UNIWERSYTET ŚLĄSKI
W KATOWICACH

Prof. Robert Musioł
Instytut Chemii
Uniwersytet Śląski w Katowicach

Katowice 27.04.2023

Recenzja pracy doktorskiej zatytułowanej „Poszukiwanie nowych ligandów receptorów adenozynowych i inhibitorów MAO-B w grupie pochodnych ksantyn" autorstwa Pana mgr Jakuba Schabikowskiego

Pan mgr Jakub Schabikowski swoją pracę naukową realizował w ramach projektów prowadzonych w grupie Pani prof. dr hab. Katarzyny Kieć-Kononowicz i skoncentrowanych na poszukiwaniu potencjalnych leków celowanych w receptory adenozynowe. Taki nurt badań jest zbieżny ze szczególnie ważnymi wyzwaniami jakie stoją przed farmakologią i chemią medyczną. Receptory adenozynowe mają potencjał terapeutyczny w leczeniu chorób związanych z układem nerwowym, krwionośnym czy nowotworami. Z uwagi na powszechne rozmieszczenie tych receptorów oraz występujące podtypy możliwe powinno być ich wykorzystanie w leczeniu szeregu chorób obejmującego zaburzenia neurodegeneracyjne, układu pokarmowego, choroby metaboliczne oraz sercowo-naczyniowe. W szczególności receptory A_{2A} są celem istradefiliny leku wspomagającego w terapii Parkinsonizmu. Blokowanie receptorów A_1 tymczasem, można wykorzystać w leczeniu chorób serca. Poszukiwanie dalszych możliwości terapeutycznych czy nowych leków uzależnione jest od poznania zależności między strukturą i aktywnością ligandów oraz szerokiego wachlarza efektów działania na receptory adenozynowe. W związku z tym tematykę pracy pana mgr Schabikowskiego należy ocenić jako ważną i potrzebną. Dodatkowe i szczególnie interesujące zagadnienie z jakim zmierzył się on w swojej pracy jest podejście wielocelowe w projektowaniu aktywnych struktur. Jako cele molekularne projektowanych przez siebie cząsteczek obrał również monoaminooksydazy czyli enzymy kluczowe w procesach metabolicznych oraz dla funkcjonowania układu nerwowego. Takie połączenie celów działania leku może być niezwykle korzystne z punktu widzenia potencjalnego zastosowania terapeutycznego.

Uniwersytet Śląski w Katowicach
Wydział Nauk Ścisłych i Technicznych
Instytut Chemii
ul. Szkolna 9, 40-006 Katowice
tel. 32 359 15 45, e-mail: ich.wnst@us.edu.pl

www.us.edu.pl/instytut/ich

Działanie polifarmakologiczne polegające na poszukiwaniu leków posiadających kilka celów lub mechanizmów działania jest odpowiedzią na niską efektywność projektowania skierowanego na selektywność. W gruncie rzeczy, idea wielocelowości nie jest niczym nowym w chemii medycznej, gdyż jak wiadomo, każdy lek charakteryzuje się pewnym spektrum działania określanym często mianem krajobrazu; „landscape of activity". Jednakże dotychczas, zjawisko to odbierano jako źródło efektów ubocznych leku i problem do przezwyciężenia poprzez projektowanie super-selektywnych cząsteczek. Nieskuteczność tej strategii a zwłaszcza pojawianie się lekooporności, która może wyeliminować wiele selektywnych leków skłania do poszukiwania alternatywnych rozwiązań. Leki wielocelowe mają szereg zalet jednakże ich projektowanie jest jeszcze trudniejszym zadaniem, o czym również przekonał się doktorant w trakcie swoich badań.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa zachowuje klasyczny układ zamykając w 200 stronach wprowadzenie, założenia i cel pracy, opis wyników wraz z dyskusją oraz część eksperymentalną, która stanowi połowę objętości dysertacji. Całość zamyka spis 227 pozycji literaturowych w większości obejmujących prace opublikowane w międzynarodowych periodykach po 2000 r. Jako załączniki autor dołączył przedruki swoich trzech związanych tematycznie z pracą publikacji naukowych. Warto nadmienić, że są to publikacje szczególnie ważne dla tematu zdaniem autora, gdyż całkowity jego dorobek obejmuje więcej prac z tego zakresu. Język rozprawy jest klarowny i poprawny. Dobre wrażenie robi niewielka liczba dostrzeżonych błędów edytorskich czy stylistycznych. Jednym z niewielu wyjątków, sprawiających niejaki dysonans w trakcie lektury, jest nielogiczne zastosowanie określenia „struktura" zamiennie ze słowem „związek". Struktura to jest cecha konkretnego związku wynikająca z opisu budowy zgodnego z naukowym paradygmatem. W związku z tym można ją badać, analizować oraz opisać ale nie syntezować. Syntezujemy związki mające określoną strukturę. Podczas opisywania aktywności związków autor posługuje się często terminem „toleruje" na określenie pozytywnego wpływu danego podstawnika na zdolność do wiązania z receptorem czy aktywność. Nie jest to wprawdzie błąd, lecz niepotrzebna kalka z anglojęzycznych publikacji.

