IMDiK
POLSKA AKADEMIA NAUK

Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
im. M. Mossakowskiego PAN
02-106 Warszawa, ul. A. Pawińskiego 5

Prof. dr hab. Aleksandra Misicka-Kęsik

Warszawa, 1.06 2018 r.

Opinia o osiągnięciu naukowym zatytułowanym:

„Synteza i badanie własności farmakologicznych nowych analogów opioidowych"

oraz istotnej aktywności naukowej i całokształcie dorobku naukowego dr Renaty Perlikowskiej w związku z toczącym się postępowaniem habilitacyjnym

1. Informacje podstawowe

Dr Renata Perlikowska uzyskała stopień doktora nauk medycznych z wyróżnieniem, w dyscyplinie biologia medyczna, na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w 2010 r. na podstawie rozprawy doktorskiej pt. *„Synteza i badanie właściwości farmakologicznych nowych analogów endomorfin o zwiększonej odporności na działanie proteaz"*. Promotorem rozprawy doktorskiej była prof. dr hab. Anna Janecka. Następnie dr Perlikowska pracowała przez rok (2005-6) jako technolog ds. rozwoju w Ośrodku Badań Farmaceutycznych i Klinicznych Biofana sp. z o.o. Kutno, a od 2011 r. jest zatrudniona na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Łodzi na etacie adiunkta.

2. Ocena dorobku naukowego

Zainteresowania dr Renaty Perlikowskiej są od lat związane z tematyką dotyczącą syntezy i badań efektów biologicznych peptydów opioidowych. Tematyka ta została zainicjowana na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Łodzi przez prof. dr hab. Annę Janecką, a dr Perlikowska jest jednym z głównych badaczy rozwijających te badania.

Dr Renata Perlikowska jest współautorką 30 publikacji, w tym 26 publikacji z listy filadelfijskiej. Po uzyskaniu stopnia doktora dr Perlikowska opublikowała 16 prac z listy filadelfijskiej i 1 pracę spoza tej listy. Łączny impakt faktor (IF) prac wykonanych przez habilitantkę wynosi 78,9, a impakt faktor prac wykonanych po doktoracie wynosi 45,9. Sumaryczna liczba cytowań jej prac wynosi 332 (w tym 267 z wyłączeniem autocytowań), a prace wykonane po doktoracie były cytowane 173 razy (z wyłączeniem autocytowań). Indeks Hirscha dr Perlikowskiej wynosi 9. Pierwszych 5 prac dr Perlikowska opublikowała podczas wykonywania doktoratu pod nazwiskiem panieńskim (Staniszewska) i są to prace dobrze cytowane (119 cytowań z wyłączeniem cytowań własnych), dlatego IH jest wyższy niż wskazuje WoS dla nazwiska Perlikowska.

Wszystkie prace opublikowane zostały w anglojęzycznych międzynarodowych czasopismach naukowych. Wśród czasopism można wymienić m.in. *Bioorg Med Chem, Med Chem, Eur J Med Chem, Peptides, Chem Biol Drug Des, Curr Drug Targets; ACS Med Chem Lett.*

Dr Perlikowska jest ponadto współautorką 7 referatów konferencyjnych, a wyniki jej badań były prezentowane na wielu zagranicznych i krajowych konferencjach naukowych (European Peptide

Symposia, International Congress for Heterocyclic Chemistry, European Opioid Conference, Polish Peptide Symposia).

Dr Perlikowska za swoje badania była wielokrotnie nagradzana poprzez przyznanie jej różnych stypendiów: np. w 2009 r otrzymała stypendium naukowe Fundacji na Rzecz Wspierania Rozwoju Polskiej Farmacji i Medycyny, Polpharmy, w 2012 r. Stypendium Rządu Francuskiego "Séjour de recherche", w 2012 i 2013 r. stypendium Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, w programie „START", a w latach 2014-17 otrzymywała stypendium naukowe dla wybitnego młodego naukowca z MNiSW.

