prof. dr hab. Monika Wujec
Katedra i Zakład Chemii Organicznej
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Lublin, 16.08.2021

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Jankowskiej pt. „Novel anilide and benzylamide derivatives as 5-HT_{1A}/5-HT_7 receptor ligands and phosphodiesterase type 4 and 7 inhibitors with potential procognitive and antidepressant activity" wykonanej w Zakładzie Chemii Leków Katedry Chemii Farmaceutycznej UJ CM w Krakowie

Zespoły depresyjne oraz otępienne należą do najczęstszych zaburzeń psychicznych u osób starszych, powyżej 65 roku życia. Mogą występować niezależnie od siebie, mogą także być mylone ze sobą ale często także depresja jest wtórnym objawem otępienia. Zespoły otępienne występują u ponad 10% społeczeństwa, depresja natomiast w Polsce u 3% populacji. W innych krajach ten odsetek jest zdecydowanie wyższy. Ostatni rok, rok pandemii z pewnością przyczyni się do wzrostu tych statystyk.

Pomimo dość szerokiego wachlarza leków przeciwdepresyjnych i niestety niewielkiej ilości leków usprawniających procesy myślowe brak jest farmaceutyków mających zastosowanie w obu tych schorzeniach. Leczenia zaburzeń pamięci i jednocześnie stanów depresyjnych jest wciąż wyzwaniem. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska poświęcona jest próbie znalezienia nowych związków chemicznych, działających poprzez różne cele molekularne, mogących mieć zastosowanie w leczeniu zarówno stanów depresyjnych, jak i poprawiać funkcje poznawcze.

Celem bezpośrednim pracy było zaprojektowanie oraz synteza nowych anilinowych oraz benzyloamidowych pochodnych długołańcuchowych amin cyklicznych jako wielofunkcyjnych ligandów receptorów serotoninowych 5-HT_{1A} i 5-HT_7 oraz inhibitorów fosfodiesterazy 4 i 7 o potencjalnej aktywności prokognitywnej i przeciwdepresyjnej.

Praca doktorska przedstawiona do recenzji jest opracowana w sposób klasyczny. Zawiera wprowadzenie, cel pracy, rezultaty i dyskusję, podsumowanie, część eksperymentalną oraz piśmiennictwo.

W części wprowadzającej Autorka opisuje możliwe cele molekularne dla leków przeciwdepresyjnych oraz prokognitywnych – receptory serotoninowe 5-HT_{1A} oraz 5-HT_7 i enzymy – fosfodiesterazy 4 i 7, a także przegląd najnowszej literatury dotyczącej wielofunkcyjnych ligandów wpływających na przewodnictwo serotoninergiczne oraz hamujących aktywność fosfodiesteraz.

Jest to bardzo dobre, wyczerpujące opracowanie, oparte na 199 pozycjach literaturowych w przeważającej ilości z ostatniej dekady.

Założenia i cele realizowanej pracy badawczej opisane są w sposób wyczerpujący i klarowny. Należy zwrócić uwagę na szeroki panel badań, które zostały zaplanowane i wykonane.

Pierwszy etap badań własnych polegał na stworzeniu, w oparciu o strategię hybrydyzacji molekularnej wspieranej badaniami *in silico* oraz analizą podobieństwa do stosowanych leków, cząsteczki związku H-1, będącego prekursorem, strukturą wiodącą dla kolejnych pochodnych.

Doktorantka zsyntetyzowała metodami klasycznej chemii organicznej 90 nowych związków. Modyfikacje struktury pochodnej H-1 dotyczyły zamiany podstawnika 2-metoksyfenylopiperazyny na 2-hydroksyfenylopiperazynę, 2-etoksyfenylopiperazynę, 2-chlorofenylopiperazynę, 3-chlorofenylopiperazynę, 2,3-dichlorofenylopiperazyne, 4-fluorofenylopiperazynę, fenylopiperazynę, pirymidynylopiperazynę, 6,7-dimetoksy-1,2,3,4-tetrahydroizochinolinę, zmianę podstawnika 2-hydroksy-5-*tert*-butylofenylowego na monopodstawiony pierścień fenylowy oraz zmianę długości łańcucha alkilowego. Pierwszy etap syntezy polegał na reakcji alkilowania pochodnych arylopiperazyny. Doktorantka uzyskała w ten sposób odpowiednie estry, które następnie poddała hydrolizie zasadowej, otrzymując wolne kwasy. Kolejno w reakcji z aminami: pochodnymi aniliny i benzyloaminy otrzymała związki finalne. Trzy związki zostały otrzymane dodatkowo inną metodą, z użyciem syntezatora mikrofalowego. Wydajności procesów nie zwiększyły się, jednak czas syntezy był zdecydowanie krótszy. Strukturę wszystkich nowych pochodnych pani Jankowska potwierdziła metodami spektralnymi. Dla wybranych związków została również wykonana analiza elementarna.

