawcze nie ustępują w poszukiwaniu coraz to nowych związków chemicznych zdolnych pomóc wielu milionom ludzi. Wciąż szuka się nowych substancji; zarówno poprzez modyfikację wcześniej już znanych związków, jak i przez tworzenie leków innowacyjnych, o budowie lub mechanizmie działania całkowicie różnym od tych stosowanych obecnie.

Obecnie nie ma farmakoterapii, która w sposób wystarczający ograniczałaby występowanie objawów padaczki, bólu neuropatycznego, depresji czy zaburzeń lękowych. Badania kliniczne, w zakresie skuteczności i tolerancji potencjalnych leków psychotropowych, nie dają jednoznacznej odpowiedzi, jak wiele receptorów i/lub układów enzymatycznych, powinno być zaangażowanych w celu przeprowadzenia optymalnej, wielokierunkowej terapii. Celowana modulacja kilku układów efektorowych powinna uwzględniać wyeliminowanie niekorzystnych efektów i włączenie dodatkowej, korzystnej aktywności receptorowej i/lub enzymatycznej. Wyniki badań przedklinicznych potwierdzają, że tego typu strategia może przynieść terapeutyczne korzyści w leczeniu schorzeń OUN o złożonej etiologii.

W świetle przytoczonych faktów wybór tematu pracy doktorskiej mgr Katarzyny Pańczyk "Poszukiwanie związków o potencjalnej aktywności ośrodkowej w grupie pochodnych aminoalkanoli i piperazyny" jest istotny, aktualny i interesujący, o dużych walorach praktycznych. Układ przedstawionej do recenzji pracy jest typowy dla rozpraw doktorskich, z podziałem na rozdziały: wprowadzenie, założenia i cel pracy, badania własne, podsumowanie i wnioski, część doświadczalna, literatura, wykaz zastosowanych skrótów i symboli, wykaz tabel, wykaz rycin, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz aneks. Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Pańczyk liczy 136 stron tekstu, w których zawarty jest 25 rycin i 19 tabel bez uwzględnienia rycin i tabel zawartych w aneksie. Tabele i ryciny umieszczono w tekście, co znacznie ułatwia korzystanie z nich w czasie czytania. Doktorantka posługuje się precyzyjnym, zwięzłym językiem naukowym, swobodnie poruszając się w

terminologii omawianych zagadnień. Zwraca uwagę wielka staranność graficzna i edytorska pracy. Piśmiennictwo liczy 292 pozycje i jest właściwie dobrane i cytowane.

We wstępie pracy Doktorantka przedstawia informacje szeroko naświetlające zakres tematyczny podjętych badań. W rozdziałach tych Autorka omawia zagadnienia dotyczące patomechanizmu i terapii chorób ośrodkowego układu nerwowego. Autorka pracy doktorskiej dokładnie scharakteryzowała patofizjologię i terapię padaczki, bólu neuropatycznego, depresji i lęku. Mgr Katarzyna Pańczyk szczegółowo omawia także zagadnienia dotyczące tych celów molekularnych, które zlokalizowane są w obrębie OUN, szczegółowo i wnikliwie omawia układ serotonergiczny, noradrenergiczny, receptory σ oraz receptory μ -opiodowe. Wstęp pracy doktorskiej napisany jest precyzyjnym, zwięzłym językiem naukowym i jest doskonałym wprowadzeniem czytelnika do dalszej części dysertacji.