Dr Perlikowska była również członkiem zespołu, który wielokrotnie otrzymał nagrodę zespołową pierwszego stopnia (2010-12, 2015-16) Rektora UM w Łodzi, jak również był nagrodzony w 2009 r. Zespołową Nagrodą Ministra Zdrowia I stopnia za osiągnięcia naukowe.

Dr Perlikowska była wykonawcą 2 międzynarodowych grantów dwustronnych: *„Relationship between structure and biological activity of new endomorphin-1 and endomorphin-2 analogs: analgesic activity and the role in the pathogenesis of mental disorders"*; (Bilateral Scientific Agreement between France and Poland "Polonium") i *„Neurokinin receptor pharmacology"*; (Bilateral Scientific Agreement between Belgium and Poland) i grantu promotorskiego MNiSW (*„Synteza i badanie właściwości farmakologicznych nowych analogów endomorfin o zwiększonej odporności na działanie proteaz"*.

Była także kierownikiem grantu dla młodych MNiSW „Iuventus Plus" (w latach 2012-14) *„Synteza i badanie właściwości farmakologicznych nowych cyklicznych analogów peptydów opioidowych"* jak również kierownikiem projektów młodych pracowników nauki i studentów studiów doktoranckich z Europejskiego Funduszu Społecznego *„Synteza i badanie właściwości farmakologicznych nowych analogów endomorfin o zwiększonej odporności na działanie proteaz"*) i funduszy Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (*„Synteza nowych ligandów receptora μ-opioidowego w poszukiwaniu związków o silnym działaniu na ośrodkowy układ nerwowy, aktywnych po podaniu doustnym"*, *„Synteza i charakterystyka farmakologiczna nowych analogów rubiskolin"*).

Jeszcze w okresie studenckim pani Perlikowska (wtedy Staniszewska) odbyła 2 krótkoterminowe staże zagraniczne (2008, 1 tydzień w Laboratoire de Neuropsychopharmacologie Expérimentale, Université de Rouen, Francja i 1 tydzień w Zoological Institute, Laboratory of Developmental Physiology, Genomics, and Proteomics, Catholic University, Leuven, Belgia). Pobyty były bardzo owocne i po uzyskaniu stopnia doktora habilitantka kontynuowała ten typ krótkoterminowych staży:

- ✓ 2012, 1 tydzień, Laboratoire de Neuropsychopharmacologie Expérimentale, Université de Rouen, Francja
- ✓ 2012, 1 miesiąc w Laboratoire de Neuropsychopharmacologie Expérimentale, Service Commun d'Analyse Comportementale, SCAC-IRIB, Université de Rouen, Franccja, na ten staż uzyskała StypendiumRządu Francuskiego w ramach program "Séjour de recherche",
- ✓ 2013 1 tydzień w Department of Medical Sciences, Section of Pharmacology, University of Ferrara, Włochy,
- ✓ 2013, 1 tydzień, w Dipartimento di Chimica "Giacomo Ciamician", University of Bologna, Włochy

Brakuje co prawda w karierze naukowej dr Perlikowskiej odbycia dłuższego stażu naukowego, ale nie jest łatwo pogodzić obowiązki młodej matki i naukowca.

Z powyższego zestawienia widać wyraźnie, że aktywność naukowa dr Renaty Perlikowskiej jest znacząca. Zarówno ilość publikacji i impakt faktory czasopism, w których dr Perlikowska publikuje, udział w grantach (początkowo jako wykonawca, później jako kierownik) świadczą, że dr Perlikowska jest badaczem aktywnym na polu badań peptydów opioidowych (w zakresie projektowania, syntezy i badań farmakologicznych).

