Katedra i Zakład Syntezy i Technologii Chemicznej Środków Leczniczych z Pracownia Modelowania Komputerowego

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Chodźki 4A, 20-093 Lublin,
Tel./fax. 0-81-535 73 55

Chair and Department of Synthesis and Chemical Technology of Pharmaceutical Substances with Computer Modeling Lab

Faculty of Pharmacy with Division of Medical Analytics
Medical University of Lublin
4A Chodzki str., 20-093 Lublin, Poland
*Phone/fax *048-81-535 73 55*

Lublin, 06-10-2016

Recenzja rozprawy doktorskiej

Mgr Vittorio CANALE

z Zakładu Chemii Medycznej, Katedry Chemii Farmaceutycznej Wydziału Farmaceutyczny Collegium Medicum, Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

pt. „Arylsulfonamide derivatives of (aryloxy)ethyl alicyclic amines as selective and potent 5-HT$_7$ receptor antagonists with psychotropic properties."

Poszukiwanie nowych leków jest w obecnym czasie procesem bardzo wymagającym. Chodzi oczywiście o wymagania stawiane naukowcom prowadzącym tego typu badania. Obejmują one wiedzę oraz umiejętności. Wiedzę z chemii medycznej, czyli wielu dziedzin zajmujących się badaniami nad lekiem, włącznie z syntezą, oraz umiejętność odpowiedniego planowania i analizy wyników badań.

Planując takie badania opieramy się na naszej wiedzy o metodach syntezy, celach molekularnych, potencjalnych mechanizmach działania leków oraz zależności aktywności od struktury. W badaniach tych często posługujemy się metodami komputerowymi, które dostarczają informacji nie tylko o strukturze miejsca aktywnego/wiążącego, ale i zmianach, którym ulega całe białko w czasie wiązania liganda i potem. Informacje takie są bardzo istotne dla zrozumienia mechanizmów pobudzania białek receptorowych oraz czynników wpływających na trwałość konformacji aktywnej a więc i aktywności związków badanych. Rzadko któremu

współczesnemu naukowcowi stawia się tak szerokie wymagania merytoryczne i metodyczne.

Praca P. mgr Canale przedstawiona do recenzji została skonstruowana według tego schematu, łącząc elementy syntetyczne, informatyczne i biologiczne. Jest także kontynuacją, ale i elementem, szerszego programu badawczego prowadzonego od lat w Katedrze Chemii Farmaceutycznej w zespole prof. Macieja Pawłowskiego a obecnie także dr hab. Pawła Zajdla. Włącza się również w tematykę serotoninową ośrodka krakowskiego, kultywowanego przede wszystkim w Instytucie Farmakologii PAN ale jak widać interesującą również dla innych placówek badawczych.

Program ten obejmuje serotoninę i jej receptory od 5-HT1R aż do 5-HT7R. Ten ostatni receptor jest na tyle nowym celem molekularnym, że wszelkie informacje na jego temat będą interesujące dla wielu badaczy. Szczególnie tak obszerna baza danych strukturalnych i farmakologicznych, która została zaprezentowana w pracy doktorskiej mgr Canale.

Celem pracy doktorskiej Vittorio Canale było zaprojektowanie oraz synteza nowej klasy antagonistów receptora 5-HT7, ocena ich aktywności biologicznej, stabilności metabolicznej oraz *in vivo* behawioralne określenie aktywności biologicznej w modelach depresji, leku i upośledzenia procesów poznawczych. Realizacja celu podstawowego projektu miała polegać na syntezie ośmiu grup związków – analogów substancji wiodącej PZ-766, selekcji związków najbardziej aktywnych oraz ich dalsze poszerzone badania.

