



UNIWERSYTET  
WARSZAWSKI

Wydział Chemii



Warszawa, 04.05.2023 r.

Prof. dr hab. Aleksandra Misicka-Kęsik

[misicka@chem.uw.edu.pl](mailto:misicka@chem.uw.edu.pl)

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Karola Wtorka pt. *Synteza i charakterystyka farmakologiczna nowych analogów o mieszanym powinowactwie do receptorów odpowiedzialnych za modulację efektów bólowych***

Opracowanie nowej strategii farmakoterapeutycznej w leczeniu bólu przewlekłego należy do podstawowych wyzwań medycznych obecnych czasów. Wynika to z niedostatecznego działania analgetycznego, w tym typie bólu, leków stosowanych z powodzeniem w bólu ostrym, a także wykazywania przez nie działań niepożądanych, takich jak depresja oddechowa, uporczywe zaparcia, rozwój tolerancji i uzależnienia. Zagadnienie to stanowi przedmiot zainteresowania wielu ośrodków badawczych, a jedną z grup z sukcesem prowadzących badania w tej tematyce jest zespół prof. dr hab. Anny Janeckiej - promotora recenzowanej pracy.

Przedłożona do recenzji dysertacja mgr. Karola Wtorka została wykonana w Zakładzie Chemii Biomolekularnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Rozprawa ma formę przewodnika po 6 publikacjach: 4 z prac własnych i 2 z prac przeglądowych, które ukazały się w bardzo dobrych czasopismach z listy filadelfijskiej (European Journal of Medicinal Chemistry, Molecules (2 prace), Peptides, Chemical Diversity i International Journal of Molecular Sciences). We wszystkich publikacjach doktorant jest pierwszym autorem. Publikacje są ściśle omawiane osobno, natomiast tło naukowe i stan wiedzy są przedstawione w 28 stronicowym wprowadzeniu w zagadnienia związane bólem. Doktorant omawia w nim klasyfikacje bólu, systemy zaangażowane w modulację bólu, mechanizmy aktywacji receptorów opioidowych i przykładowe ligandy agonistyczne i antagonistyczne działające w systemie opioidowym lub neurokininowym. Poza teoretycznym wstępem, wyodrębnione są rozdziały: „Założenia i cel pracy” (3 strony) i „Wnioski” (2 strony). Rozprawa zawiera też streszczenia w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów i symboli stosowanych w pracy, spis publikacji stanowiących rozprawę, bibliografię, jak również oświadczenia wszystkich współautorów publikacji wchodzących do rozprawy określających ich udział w powstanie artykułu lub monografii.

Wstęp teoretyczny przeczytałam z dużym zainteresowaniem, jest to zwarty tekst bardzo starannie opracowany i zaopatrzony w poglądowe ryciny i wzory chemiczne, omawiający najnowsze osiągnięcia w zakresie projektowania nowych związków przeciwbólowych.

Celem pracy doktorskiej mgr. Karola Wtorka było zaprojektowanie, synteza i badanie właściwości farmakologicznych *in vitro* nowych analogów opioidowych (liniowych i cyklicznych), jak również peptydów hybrydowych, aktywujących jednocześnie dwa typy receptorów: MOR/NK1 oraz MOR/NOP, pod kątem poszukiwania związków charakteryzujących się lepszym profilem działań terapeutycznych i wykazujących mniej skutków ubocznych. Aby osiągnąć zamierzone cele doktorant podjął wiele zadań cząstkowych, w tym była synteza, badania powinowactwa otrzymanych związków, badania funkcjonalne (uwalnianie wapnia), badania lipofilowości otrzymanych związków, badania wpływu wybranych analogów na niektóre efekty niepożądane, jak również badania *in vivo* i badania konformacyjne. Niektóre z tych badań były wykonane we współpracujących z Zakładem Chemii Biomolekularnej jednostkach z Włoch, Wielkiej Brytanii i Polski, które doktorant wymienił w założeniach pracy.

Pierwsza praca w *Eur. J. Med. Chem* dotyczy analogów endomorfiny-2 (EM-2) zawierających w pozycji pierwszej modyfikację tyrozyny. Tyrozyna jest kluczowym aminokwasem dla wiązania z receptorem, więc wyniki tej pracy są niezwykle interesujące dla badaczy zajmujących się zagadnieniami związanymi z receptorami opioidowymi. Spośród otrzymanych analogów związek zawierający 3'-chloro-2',6'-dimetylotyrozynę - DMT(3'-Cl) okazał się najaktywniejszy, dlatego też dla tego związku i znanego wcześniej analogu z DMT zostały przeprowadzone przez dr. Artali z Włoch szczegółowe badania konformacyjne i dokowanie do MOR. Wyniki dokowania wskazały, że w tych analogach występuje dodatkowe oddziaływanie z atomami podstawników w grupach fenolowych z Trp<sup>293</sup> i jest większa tendencja przyjmowania układu *cis* dla N-końcowego fragmentu DMT(3'-Cl)-Pro.