3. Ocena osiągnięcia naukowego

3.1. Ocena zgodności z wymogami formalnymi

Jako podstawę postępowania habilitacyjnego dr Perlikowska przedstawiła 6 prac (5 oryginalnych i 1 przeglądową), opublikowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, opublikowanych w latach 2011-16. Impakt faktor prac zaliczonych do cyklu habilitacyjnego wynosi 15,577 i publikacje te były już 59 razy cytowane. Są to współautorskie prace opublikowane w: *Bioorg Med Chem* (2 prace), *Med Chem* (2 prace), *Eur J Med Chem* i *Peptides*. W pięciu z tych publikacji dr Renata Perlikowska jest pierwszym autorem, niestety w żadnej publikacji nie jest autorem korespondującym, dlatego szkoda, że habilitantka nie opublikowała choć jednej pracy przeglądowej tylko pod swoim nazwiskiem.

Wszystkie oświadczenia współautorów opisujące charakter ich prac w poszczególnych publikacjach nie pozostawiają wątpliwości dotyczących rzeczywistego wkładu dr Perlikowskiej w oceniane publikacje. Habilitantka również starannie opisała swój wkład w poszczególne prace. Z opisów tych wynika jednoznacznie, że dr Perlikowska odgrywała dominującą rolę na etapie planowania badań, jak również na etapie ich wykonywania i opracowywania wyników. Przedstawione prace świadczą o dobrym przygotowaniu dr Perlikowskiej do roli samodzielnego pracownika naukowego, podejmującego ważne z punktu widzenia poznawczego, jak i potencjalnych zastosowań medycznych tematy badawcze.

3.2 *Zakres i wartość merytoryczna*

Tematyka wszystkich publikacji dr Perlikowskiej wchodzących w cykl prac „osiągnięcia naukowego" jest związana z badaniami peptydów opioidowych. Celem badań jest poszukiwanie rozwiązań umożliwiających opracowanie analogów peptydów opioidowych (głównie endomorfin) do wykorzystania w terapii przeciwbólowej.

Dr Perlikowska zachęcona rezultatami badań nad cyklicznymi analogami endomorfin otrzymanych w ramach pracy doktorskiej zdecydowała się rozwijać dalej tę tematykę. Dalsze badania dotyczyły zaplanowania i syntezy nowych cyklicznych ligandów receptorów opioidowych i ich charakteryzacji pod kątem aktywności farmakologicznej. Na swoje badania dr Perlikowska otrzymała grant Iuventus Plus MNiSW, a efektem badań jest cykl prac przedstawiony jako osiągnięcie naukowe w celu uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

We wszystkich pracach poza częścią typowo chemiczną (planowanie, synteza i analiza analogów endomorfiny) związków habilitantka przeprowadzała badania farmakologiczne *in vitro* i *in vivo*. W zakres badań farmakologicznych *in vitro* wchodziło badanie względnego powinowactwa do receptorów opioidowych μ, δ i κ w preparatach błonowych z mózgu szczura (μ i δ) lub świnki morskiej (κ), pozwalające na wyznaczenie wartości IC_{50} dla różnych analogów i ustalenie ich względnego powinowactwa i selektywności. W celu określenia stabilności metabolicznej otrzymanych analogów opioidowych w obecności enzymów proteolitycznych habilitantka wykorzystywała metodę badania szybkości degradacji analogów wybranymi enzymami proteolitycznymi: aminopeptydazą M (APM), karboksypeptydazą Y (CPY), DPP IV lub homogenatem z mózgu szczura przy użyciu HPLC.

Analogi o najlepszych właściwościach (analogi o wysokim powinowactwie i dużej selektywności do receptora μ-opioidowego i jednocześnie odporne na degradację enzymatyczną), wybrane na podstawie testów *in vitro*, były następnie badane przez habilitantkę *in vivo*. Aktywność przeciwbólowa była określana w teście gorącej płytki najpierw po podaniu icv, a następnie po podaniu obwodowym iv lub dootrzewnowym (ang. intraperitoneal, ip) co pozwalało ustalić, w jakim stopniu nowe analogi przechodzą przez barierę krew-mózg. Efekt przeciwdepresyjny określany był w

testach behawioralnych: wymuszonego pływania (ang. Forced swimming test, FST), podwieszania za ogon (ang. tail-suspension test, TST) i w teście mierzącym aktywność ruchową zwierząt (ang. locomotory activity test, LMA).

