

Prof. dr hab. n. farm. Krzysztof Walczyński
Katedra Chemii Medycznej
Zakład Syntezy i Technologii Środków Leczniczych
Wydział Farmaceutyczny
ul. Muszyńskiego 1
90-151 Łódź

Tel. 42 6779136; e-mail: krzysztof.walczynski@umed.lodz.pl

Dotyczy :730.5100.2.2021

Łódź, 2021 07 15

O P I N I A
o dorobku naukowym, dydaktycznym i organizacyjnym
dr Gniewomira Latacza
w związku z postępowaniem
Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o nadanie Mu
tytułu naukowego dr hab. nauk farmaceutycznych.

Na potrzeby procedury kwalifikacyjnej dr n. farm. Gniewomir Latacz przedłożył zestaw dokumentów - przygotowany w sposób zgodny z art. 219 ust. 1 pkt. 2) lit. b) oraz art. 221 ust. 8. Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce - zawierający „Autoreferat”, w którym znajdujemy najistotniejsze informacje o przebiegu pracy zawodowej, prowadzonych badaniach naukowych, działalności dydaktyczno-wychowawczej oraz pracach organizacyjnych na rzecz Wydziału, Uczelni i środowisk naukowych. Ponadto Kandydat załączył wykaz wszystkich ogłoszonych drukiem publikacji i patentów, obejmujący prace opublikowane do roku 2020.

Z przedstawionych materiałów wynika, iż łączny dorobek publikacyjny dr Gniewomira Latacza obejmuje 73 pozycje, w tym:

- 67 oryginalnych artykułów, które ukazały się w czasopismach zagranicznych z listy filadelfijskiej;
- 5 prac (cztery przed uzyskaniem stopnia doktora i jedna po jego uzyskaniu) bez IF,
- 1 praca przeglądowa.

Ponadto Habilitant jest współtwórcą: dwóch międzynarodowych i trzech krajowych zgłoszeń patentowych.

W ujęciu parametrycznym całkowity *Impact Factor* opublikowanych prac wynosi **261,67**, zaś liczba punktów KBN/MEN **5001**, liczba cytowań (dotycząca wszystkich publikacji) = **516**, a bez autocytowań **376**, indeks Hirscha = **14**. Wykaz cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego zatytułowanego „Ocena parametrów ADME-Tox nowych ligandów receptorów serotoninowych 5-HT₆ i 5-HT₇”, obejmuje sześć prac oryginalnych o sumarycznym **IF=19,824** i łącznej punktacji **MNiSW=425**. W czterech załączonych pracach Habilitant jest pierwszym autorem, a w dwóch drugim.

Przedstawiony dorobek naukowy wskazuje na znaczny wzrost aktywności publikacyjnej dr Gniewomira Latacza po doktoracie, czemu towarzyszy rosnący poziom naukowy prowadzonych badań.

1. Ocena działalności naukowo-badawczej przed doktoratem

Habilitant uzyskał dyplom magistra farmacji w 2002 r. na Wydziale Farmaceutycznym Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego na podstawie pracy magisterskiej pt. „*Próba określenia specyficzności substratowej D-hydantoinaz*”, wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Elżbiety Pękali. Dwa lata później rozpoczął studia doktoranckie w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych UJ CM. Badania, które prowadził w ramach studiów doktoranckich obejmowały projektowanie i syntezę substratów organicznych, które zostały przekształcane na drodze biotransformacji enzymów natywnych lub rekombinowanych w bakterii *E. coli* do D-enancjomerów nienaturalnych pochodnych fenyloalaniny. Ponadto, Habilitant w pracy doktorskiej opisał możliwości zastosowania metody elektroforezy kapilarnej w monitorowaniu reakcji enzymatycznych. Realizację tych celów naukowych umożliwił grant promotorski Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego N N405 251833 przyznany na realizację projektu pt. „*Badania nad otrzymywaniem nienaturalnych α-aminokwasów metodą hydantoinazową*”. W latach 2006-2007 od października 2006 do września 2007 otrzymywał stypendium finansowane z funduszy UE i budżetu państwa w ramach Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego pt. „*Akademicka Innowacyjność dla Małopolski – program stypendialny dla najlepszych doktorantów UJ*”. Projekt, zatytułowany „*Escherichia coli – mała fabryka białek na usługach badacza*”, został opisany w rozdziale monografii pt. „*Nauka i biznes: innowacyjne projekty doktorantów UJ: nauka dla rozwoju Małopolski*”.