Wprowadzenie wraz z analizą stanu wiedzy i literatury dostępnej na temat receptorów oraz monoaminooksydaz oraz ich antagonistów jest poprawne, wykorzystuje aktualną wiedzę np. trwające testy kliniczne. Trudno jednak oprzeć się wrażeniu, że autor posuwa się do trywializowania niektórych treści. Niedosyt informacji oraz ich krytycznej analizy doskwierał szczególnie podczas lektury ogólnej budowy, mechanizmu działania i znaczenia receptorów adenozynowych (1 strona tekstu) czy możliwości ich wykorzystania w leczeniu wraz z opisem aktualnych badań prowadzonych w tym zakresie (półtorej strony).

Uniwersytet Śląski w Katowicach
Wydział Nauk Ścisłych i Technicznych
Instytut Chemii
ul. Szkolna 9, 40-006 Katowice
tel. 32 359 15 45, e-mail: ich.wnst@us.edu.pl

www.us.edu.pl/instytut/ich

Cel pracy został przedstawiony jasno wraz z jego uzasadnieniem oraz poparciem wyboru konkretnej drogi do realizacji. Podobnie część zawierająca dyskusję wyników a w szczególności eksperymentalna cechuje przejrzystość, klarowność i przyjemna w odbiorze dbałość o szczegóły. Ma to znaczenie tym większe, że Pan mgr Schabikowski miał przed sobą ambitny cel, którego realizacja wymagała poważnych nakładów pracy laboratoryjnej a jej opis mógłby okazać się trudny w odbiorze. Otrzymał w sumie 165 związków w zdecydowanej większości wymagających wieloetapowych procedur. Związki przez niego syntezowane, oparte na naturalnym rdzeniu teofiliny, trudne w otrzymywaniu oraz analizie. Swoboda z jaką opisuje poszczególne etapy syntez i przedstawia osiągnięte wyniki świadczą o dużym doświadczeniu w pracy syntetycznej oraz znajomości tematu. Chwilami autor zapomina się i przedstawia wyniki w sposób utrudniający ich zrozumienie i porównanie czytelnikowi, który najprawdopodobniej widzi je po raz pierwszy. Przykładowo konwencja numerowania podstawników grupowych „R" nie jest zachowana w ramach podrozdziałów. W konsekwencji, to co jest podstawnikiem R^3 na rycinie przedstawiającej etapy syntezy staje się podstawnikiem R^1 lub R^2 w tabeli zbiorczej poniżej.

Modyfikacje wybrane dla zbadania założonych efektów obejmowały pozycje heteroatomów N1, N3 oraz N7 a także pozycję C8 rdzenia ksantynowego co przełożyło się na trzy główne serie kongenerycznych pochodnych. Związki otrzymane w trakcie pracy były testowane wobec receptorów A_1, A_{2A}, A_{2B} oraz A_3 adenozynowych oraz jako inhibitory monoaminooksydazy B (MAO-B). Wiązanie do receptorów zostało określone w testach wypierania radioligandu we współpracy z prof. Christą Muller z Instytutu Farmaceutycznego Uniwersytetu Reńskiego Fryderyka Wilhelma w Bonn. Aktywność w blokowaniu MAO-B została określona w grupie prof. Kieć-Kononowicz. Dodatkowo wybrane związki o szczególnie wysokiej aktywności zostały zbadane w warunkach *in vivo* pod kątem aktywności przeciw-parkinsonowej na modelu mysim. Autor opisał dokładnie metodę badania aktywności wobec receptorów adenozynowych jednak pominął badania hamowania MAO-B. Szkoda, nawet jeśli ten rodzaj testów jest o wiele prostszy i ugruntowany w praktyce laboratoryjnej niż testy z radioligandem. Tym bardziej, że w części eksperymentalnej te oznaczenia zostały potraktowane równie pobieżnie odsyłając czytelnika do literatury. Wyniki oznaczeń zostały wykorzystane do analizy zależności między strukturą i aktywnością (SAR). To z kolei pozwoliło wytypować cechy pożądane w projektowaniu wysokoaktywnych i selektywnych antagonistów. W serii I która obejmowała wprowadzenie dłuższych łańcuchów alkilowych w heteroatomach oraz zmianą dobudowanego pierścienia uzyskano aktywność wobec receptorów zarówno selektywną jak i podwójną A_1/A_{2A}. Najbardziej aktywne związki z tej serii osiągające poziom 0,1 μM zostały wytypowane do badań *in vivo*.