Pierwsza praca (*Bioorg Med Chem*) z przedstawionego do oceny cyklu publikacji dotyczy badań cyklicznych analogów endomorfiny-1 i morficeptyny zawierających w pozycji pierwszej 2',6'-dimetylo-tyrozynę (zamiast tyrozyny). Otrzymane analogi charakteryzowały się zwiększoną stabilnością (zgodnie z oczekiwaniem) *in vitro*, zwiększoną aktywnością antynocyceptywną, a badania z użyciem antagonistów receptora opioidowego typu μ wykazały, że długotrwały efekt przeciwbólowy (po podaniu centralnym) jest wywoływany głównie przez ten typ receptorów. (μ).

Druga praca (*Medicinal Chemistry*) dotyczyła syntezy i badań nowych cyklicznych analogów zawierających 1-naftylo-D-alaninę i 2-naftylo-D-alaninę (zamiast fenyloalaniny obecnej w wyjściowych cyklicznych pochodnych endomorfiny w pozycji 3), w celu uzyskania związków o zwiększonej lipofilności (co powinno ułatwić przechodzenie tych związków przez barierę krew-mózg). Otrzymane 2 nowe analogi charakteryzowały się wysokim powinowactwem do receptorów μ i wysoką aktywnością *in vitro*. Jednakże z powodu ograniczonej rozpuszczalności w wodzie związki nie mogły być podawane dożylnie, wiec nie można było oznaczyć zakres przechodzenia przez barierę krew-mózg. Dodatkową cechą jednego z otrzymanych analogów jest hamowanie ruchliwości perystaltycznej u myszy. Dlatego wydaje się być przydatnym związkiem, który mógłby znaleźć zastosowanie w badaniach nad zaburzeniami motoryki przewodu pokarmowego.

Trzecia praca (*Peptides*) dotyczyła syntezy i badań nowych cyklicznych analogów zawierających 2',3', 4'-metylofenyloalaninę (MePhe) w pozycji 3 i 4, jak również zawierających zamiast Tyr, jej analog – DMT, w pozycji 1 pochodnych endomorfin. Analogi zawierające (MePhe) w pozycji 4 były znacznie aktywniejsze od związków wyjściowych wykazując silne własności agonistyczne w stosunku do receptora μ i κ, a słabe do δ. W testach *in vivo* otrzymane związki wykazywały bardzo dużą aktywność przypuszczalnie poprzez aktywację więcej niż jednego typu receptorów opioidowych.

Czwarta praca (*Eur J Med. Chem*) jest kontynuacja badań opisanych w publikacji drugiej. Opisane są cykliczne analogi zawierające 1-naftylo-D-alaninę i 2-naftylo-D-alaninę (zamiast fenyloalaniny obecnej w wyjściowych cyklicznych pochodnych w pozycji 3 i 4), i DMT zamiast Tyr w pozycji 1. Okazało się, że tylko analogi w pozycji 4 zachowały aktywność podobną do wyjściowych związków (sub-nM w stosunku do receptorów μ i nM do receptorów κ). Aby wytłumaczyć różnice w aktywności wykonano dokowania molekularne.

Piąta praca (*Bioorg Med Chem*) dotyczyła syntezy i badań nowych liniowych analogów endomorfiny zawierających analogi proliny w pozycji 2 - kwas (*3S,3R*) i (*3R,4S*)-4-fenylopyrrolidino-3-karboksylowy (4-Ph-β-Pro). Jeden z analogów zawierający substytut proliny o konfiguracji *3R,4S* wykazywał silną analgezję po podaniu dordzeniowym (efekt był odwracalny przez antagonistę μ). Dodatkowo analog ten wykazywał działanie antydepresyjne (odwracalne przez antagonistę δ i κ). Ponieważ w wielu przypadkach bólowi towarzyszy uczucie depresji, to ten analog może być rozważany jako dobra wyjściowa struktura do dalszych poszukiwań związków przeciwbólowych i jednocześnie przeciwdepresyjnych. W mojej opinii wyniki opisane w tej publikacji należą do jednego z najważniejszych osiągnięć opisanych w przedstawionym cyklu publikacji.