Staże szkoleniowo-badawcze pt. „*High Performance Capillary Electrophoresis in monitoring of the enzymatic reactions*”, który odbył od 30 stycznia do 31 marca 2006 r. w CNRS Research Center on Artificial Biopolymers, Montpellier we Francji sfinansowany w ramach programu Leonardo da Vinci oraz szkolenie dotyczące aparatury i oprogramowania do elektroforezy kapilarnej, które odbył w styczniu 2008 r. w Beckmann Training Center w Paryżu we Francji sfinansowane przez firmę Beckmann umożliwiły mu zastosowanie metody elektroforezy kapilarnej w prowadzonych badaniach.

Swoją wiedzę z zakresu prowadzenia i monitorowania reakcji enzymatycznych poszerzył w ramach projektu dotyczącego zastosowania szczepów *Saccharomyces cerevisiae* w bioredukcji propentofiliny do jej enancjomerycznie czystej hydroksylowanej pochodnej, prowadzonego pod kierownictwem prof. dr hab. Elżbiety Pękali w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych.

W trakcie studiów doktoranckich brał również udział w projekcie realizowanym we współpracy z krakowską firmą farmaceutyczną IBSS BIOMED SA, który poświęcony był badaniom nad acelularną, rekombinowaną szczepionką przeciwko patogenowi wywołującemu krztusiec *Bordetella pertussis*. Otrzymane wyniki były poufne i nie zostały opublikowane.

Wyniki swoich badań prezentował na dwóch zjazdach krajowych i jednym zagranicznym.

Rozprawę doktorską pt. „*Badania nad otrzymywaniem nienaturalnych α-aminokwasów metodą hydantoinazową*” wykonaną pod kierunkiem prof. dr hab. Katarzyny Kieć-Kononowicz obronił 23 lutego 2011 r. Praca ta została wyróżniona przez Radę Wydziału Farmaceutycznego UJ CM.

W latach 2010-2015 był zatrudniony w ww. Katedrze na etacie asystenta a od roku 2015 do chwili obecnej jest zatrudniony na etacie adiunkta.

2. Ocena działalności naukowo-badawczej po doktoracie

Przechodząc do oceny merytorycznej dorobku daje się zauważyć rosnący poziom naukowy badań prowadzonych po doktoracie. Na przestrzeni lat 2011-2020 dr Gniewomir Latacz był współautorem szereg oryginalnych prac w renomowanych czasopismach zagranicznych, takich jak: *Eur J Med Chem* (11), *Bioorg Med Chem* (7), *Molecules* (6), *J Med Chem* (5), *Int J Mol Sci* (4), *ACS Chem Neurosci* (4), *Bioorg Med Chem Lett.* (3), *Bioorg Chem* (2), *MedChemComm* (2), *Chem Biol Drug Des* (1), *Appl Biochem Biotechnol* (1), *Eur J Pharmacol* (1), *Biochem Pharmacol* (1) *Pharmacol Biochem Behav* (1), *Br J Pharmacol* (1), *ChemMedChem* (1), *Epilepsia* (1), *Neurotherapeutics* (1) *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*(1) *New J Chem.* (1), *Neurotox Res* (1) i *Epilepsy Res* (1), a także cyklu powiązanych ze sobą tematycznie sześciu publikacji przedstawionych w ramach osiągnięcia naukowego zatytułowanego „Ocena parametrów ADME-Tox nowych ligandów receptorów serotoninowych 5-HT₆ i 5-HT₇”, w *Chem Biol Drug Des* (1) *Bioorg Med Chem Lett.* (1) *Bioorg Chem* (1), *MedChemComm* (1), *Molecules* (1), *Int J Mol Sci* (1).

Ponadto wyniki swoich badań prezentował w sesjach posterowych jak i prezentacjach ustnych; zarówno w Polsce (49 razy) jak i zagranicą (58 razy).

Dr Latacz recenzuje prace naukowe w renomowanych czasopismach: *Bioorganic Chemistry*, *Journal of Functional Foods*, *Neurochemistry International*, *Neurotoxicity Research*, *Molecules Science of the Total Environment*, *Cells* czy *International Journal of Pharmaceutical Science*.