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Pańczyk jest nadzwyczaj obszerna i obejmuje projektowanie, syntezę chemiczną, badania fizykochemiczne, badania farmakologiczne *in vitro* i *in vivo*, badania bezpieczeństwa przeprowadzone dla wybranych związków aktywnych oraz badania mechanizmu aktywności. Badania są doskonale zaplanowane, przemyślane, wykonane i opisane w recenzowanej dysertacji, co potwierdza, iż Doktorantka pracowała z wybitnym Mistrzem profesorem Henrykiem Maroną, a promotorem Jej rozprawy doktorskiej jest wspaniały naukowiec – Dr hab. Anna Waszkielewicz. Na podstawie wyników badań wcześniej prowadzonych w Zakładzie Chemii Bioorganicznej Katedry Chemii Organicznej UJ CM w ramach recenzowanej pracy doktorskiej zaprojektowano i otrzymano drogą syntezy chemicznej znaczącą ilość – aż 70 związków (w tym 57 pochodnych aminoalkanolu i 13 pochodnych piperazyny), o potencjalnej aktywności ośrodkowej – przeciwdrgawkowej, przeciwbólowej w bólu neuropatycznym, przeciwdepresyjnej i/lub przeciwłękowej. Opisane badania fizykochemiczne uzyskanych związków obejmują analizę widm NMR, IR, LCMS, HRMS, chromatografii HPLC, analizę elementarną oraz badanie skręcalności właściwej.

W ramach recenzowanej pracy doktorskiej uzyskane związki zostały poddane oszacowaniu potencjalnej toksyczności *in silico*, w których uwzględniono ich potencjalną mutagenność, rakotwórczość oraz toksyczność. Do tych badań wykorzystano dwa alternatywne programy Osiris Property Explorer oraz Lazar. Jest to niezmiernie istotne gdyż wprowadzenie na rynek nowego leku jest niezwykle kosztownym procesem. Koszty te nie rozkładają się równomiernie na poszczególne etapy badań potencjalnej substancji leczniczej i wdrażania leku. Większość z nich pochłania przygotowanie i przeprowadzenie całości procedury badań przedklinicznych i klinicznych zgodnie z obowiązującymi – coraz surowszymi zarówno pod kątem naukowym, jak i etycznym – procedurami i zasadami. Znaczny wzrost wymagań,

stawianych nowym lekiem przez agencje rejestrujące (FDA, EMEA), skutkuje zwiększeniem odsetka związków odrzucanych na kolejnych etapach rozwoju. Zachodzi pilna potrzeba zastosowania technik i narzędzi umożliwiających odrzucenie badanych związków na możliwie początkowym etapie procesu rozwoju leku, zanim osiągnie on etap kosztownych badań klinicznych. Istnieje obecnie możliwość zastosowania metod *in silico* we wczesnych badaniach, nawet jeszcze przed otrzymaniem na drodze syntezy organicznej potencjalnego leku. Zastosowanie modelowania komputerowego podczas badań nad bezpieczeństwem potencjalnych leków pozwala wskazać obszary wymagające dalszego potwierdzenia doświadczalnego w modelach *in vitro* oraz *in vivo*. Powoduje to, że do kosztownych badań klinicznych dochodzą cząstki bezpieczniejsze oraz z dużą szansą na spełnienie wymogów agencji rejestrujących leki. Wyznaczenie właściwości toksycznych i działań niepożądanych jest niezwykle trudnym i złożonym zadaniem. Określenie „toksyczność” obejmuje szeroki zakres efektów. Niejednokrotnie zbliżone strukturalnie cząstki mogą powodować różne efekty toksyczne.

Uznanie Recenzentki budzą także szeroko zakrojone badania farmakologiczne *in vitro* i *in vivo*, badania bezpieczeństwa oraz mechanizmu aktywności otrzymanych uprzednio związków. Badania *in vivo* potwierdziły aktywność przeciwdrgawkową 27 pochodnych aminoalkanoli. Jedną z tych pochodnych - związek 5 (2-((2-(2,3,5-trimetylofenoksy)etylo)amino)cycloheksan-1-ol) okazał się również aktywny przeciwbólowo w modelu bólu indukowanego oksaliplatyną. Dla wybranych związków aktywnych zbadano także potencjalną aktywność antyoksydacyjną *in vitro*, jednak żaden z nich nie wykazał pożądanego działania. Zbadano także powinowactwo wybranych związków do receptorów 5-HT_{1A}. Najwyższe powinowactwo wobec badanego typu receptora wykazał związek 5, o wielokierunkowej aktywności przeciwdrgawkowej i przeciwbólowej w bólu neuropatycznym.