Ostatnia praca zgłoszona przez habilitantkę jest pracą przeglądową (opublikowaną wspólnie z prof. Janecką w *Medicinal Chemistry*), dotyczącą ostatnich doniesień literaturowych (w tym prac własnych) w zakresie biodostępności i przechodzenia przez barierę krew-mózg analogów endomorfin.

Podsumowując, omówione powyżej prace dr Renaty Perlikowskiej przedstawione jako osiągnięcie naukowe w celu uzyskania stopnia doktora habilitowanego wniosły oryginalny i ważny wkład w

rozwój badań peptydów opioidowych, a wyniki tych prac mogą mieć, co ważne, również znaczenie aplikacyjne.

Charakterystyka dorobku dydaktycznego

Dr Perlikowska jest pracownikiem dydaktycznym na Wydziale Medycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, co oczywiście jest związane z prowadzeniem licznych zajęć dydaktycznych zarówno wykładów, jak i ćwiczeń audytoryjnych i laboratoryjnych na kierunku lekarsko-dentystycznym (z chemii ogólnej, chemii organicznej z elementami biochemii statycznej, wykładu „Przełomowe odkrycia w historii rozwoju leków"). Z podanego spisu prowadzonych zajęć wydać wyraźnie, że dr Perlikowska jest zaangażowana w przygotowanie i prowadzenie bardzo różnych zajęć dydaktycznych. Wśród zajęć prowadzonych przez dr Perlikowską są również zajęcia w języku angielskim prowadzone na Wydziale Wojskowo-Lekarskim (kierunek: BANGLLekarski) i zajęcia na Wydziale Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego.

Dr Perlikowska jest również koordynatorem systemu Uczelnia.XP (UXP) na wydziale lekarskim z przedmiotu biochemia, była również inicjatorką i organizatorem zajęć dotyczących izolacji materiału genetycznego z owoców dla uczniów ze Szkoły Podstawowej nr 122 w Łodzi.

Z przedstawionego zestawienia widać wyraźnie, ze dr Perlikowska pełni ważną rolę dydaktyczną na UM w Łodzi, zarówno jako prowadząca poszczególne zajęcia, ale również jako koordynator systemu Uczelnia.XP

Dr Perkowska była opiekunem 2 studentów: Lisy Hahn (Friedrich-Schiller-University w Jenie, 2012) i Natalii Staniszewskie (Uniwersytet Jagielloński 2012), a w latach 2012-15 promotorem pomocniczym rozprawy doktorskiej dr Justyny Piekielnej: *„Synteza cyklicznych analogów endomorfiny-2 o potencjalnym działaniu przeciwbólowym"*.

Wniosek końcowy

Dorobek naukowy dr Renaty Perlikowskiej: ilość publikacji, jakość czasopism, w których dr Perlikowska publikuje, umiejętność zdobywania grantów, współprace naukowe, jak również otwartość na nowe obszary badań (dr Perlikowska podjęła w ostatnim roku badania rubiskolin pod kątem ich wykorzystania jako potencjalnych terapeutyków w leczeniu depresji) stanowią poważny i oryginalny wkład do biologii medycznej i świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu habilitantki do prowadzenia samodzielnej pracy naukowej w zakresie nauk medycznych.

Na podstawie analizy cyklu prac przedstawionego jako osiągnięcie naukowe w postępowaniu habilitacyjnym i analizy jej całego dorobku naukowego stwierdzam, że dr Renata Perlikowska spełnia wszystkie warunki określone w Ustawie o Stopniach i Tytule Naukowym i wnioskuję o nadanie jej stopnia doktora habilitowanego zgodnie z trybem przewidzianym w art. 18a ustawy z dnia 14 marca 2003 r. i późniejszymi zmianami (Dziennik Ustaw z 2017 r, poz. 1789) o zmianie ustawy *„Prawo o szkolnictwie wyższym, ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz o zmianie innych ustaw"*.

A. Dirkle