Prof. dr hab. Monika Wujec
Katedra i Zakład Chemii Organicznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Lublin, 4.10.2022

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Marty Olszak-Płachty pt. „ Antagoniści receptora 5-HT_6 z grupy pochodnych pirydynylopiperazyny o działaniu na ośrodkowy układ nerwowy" wykonanej w Ryvu Therapeutics S.A. pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja Bojarskiego

Choroby ośrodkowego układu nerwowego nie są zaliczane do głównych przyczyn zgonów na świecie jednak są niezwykle uciążliwe dla pacjentów. Obniżają znacząco komfort życia, wpływając tym samym bardzo często na jego długość. Coraz częściej słyszymy o chorobach przebiegających z zaburzeniami procesów poznawczych i to nie tylko w odniesieniu do seniorów, ale także osób młodszych. Procesy poznawcze pozwalają ludziom zdobywać wiedzę o otoczeniu jak też komunikować się z nim. Zaburzenia funkcji poznawczych powodują, że chory z czasem nie jest w stanie sam funkcjonować. Rodzi to kolejne problemy zdrowotne. Poszukiwanie zarówno przyczyn zaburzeń jak i leków możliwych do zastosowania w celu poprawy warunków egzystencji i zdrowia pacjenta jest wciąż jednym z głównych kierunków badawczych na całym świecie.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pod tytułem: "Antagoniści receptora 5-HT_6 z grupy pochodnych pirydynylopiperazyny o działaniu na ośrodkowy układ nerwowy" wpisuje się w ten nurt badawczy.

Celem pracy była synteza nowych tripodstawionych pochodnych pirydyny wykazujących selektywne działanie antagonistyczne wobec receptorów 5-HT_6.

Praca doktorska przedstawiona do recenzji jest opracowana w sposób klasyczny. Zawiera streszczenie, listę skrótów, wprowadzenie, będące uzasadnieniem podjęcia tematu badań, cel i plan pracy, omówienie wyników badań biologicznych, część eksperymentalną, podsumowanie i bibliografię. W części wprowadzającej Autorka przedstawia charakterystykę receptora 5-HT_6, opisuje ligandy o działaniu antagonistycznym. Jeden z podrozdziałów

poświęcony jest kanałom potasowym hERG z uwagi na przeprowadzone w ramach prezentowanej pracy badania kardiotoksyczności. Ta część pracy została oparta na 85 pozycjach literaturowych i jest wystarczającym uzasadnieniem kierunku badań syntetycznych.

Na podstawie otrzymanych wcześniej w Instytucie Farmakologii PAN wyników badań pochodnych piperazynowych wytypowano 1-[4-(tiofen-3-ylo)-6-(izopentylo)pirydyn-2-ylo]-4-metylopiperazynę jako strukturę wiodącą. Zaproponowano możliwe modyfikacje obejmujące zmianę podstawnika w pozycji 4 oraz 6 a także modyfikacje w obrębie pierścienia piperazyny. Zmiana struktury miała na celu m.in. polepszenie parametrów fizykochemicznych przy zachowaniu wysokiej aktywności i selektywności działania.

Tytułowe związki Doktorantka otrzymała w wyniku jednoetapowej reakcji α,β-nienasyconych ketonów oraz 1*H*-benzotriazolo-1-acetonitrylu z pochodnymi piperazyny. Reakcje prowadzono w reaktorze wysokociśnieniowym. Otrzymane związki przeprowadzono w sole kwasu fumarowego lub w chlorowodorki. Z czego wynika wybór akurat takich soli? W wyniku przeprowadzonych reakcji Doktorantka otrzymała 61 pochodnych piperazyny. Tożsamość otrzymanych związków potwierdzono metodą ^{1}H NMR oraz LC-MS.

Substraty, związki karbonylowe otrzymano na drodze kondensacji odpowiednich aldehydów w środowisku zasadowym stosując wodorotlenek sodu w etanolu, diizopropyloamidek litu w THF lub wychodząc z estrów odpowiednich kwasów w reakcji z metylofosfonianem dimetylu a następnie aldehydem w obecności węglanu potasu w środowisku etanolu. Wydajności prowadzonych reakcji zawierały się w zakresie 21-98%. Strukturę powstałych związków potwierdzono metodą LC-MS. Dla jednego związku wykonano widmo ^{1}H NMR. Czym był podyktowany wybór akurat tego związku? Analiza rozdziału poświęconego syntezie wskazuje na ogrom wykonanej pracy syntetycznej. Doktorantka bardzo dobrze opanowała zarówno klasyczne metody syntezy, jak i z wykorzystaniem nowoczesnej aparatury.