Pierwszą grupą związków, którą dr Gniewomir Latacz testował pod kątem oceny parametrów ADMET, były ligandy receptorów histaminowych H₃ i H₄. Związki te zostały otrzymane m.in. w ramach projektu badawczego, w których Habilitant uczestniczył jako wykonawca: COST ACTION BM0806 „Recent advances in histamine H₄ receptor research”, koordynowanego przez prof. Ekaterini Tiligadę, oraz kierowanego przez prof. dr hab. Katarzynę Kieć-Kononowicz i finansowanego przez NCN, pt. „Receptory histaminowe H₃/H₄ atrakcyjnym celem poszukiwań substancji biologicznie czynnych” (2011/02/A/NZ4/00031). Realizacja ww. projektu umożliwiła mu uczestnictwo w dwóch stażach naukowych STSM, Od 20 czerwca do 15 lipca 2011 r. oraz od 22 czerwca do 15 lipca 2012 r. dr Gniewomir Latacz uczestniczył w dwóch krótkoterminowych misjach naukowych. Podczas obu pobytów STSM realizował projekty naukowe w Pracowni Biochemii Wydziału Chemii Uniwersytetu Arystotelesa w Salonikach w Grecji, pod kierunkiem prof. Dimitrios A. Kyriakidisa

Kolejną serią związków, którą testował Habilitant pod kątem oceny parametrów ADMET, były ligandy receptorów adenozytowych z grupy pochodnych ksantyn. Badania te zostały przeprowadzone w ramach projektu „Poszukiwanie nowych ligandów receptorów adenozytowych o właściwościach lekopodobnych” (2012/04/M/NZ4/00219), kierowanym przez prof. dr hab. Katarzynę Kieć-Kononowicz.

Inną grupą substancji biologicznie aktywnych, które były badane przez dr Latacza, były związki o aktywności przeciwdrgawkowej i antynocyceptywnej. Badane te zostały przeprowadzone w dwóch projektach badawczych NCN „Poszukiwanie nowych substancji o działaniu przeciwdrgawkowym i przeciwbólowym wśród związków hybrydowych pochodnych piroolidyno-2,5-dionu” (2015/18/E/NZ7/00509) oraz „Nowi antagoniści receptora waniloidowego typu 1 (TRPV1) w poszukiwaniu substancji o szerokim spektrum aktywności przeciwdrgawkowej i przeciwbólowej w badaniach przedklinicznych” 2017/27/B/NZ7/00249) (w których Habilitant - w ramach współpracy z dr. hab. Krzysztofem Kamińskim, prof. UJ z Katedry Chemii Leków UJ CM – był wykonawcą).

Oprócz badań, których wyniki przedstawiono w cyklu powiązanych tematycznie artykułów wchodzących w skład osiągnięcia naukowego obejmującego badania ligandów receptorów 5HT₆ i 5HT₇, Habilitant brał udział - jako wykonawca - w dwóch grantach finansowanych przez NCN, a mianowicie: „*Opracowanie unikalnych sond molekularnych: niskozasadowi agoniści do badania funkcji receptora 5-HT₇*” (2017/25/B/NZ7/0929), kierowanym przez prof. dr. hab. Andrzeja J. Bojarskiego, oraz „*Ocena parametrów ADME-Tox in vitro dla potencjalnych kandydatów na lek OUN działających jako silne i selektywne ligandy receptorów serotoninowych 5-HT₆*” kierowanym przez mgr Annamarię Lubelską oraz grantie wchodzącym w skład osiągnięcia naukowego „*Nieindolowe i niesulfonowe ligandy receptora 5-HT₆ z grupy tymolowych pochodnych 1,3,5-triazyny jako starter w poszukiwaniu innowacyjnej terapii zaburzeń pamięci i nastroju*” (2018/31/B/NZ7/02160), kierowanym przez prof. dr. hab. Jadwigę Handzlik. Dr Gniewomir Latacz brał również udział - jako wykonawca - w projekcie: „*Nowe ligandy wielofunkcyjne hamujące cholinoesterazy i blokujące receptory 5-HT₆ – projektowanie, synteza i badania farmakologiczne związków o potencjalnym działaniu prokognitywnym*” finansowanym przez NCN (2016/23/D/NZ7/01328) i kierowanym przez dr. hab. Annę Więckowską. Ponadto Habilitant wyznaczył parametry ADMET ligandów receptorów serotoninowych dostarczonych w ramach współpracy z: prof. dr. hab. Marcinem Kołaczekowskim, dr. hab. Grażyną Chłoń-Rzepą oraz mgr Agnieszką Jankowską z Katedry Chemii Leków UJ CM, dr. hab. Magdaleną Jastrzębską-Więsek z Zakładu Farmacji Klinicznej UJ CM; dr. Jolantą Jaśkowską i mgr. Damianem Kułagą z Instytutu Chemii i Technologii Organicznej Politechniki Krakowskiej. W trakcie badań prowadzonych pod kierownictwem dr. hab. Anny Więckowskiej dr. Latacz wyznaczył parametry ADMET kilku inhibitorów monoaminoooksydazy B (MAO-B).