Uniwersytet Śląski w Katowicach
Wydział Nauk Ścisłych i Technicznych
Instytut Chemii
ul. Szkolna 9, 40-006 Katowice
tel. 32 359 15 45, e-mail: ich.wnst@us.edu.pl

www.us.edu.pl/instytut/ich

Co ciekawe w zależności od rodzaju testu katalepsji wywołanej haloperidolem większą aktywnością charakteryzowały się pochodne selektywne wobec A_1 lub A_2. Bardziej rozbudowana II seria związków zaowocowała wytypowaniem cech strukturalnych odpowiedzialnych za wiązanie do receptorów oraz monoaminooksydazy. Warto podkreślić, że niektóre otrzymane pochodne uzyskiwały selektywność wobec wybranych receptorów na poziomie trzech rzędów wielkości. Jednocześnie wykazano, że cechy strukturalne warunkujące wysoką aktywność wobec MAO-B mogą wykluczać powinowactwo do receptorów adenozynowych. Ten wartościowy i ciekawy wniosek pokazuje jak trudne może być projektowanie leków wielocelowych.

Zastanawiające jest czemu w dysertacji nie uwzględniono eksperymentów w warunkach *in silico* pozwalających uzyskać większą dokładność we wnioskowaniu o sposobie wiązania oraz cechach pożądanych dla efektywnego wiązania. Tym bardziej, że dokładne struktury omawianych białek są dostępne w literaturze. Jednocześnie trzeba podkreślić, że takie badania zostały wykonane a opis ich można znaleźć w publikacjach załączonych do rozprawy dziwi więc brak choćby skrótowego uwzględnienia tych wyników. Mimo to, stwierdzam, że omówienie wyników jest wyczerpujące i poprawnie przeprowadzone. Wnioskowanie jest klarowne i dobrze świadczy o wiedzy i doświadczeniu autora. Posumowanie wyników jest rozbudowane i ułatwia zrozumienie co zostało osiągnięte w pracy oraz podążanie za głównym jej nurtem. Zdecydowanie jednak brakuje jednak bardziej ogólnej opinii autora na temat znaczenia prezentowanych wyników zwłaszcza w kontekście przyszłych badań. Jakie w oczach autora możliwości otwierają uzyskane i omawiane przez niego wyniki. Tak znaczna ilość wygenerowanych danych ma pewien potencjał dla dalszego rozwoju tematyki podjętej przez doktoranta.

Najbardziej rozbudowana część rozprawy obejmująca opis wykonanych eksperymentów jest również klarowna. Metodologia nie budzi żadnych zastrzeżeń a opis przeprowadzonych syntez pozwala na optymizm podczas ich ewentualnego powtarzania. Spis cytowanej literatury również jest pozbawiony większych błędów, jeśli nie liczyć nieścisłości w stylu zapisu źródeł. Pełne nazwy czasopism przeplatane są ze skrótowcami zarówno tymi oficjalnymi jak i zupełnie przypadkowymi, najwyraźniej będącymi osobistym wkładem autora w zasady cytowania. Przykładowo pozycje 52 vs 65 czy 69 vs 76 oraz pozycje 224 i 225.

W podsumowaniu recenzji należy zauważyć, że moje krytyczne uwagi nie odnoszą się do części metodologicznej pracy czy wnioskowania. Pod tym względem bowiem, rozprawa została przygotowana z właściwą starannością i stanowi istotny wkład w badania nad nowymi potencjalnymi lekami. Syntetyczny rozmach pracy dobrze świadczą o biegłości doktoranta w posługiwaniu się technikami chemii organicznej.

Uniwersytet Śląski w Katowicach
Wydział Nauk Ścisłych i Technicznych
Instytut Chemii
ul. Szkolna 9, 40-006 Katowice
tel. 32 359 15 45, e-mail: ich.wnst@us.edu.pl

www.us.edu.pl/instytut/ich

Otrzymane wyniki mogą przyczynić się do powstania nowych leków wykorzystujących polifarmakologiczne mechanizmy aktywności oraz w znaczącym stopniu zwiększają naszą wiedzę w zakresie oddziaływań z receptorami adenozynowymi. Warto również zauważyć, że wyniki badań prowadzonych przez Pana mgr Schabikowskiego stały się podstawą do powstania ośmiu prac naukowych, opublikowanych w bardzo dobrych czasopismach z zakresu chemii leków. Przy czym całkowity dorobek autora jest większy obejmując dwie prace nie związane z tematyką badań. Szkoda że autor nie zamieścił pełnej scjentometrycznej charakterystyki swojego dorobku wraz z liczbą wystąpień konferencyjnych czy współczynnikami oddziaływania. Utrudnia to pełne scharakteryzowanie jego sylwetki naukowej.

Uwzględniając powyższe stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca stanowi nowe opracowanie zakresie chemii leków i farmakologii oraz wnosi znaczący wkład w badania nad inhibitorami monoaminooksydaz oraz antagonistów receptorów adenozynowych o potencjale leczniczym, spełniając tym samym wymagania stawiane podobnym rozprawom według ustawy z dnia 14 marca 2003 r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z późniejszymi zmianami. Dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie doktoranta do dalszych etapów przewodu.

Uniwersytet Śląski w Katowicach
Wydział Nauk Ścisłych i Technicznych
Instytut Chemii
ul. Szkolna 9, 40-006 Katowice
tel. 32 359 15 45, e-mail: ich.wnst@us.edu.pl

www.us.edu.pl/instytut/ich