Analizując rozdział poświęcony syntezie daje się zauważyć pracowitość i skrupulatność Doktorantki oraz opanowanie technik syntezy zarówno klasycznej, jak i nowych metod, z użyciem promieniowania mikrofalowego. Mam dwa pytania do tej części pracy. W seriach związków C i D brakuje pochodnych z podstawnikiem 3-izopropylowym. Dlaczego? Według jakiego klucza Doktorantka wybrała związki do analizy pierwiastkowej?

Kolejne etapy pracy czyli badania *in vitro* powinowactwa do receptorów serotoninowych i hamowania aktywności fosfodiesteraz, zostały wykonane we współpracy z zespołem prof. Bojarskiego oraz prof. Wyskiej. Spośród badanych związków najwyższym powinowactwem w stosunku do receptorów serotoninowych charakteryzowały się związki z serii A oraz B. Trzy związki serii A oraz pięć z serii B wykazało aktywność w stosunku do receptora 5-HT_{1A} wyższą niż buspiron. Kilka związków, zasadniczo z każdej serii, wykazało cechy inhibitorów PDE4B i/lub PDE7A. Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka przeprowadziła analizę SAR, określając zależności pomiędzy strukturą a aktywnością w każdej serii związków. Jest to wartościowa część dyskusji, pozwalająca na racjonalne planowanie kolejnych syntez.

Najbardziej aktywne w badaniach receptorowych pochodne Doktorantka przekazała do Katedry Farmakologii UJ CM celem wyselekcjonowania na podstawie testów funkcjonalnych *in vitro* silnych antagonistów receptora 5-HT_{1A} o zróżnicowanych właściwościach antagonistycznych w stosunku do receptora 5-HT_7. Na podstawie wyników przeprowadzonych eksperymentów pani Jankowska wybrała sześć związków, dla których przeprowadzono w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych badania biodostępności i stabilności metabolicznej metodami *in vitro*. Na podstawie uzyskanych wyników wszystkich powyższych testów Doktorantka wybrała trzy nowe pochodne do badań na zwierzętach celem oceny ich właściwości przeciwdepresyjnych i prokognitywnych. Wykonano trzy testy: test wymuszonego pływania (forced swimming test), otwartej przestrzeni (open field test), oraz test rozpoznawania nowego obiektu (novel object recognition test). Otrzymane wyniki badań pozwoliły na wytypowanie jednego związku: chlorowodorku 5-(4-(2-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo)-N-(4-izopropylofenylo)pentanoamidu o właściwościach przeciwdepresyjnych i prokognitywnych. Na koniec Doktorantka przekazała trzy związki do badań właściwości neuroprotekcyjnych. Analizując ten fragment pracy nasuwa się pytanie, skąd wybór tych trzech konkretnych związków do badań? Chciałabym, aby Doktorantka ustosunkowała się do tego podczas obrony rozprawy doktorskiej.

Reasumując, uważam iż praca mgr Agnieszki Jankowskiej jest przykładem doskonale zaplanowanej i bardzo dobrze wykonanej pracy badawczej. Autorka przeprowadziła obszerną dyskusję wyników, wykazując się przy tym umiejętnością wyciągania adekwatnych wniosków.

Na szczególną uwagę zasługuje także aktywność publikacyjna Doktorantki. Jest współautorką 17 publikacji, w 10 z nich jest pierwszym autorem. Współczynnik oddziaływania IF wynosi

58.081! Te dwa ostatnie zdania mogłyby być w zasadzie recenzją rozprawy doktorskiej mgr Jankowskiej. Jest to imponujący dorobek, jak na doktorat.

Praca napisana jest bardzo ładnym językiem, przejrzyście, z czytelnymi tabelami i wykresami. Nieznaczne błędy, jak np. brak rozwinięcia kilku skrótów nie są warte nawet przytaczania.

Rozprawę doktorską pani Agnieszki Jankowskiej oceniam bardzo wysoko, uważam ją za nowatorską, niezwykle ciekawą, mającą potencjał aplikacyjny, spełniającą wymagania stawiane rozprawom doktorskim z nawiązką. Wobec tego mam zaszczyt przedstawić Radzie Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie wniosek o nadanie mgr Agnieszce Jankowskiej stopnia doktora nauk farmaceutycznych.

Z uwagi na wysoki poziom pracy, a także dorobek publikacyjny Doktorantki, pragnę rekomendować rozprawę doktorską mgr Agnieszki Jankowskiej do wyróżnienia.