Wszystkie otrzymane związki zostały poddane badaniom powinowactwa wobec receptorów: serotoninowego 5-HT$_6$, dopaminergicznego D$_2$, histaminowego H$_1$ oraz adrenergicznego α_1. Badania zostały wykonane w firmie Ryvu Therapeutics S.A. Doktorantka nie opisała metodologii prowadzonych badań biologicznych, jak sądzę z uwagi, iż nie brała udziału w ich wykonaniu. Rozdział poświęcony wynikom badań jest napisany zwięzłym językiem. Wyniki przedstawiono w postaci czytelnych Tabel. Doktorantka w sposób wyczerpujący opisuje wpływ poszczególnych modyfikacji struktury na selektywność działania badanych pochodnych. Przeprowadzono również testy PAMPA oraz Caco-2 w celu określenia przenikalności przez barierę krew-mózg oraz inhibicję enzymów cytochromu P450 dla

wybranych związków. Dodatkowo wykonano testy kardiotoksyczności niektórych z otrzymanych pochodnych. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów wytypowano jeden ze związków {1-[4-(4-metoksyfenylo)-6-(oksan-4-ylometylo)pirydyn-2-ylo]-4-metylopiperazynę jako obiecującą strukturę o wysokim powinowactwie do receptora 5-HT_6 oraz dobrej selektywności wobec D_2, H_1, α1 a także zadowalającej przenikalności przez barierę krew-mózg, brakiem inhibicji enzymów cytochromu P450 oraz umiarkowanej kardiotoksyczności. Końcowym etapem badań było określenie z wykorzystaniem modelowania molekularnego możliwych interakcji otrzymanych związków z receptorem serotoninowym 5-HT_6.

Podsumowując, cele pracy zostały zrealizowane. Jeden spośród otrzymanych związków charakteryzował się wysoką selektywnością oraz bardzo dobrym profilem farmakokinetycznym co czyni go kandydatem na lek.

Praca doktorska mgr Marty Olszak-Płachty napisana jest poprawnym językiem, jednak z dużą ilością błędów. Pomyłek stylistycznych nie będę przytaczać, gdyż są zupełnie nieistotne z punktu widzenia oceny merytorycznej.

Pewne uchybienia niestety muszę w tym miejscu wskazać.

Na stronie 14 pod wzorem 1 jest błędna wartość liczbowa.

Wielokrotnie nazwy związków są pisane częściowo w języku angielskim (strony: 36, 46, 63, 71, 72, 78, 82, 84, 90, 104, 115).

Strona 56 dość niefortunne sformułowanie „mieszaninę reakcyjną zatrzymano".

W nazwach związków 130, 131 pojawia się człon 1-hepten a w kolejnych 132-138 jest już napisane według nowszej nomenklatury hept-1-en. Dlaczego?

Wzory związków 141 oraz 145 są nieadekwatne do nazwy.

Brak jest określenia czystości związku 141.

Nieprawidłowe nazwy związków: 148, 150, 163-166.

Strona 67 – niepoprawna nazwa aldehydu benzoesowego.

Opis widm NMR związków: 70, 72, 73, 90, 91, 95b, 98, 100, 113, 119b, 120, 125 jest niepoprawny.

Brak jest opisu widma związku 104.

Dlaczego Doktorantka nie wykonała widm magnetycznego rezonansu węglowego?

Powyższe uwagi nie wpływają znacząco na moją ocenę pracy.

Reasumując, uważam iż praca mgr Marty Olszak-Płachty jest przykładem bardzo dobrze, racjonalnie zaplanowanej i wykonanej pracy badawczej. Autorka przeprowadziła wartościową

dyskusję wyników badań biologicznych, wykazując się przy tym umiejętnością wyciągania adekwatnych wniosków. W wyniku przeprowadzonych badań wytypowała jeden z otrzymanych przez siebie związków do dalszych badań zmierzających do komercjalizacji.

Przedstawioną do oceny rozprawę doktorską uważam za interesującą oraz nowatorską, spełniającą wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Mam zaszczyt przedstawić Radzie Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne UJ Collegium Medicum w Krakowie wniosek o nadanie mgr Marcie Olszak-Płachcie stopnia doktora nauk farmaceutycznych.