Oprócz współpracy z placówkami w Polsce Habilitant podjął współpracę z jednostkami naukowymi w Europie m.in. z: prof. Robem Leursem, Amsterdam Institute for Molecules, Medicines and Systems (AIMMS), Division of Medicinal Chemistry, Faculty of Science, Vrije Universiteit Amsterdam, Holandia; prof. Clausem Jacobem, Institute of Bioorganic Chemistry, Department of Pharmacy, Saarland University, Niemcy; prof. Oriano Tabarinim, Department of Pharmaceutical Sciences, University of Perugia, Włochy; prof. Vladimirem Savicem, Department of Organic Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Serbia oraz prof. Romanem Lesykim, Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraina.

Ważnym elementem prowadzonych badań jest umiejętność pozyskiwania grantów w celu realizacji założonych projektów badawczych, jak również nawiązywanie współpracy z ośrodkami badawczymi w Polsce jak i poza jej granicami. Przedstawiony dorobek publikacyjny wskazuje ponad wszelką wątpliwość, że dr. Gniewomir Latacz ma bardzo dobrze przygotowany warsztat badawczy i potrafi nawiązywać kontakty z naukowcami z dziedzin pokrewnych.

Przechodząc do oceny badań przedstawionych jako cykl powiązanych tematycznie artykułów wchodzących w skład osiągnięcia naukowego obejmującego badania ligandów receptorów 5HT₆ i 5HT₇, należy podkreślić rolę jaką receptory te pełnią w ośrodkowym układzie nerwowym.

Receptory 5-HT₆ zlokalizowane w ośrodkowym układzie nerwowym stanowią istotną część układu receptorów serotoninowych. Inhibicja receptorów 5-HT₆ prowadzi do zwiększenia przekazywania w układzie cholinergicznym i glutaminergicznym, co ułatwia uwalnianie dopaminy i noradrenaliny. Modulacja działania receptorów 5-HT₆, w związku z ich lokalizacją i funkcją, może mieć szczególne znaczenie dla chorych cierpiących na różnego rodzaju otępienia i demencje z współwystępującymi objawami behawioralnymi i psychologicznymi.

Receptory serotoninowe 5-HT₇ występują w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym. W mózgu wykrywa się je głównie w korze czołowej, wzgórzu, podwzgórzu i hipokampie. Dystrybucja receptorów 5-HT₇ w ośrodkowym układzie nerwowym wskazuje na ich rolę w regulacji procesów poznawczych, nastroju, bólu, rytmów okołodobowych oraz snu. Poszukiwanie nowych związków wykazujących wysokie powinowactwo do receptora 5-HT₇ może znaleźć zastosowanie w leczeniu różnych zaburzeń neuropsychiatrycznych, w tym schizofrenii, zaburzeń poznawczych i depresji.

Starzejące się społeczeństwa i związane z tym wzrost liczby pacjentów z chorobami neurodegeneracyjnymi uzasadniają ze wszech miar celowość takich badań.

W tym świetle przedstawiony przez Habilitanta zakres badań przeprowadzonych w cyklu habilitacyjnym jest bardzo uzasadniony.

Poszukiwanie nowych leków to pasjonujące zajęcie, ponieważ mogą one poprawić ludzkie zdrowie oraz jakość i długość życia. Dla naukowców zajmujących się badaniami nad poszukiwaniem nowych leków jest to niezwykle trudna misja ze względu na liczne parametry, które należy jednocześnie zoptymalizować, w celu uzyskania skutecznego związku „lekoopodbnego” (drug-like).