Dru ga praca opublikowana w *Molecules* dotyczy 2 analogów poprzednio otrzymanego w tym zespole cyklicznego peptydu Tyr-c[D-Lys-Phe-Phe-Asp]NH<sub>2</sub> (**RP-170**), który ma duże powinowactwo do MOR i KOR, a w testach *in vivo* wykazuje silne działanie przeciwbólowe u myszy, zarówno po podaniu dokomorowym jak i obwodowym. Zaplanowane analogi zawierały w miejscu D-lizyny β-aminokwas, a mianowicie (*R*)- lub (*S*)-β<sup>3</sup>-Lys, w celu określenia wpływu takiej zamiany na właściwości farmakologiczne i konformację pierścienia tego cyklopeptydu. Wprowadzone zmiany wskazały, że zastąpienie D-Lys przez β<sup>3</sup>-aminokwasy powoduje znaczne zmniejszenie lub wręcz utratę powinowactwa otrzymanych analogów do receptora MOR. Analiza konformacyjna przeprowadzona przez dr. Lipińskiego z IMDiK PAN wskazała, że słabe powinowactwo do MOR wynika z braku możliwości zmieszczenia 2 pierścieni Phe analogu, w kieszeni receptora w taki sam sposób jak w związku wyjściowym.

W drugiej części rozprawy doktorant zajął się projektowaniem oraz badaniem powinowactwa, aktywności i działania przeciwbólowego peptydów hybrydowych, aktywujących jednocześnie dwa typy receptorów: 1) MOR/NK1 oraz 2) MOR/NOP.

Praca z tematyki peptydów hybrydowych o profilu MOR/NK1 została opublikowana w *Molecules*. Badane związki powstały poprzez połączenie agonisty receptora opioidowego Tyr-c[D-Lys-Phe-Phe-Asp]NH<sub>2</sub> z różnej długości fragmentami substancji P (agonisty NK1) lub spantidu II (antagonisty NK1). Doktorant do badań *in vivo* wybrał hybrydy, które charakteryzowały się wysokim powinowactwem do receptorów NK1. Okazało się, że zarówno hybrydy będące połączeniem typu agonista opioidowy/agonista NK1 i agonista

opiodowy/antagonista NK1 wywoływały silne działanie przeciwbólowe w teście wicia, a dodatkowo nie powodowały rozwoju tolerancji ani zaparc.

Druga seria związków hybrydowych obejmowała 2 hybrydy będących połączeniem opiodowego cyklopeptydu Tyr-c[D-Lys-Phe-Phe-Asp]NH<sub>2</sub> bezpośrednio lub poprzez triglicynowy łącznik z analogiem Ac-RYYRIK-NH<sub>2</sub> o dużym powinowactwie do receptora nocycetynowego. Okazało się, że tylko jeden analog (bez łącznika) znacząco aktywował receptory opiodowe i NOP. Dokładne badania *in vivo* tego analogu wskazały, że związek ten daje silny efekt przeciwbólowy, który jest hamowany zarówno przez antagonistę receptorów opiodowych, jaki i antagonistę NOP, co wskazuje na zaangażowanie obu tych typów receptorów w hamowanie bólu. Wyniki zostały opublikowane w *Int.J. Mol. Sci.*

Oprócz pracy badawczej, doktorant brał udział w napisaniu dwóch prac przeglądowych, dotyczących poszukiwania nowych strategii w projektowaniu opiodowych kandydatów na leki przeciwbólowe, opublikowanych w *Peptides* i *Chemical Biodiversity*.

Z obowiązku recenzenta poniżej przedstawię pytania, które nasunęły mi się podczas czytania tej rozprawy doktorskiej, które mogą stanowić podstawę do dyskusji.

1. str. 48 doktorant używa określenia „spadające w 1% TFA grupy Mtt...” czyba nie jest to chemiczne określenie?
2. dlaczego doktorant nie wymienił instytucji dr. Artali w jednostkach współpracujących?
3. dlaczego nie spróbowano dokowania do odpowiednich receptorów związków hybrydowych?
4. Jak można interpretować, że zarówno hybrydy MOR/NK1 (agonista/agonista) i MOR/NK1 (agonista/antagonista) wywołują podobny efekt przeciwbólowy *in vivo*?

Podsumowując, rozprawę doktorską mgr. Karola Wtorka przeczytałam z dużym zainteresowaniem. Wyniki jego badań mogą mieć duży wpływ na projektowane analogi peptydów opiodowych w przyszłości. Przeprowadzone przez doktoranta badania (synteza, farmakologiczne badania *in vitro* badania lipofilności, współpraca z osobami współpracującymi z innych ośrodków, jakość publikacji wskazują, że mgr Karol Wtorek jest już w pełni dojrzałym naukowcem.

**Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona rozprawa mgr. Karola Wtorka zatytułowana „Synteza i charakterystyka farmakologiczna nowych analogów o mieszanym powinowactwie do receptorów odpowiedzialnych za modulację efektów bólowych” spełnia wszelkie wymagania stawiane ustawą o stopniach i tytule naukowym i zwracam się z wnioskiem do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr. Karola Wtorka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Biorąc pod uwagę opublikowanie wyników prac wykonanych w ramach rozprawy doktorskiej w 6 publikacjach, wszechstronność podejścia doktoranta do analizy farmakologicznej otrzymanych związków, staranność wykonanych analiz fizykochemicznych i farmakologicznych, jak również krytyczne spojrzenie na możliwości terapeutyczne otrzymanych związków wnioskuję o wyróżnienie tej rozprawy doktorskiej.

*A. Bisiada*