Zsyntetyzowane pochodne piperazyny zbadano przesiewowo pod kątem powinowactwa wobec szeregu receptorów serotonergicznym, adrenergicznym i/lub dopaminergicznym. Badania *in vivo* wykazały aktywność przeciwlękową związku 58 (dichlorowodorku 1-(2-(2,5-dimetylofenoksy)etylo)-4-fenylpiperazyny) i związku 64 (dichlorowodorku 1-(2-(2-(2,6-dimetylofenoksy)etoksy)etylo)-4-(2-fluorofenilo)piperazyny). Związek 60 (dichlorowodorek 1-(4-(2,5-dimetylofenoksy)butylo)-4-fenetylopiperazyny) wykazywał wielokierunkową aktywność przeciwdepresyjną i przeciwdrgawkową. Dla związku 58 wykonano dodatkowo szeroki panel badań receptorowych w celu potwierdzenia ewentualnych dodatkowych mechanizmów jego działania, badanie krystalograficzne oraz dokowanie do wybranych receptorów (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} i 5-HT₇). Zdaniem Doktorantki, wyniki badań potwierdziły

prawdopodobny udział układu serotonergicznego i/lub adrenergicznego w aktywności przeciwlękowej i wskazały receptory μ -opiodowe, jako potencjalny dodatkowy cel molekularny dla badanej grupy związków. W przypadku depresji wskazały natomiast na prawdopodobny udział innych mechanizmów poza modulacją aktywności receptorów objętych badaniami przesiewowymi. Te optymistyczne wyniki otwierają furtkę do dalszych badań i udoskonalenia terapii leczniczych z wykorzystaniem tej klasy związków.

Choć w rozdziale „Podsumowanie i wnioski” Doktorantka przeprowadziła szczegółową analizę uzyskanych wyników czytelnik rozprawy może odczuwać niedosyt związany z brakiem konfrontacji badań własnych z osiągnięciami innych zespołów badawczych. Brakuje także wyraźnego uwypuklenia, które spośród uzyskanych wyników mają zdaniem Doktorantki charakter nowatorski i wnoszą istotny wkład w farmakoterapię chorób ośrodkowego układu nerwowego.

Można uznać, że choć podjęte przez Doktorantkę badania mają charakter podstawowy to mogą mieć one konsekwencje aplikacyjne. Połączenie tych dwóch cech stanowi o poważnym ciężarze gatunkowym wyników przedstawionych w pracy. Należy również podkreślić budzący podziw ogromny dorobek naukowy mgr Katarzyny Pańczyk, jest Ona jest autorem, lub współautorem 18 znaczących prac naukowych o wysokich współczynnikach oddziaływania IF, wynoszącym łącznie 33,851, 449 punktów MNiSW.

Reasumując przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Katarzyny Pańczyk pt. „Poszukiwanie związków o potencjalnej aktywności ośrodkowej w grupie pochodnych aminoalkanoli i piperazyny” cechuje się istotnymi walorami, do których zalicza się adekwatną do postawionych zadań metodykę, aktualność i wartość praktyczną uzyskanych wyników oraz wartościową dyskusję dowodzącą wiedzy i opanowania tematu przez Doktorantkę. Rozprawę doktorską oceniam bardzo wysoko, uważam za niezwykle interesującą oraz nowatorską. Stanowi ona samodzielny dorobek naukowy, w pełni spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim i spełnia wymogi określone w Art. 13 ust. 1 z dn. 14 marca 2003r. o stopniach i tytule naukowym z późniejszymi poprawkami z 2014r. (Dz.U. Poz. 1852). Ze względu na te walory, pragnę rekomendować rozprawę doktorską mgr Katarzyny Pańczyk do wyróżnienia.

Z wielką przyjemnością mam zaszczyt przedstawić wniosek Radzie Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Collegium Medium Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr Katarzyny Pańczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakład Biotechnologii
Anna Bielawska
prof. dr hab. Anna Bielawska