Wszystkie zaplanowane elementy projektu badawczego zostały przez doktoranta zrealizowane. Otrzymał on metodami klasycznej syntezy organicznej oraz syntezy na stałym nośniku 88 nowych pochodnych. Dla wszystkich wykonano badania powinowactwa do receptorów 5-HT7 i 5-HT1A oznaczając ich aktywność jako Ki oraz współczynnik selektywności. Dla wybranych pochodnych przeprowadzono poszerzone badania powinowactwa na innych receptorach oun (α1, β1, H1, M1) oraz transporterze serotoniny (SerT). Przeprowadzono również badania trwałości metabolicznej oraz modelowanie molekularne z wirtualnym dokingiem do miejsca ortosterycznego. Tak zaplanowane badania pozwoliły na skuteczny SAR oraz selekcję związków najaktywniejszych o najwyższej selektywności działania. Najbardziej obiecujące pochodne **15**, **52**, **79** i **83** wykazały aktywność na poziomie użytych standardów (diazepam, citalopram, PZ-766) lub były od nich aktywniejsze.

Tak duża skuteczność doktoranta świadczy bardzo dobrze o jego wiedzy i umiejętności odpowiedniego planowaniu badań.

Praca jest zaprezentowana w sposób zwięzły i jasny. Zawiera krótki ale bardzo dobrze opracowany wstęp literaturowy, a metodyka wszystkich etapów badawczych, może z wyjątkiem modelowania molekularnego jest także zaprezentowana w sposób wystarczający. Dyskusja obejmuje tylko najważniejsze elementy bez zbędnych dłużyzn, a wnioski uwypuklają najważniejsze ustalenia dyskusji. Praca zaopatrzona jest w manuskrypty trzech publikacja, które stały się owocami pracy doktorskiej mgr Canale. Publikacje te ukazały się w najlepszych czasopismach z chemii medycznej (*Eur. J. Med. Chem., Bioorg. Med. Chem., MedChemComm*) co świadczy o wysokiej jakości i wartości wyników badań.

Pozostając w roli recenzenta zobowiązany jestem również do wskazania niedociągnięć pracy, chociaż nie ma tego wiele. Pierwsza uwaga dotyczy bioizosterii (str. 23-25). Bioizosteria to nie tylko analogia w aktywności ale przede wszystkim podobieństwo na poziomie molekularnym zgodnie z definicją Langmuir'a poszerzoną przez Friedman'a i Thornberg'a. Dotyczy fragmentów – grup funkcyjnych i ewentualnie ich wzajemnego układu a nie całej cząsteczki. Używanie tego zwrotu wymaga jego pełnego zrozumienia. Druga uwaga dotyczy modelowania molekularnego. Chociaż zostało wykonane przez dr Rafała Kurczaba z Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie i z pewnością spełnia wszelkie wymogi merytoryczne to opis metodyki jest według mnie niewystarczający. Autor opisu podał wzorce krystalograficzne użyte do modelowania molekularnego ale nie wyjaśnia dlaczego w dwóch przypadkach były to kryształy form aktywnych odpowiednich receptorów GPCR (krystalizowane z cząsteczką agonisty) a w dwóch przypadkach form nieaktywnych (z antagonistą). Rysunek 13 jest zbyt mały i przez to nieczytelny.

Kolejne uwagi dotyczą kilku szczegółów. Na stronie 22 w rysunku 9 farmakofor lewy nie jest w pełni zdefiniowany. Na stronie 29 w schemacie 1 podstawnik R1 lub R1 i R2 są błędnie zdefiniowane szczególnie w związkach 7-9 i 10-12, w których podstawnik R1 jest nieobecny. Na stronie 30 użyte nazwy powinny brzmieć „aroyl chloride, pyridyl, pyrazinyl".

Pomimo przedstawionych wyżej uwag moja ocena rozprawy doktorskiej mgr Vittorio Canale jest pozytywna ponieważ postawione cele badawcze i poznawcze zostały zrealizowane, a doktorant wykazał się znakomitym opanowanie warsztatu

badawczego i umiejętnością właściwego i skutecznego planowania badań. Uważam, że spełnia ona wszystkie warunki stawiane rozprawom doktorskim. Składam zatem wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum, Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie mgr Vittorio Canale do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Syntezy i Technologii
Chemicznych Środków Leczniczych
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
prof. dr hab. n. farm. Dariusz Matosiuk
profesor zwyczajny