Parametry ADMET (wchłanianie, dystrybucja, metabolizm, eliminacja, toksyczność) są jednymi z tych wyzwań. Spośród tysięcy nowych związków, które powstają w laboratoriach, zazwyczaj tylko ułamek z nich ma wystarczające parametry ADMET, aby stać się produktem leczniczym. Zrozumienie użyteczności ww. parametrów jest ważne dla wszystkich naukowców poszukujących nowych leków. Właściwości ADMET są kluczowym aspektem jakości związków kandydujących do badań klinicznych. Jeśli właściwości te są słabe, to związek w badaniach klinicznych będzie miał wysokie ryzyko niepowodzenia lub będzie mniej pożądanym jako produkt leczniczy. Parametry ADMET zostały zintegrowane z odkrywaniem leków i są ogromnym atutem w kierowaniu selekcją i optymalizacją cennych związków wiodących. Związki „lekoopodobne” (drug-like) definiuje się jako związki, które mają dostatecznie dopuszczalne właściwości ADMET, aby przejść badania kliniczne fazy I na ludziach. Właściwości leku zawsze były istotnym składnikiem fazy rozwoju, po jego odkryciu, podczas której przeprowadza się szczegółowe badania nad właściwościami strukturalnymi, stabilnością, farmakokinetyką, metabolizmem i toksycznością.

Do testów ADMET dr Gniewomir Latacz otrzymał trzy grupy związków:

1. siedmiu antagonistów receptora 5-HT₇ wyselekcjonowanych z grupy arylopiperazynowych pochodnych hydantoiny charakteryzujących się wysokim powinowactwem in vitro wobec receptora 5-HT₇ oznaczonych symbolami **KKB-12**, **KKB-15**, **KKB-16**, **KKB-36**, **KKB-40**, **KKB-41**, zawierających w pierścieniu benzenowym, połączonym z azotem piperazynowym w pozycji 4, podstawniki: 2,5-dimetylowy, 2-etoksyłowy, 3-metoksyłowy, 4-fenyłowy, 2-nitryłowy, 2-chlorowy, oraz benzhydryłowy, o wartościach K_i mieszczących się w przedziale 9 - 89 nM oraz **związek MF-8** - 5-(4-fluorofenylo)-3-(2-hydroksy-3-(4-(2-metoksyfenylo)piperazyn-1-yl)propylo)-5-metyloimidazolidyno-2,4-dion, który wykazywał najwyższe powinowactwo w badanej serii (K_i=3 nM). Dla serii pochodnych **KKB** - w celu wyznaczenia parametrów ADMET - wykonane zostały następujące testy: transport bierny przez błony biologiczne w teście PAMPA, toksyczność przy zastosowaniu panelu testów bezpieczeństwa (wpływ związków na aktywność izoform CYP-3A4 i -2D6), badanie stabilności metabolicznej przy użyciu ludzkich mikrosomów wątrobowych (HLMs).

Określono także cytotoksyczność i hepatotoksyczność w modelach eukariotycznych linii komórkowych oraz mutagenność w teście Ames. Na podstawie analizy otrzymanych danych Habilitant ustalił, że większość związków z badanej grupy wykazała akceptowalne właściwości „lekoopodobne”. Na szczególną uwagę zasługiwały dwie pochodne: związek **MF-8** ze względu na wysokie powinowactwo wobec receptora 5-HT₇ oraz bardzo dobre

właściwości „lekoopodobne” w testach *in vitro* oraz związek **KKB-16**, który charakteryzował się wysoką stabilnością metaboliczną oraz najwyższą selektywnością w serii pochodnych **KKB**. Oba związki zostały przekazane do badań *in vivo*. Testy behawioralne na myszach wykazały - dla obu związków - potencjalne efekty antydepresyjne. Ponadto, stwierdzono, że najsilniejsze działanie *in vivo* miał związek **KKB-16** a nie pochodna **MF-8** wykazująca najwyższe powinowactwo *in vitro* do receptora 5-HT₇ – Jest przykładem na to, że umiejętne sterowanie parametrami ADMET związku biologicznie aktywnego, może doprowadzić do lepszych właściwości „lekoopodobnych” kosztem niewielkiego obniżenia powinowactwa wobec badanego receptora. Warty podkreślenia jest, że oba badane związki wykazywały wyższą potencjalną aktywność przeciwdepresyjną niż referencyjne związki SB-269970 - antagonistą receptora 5-HT₇ oraz imipramina – lek przeciwdepresyjny.

Cztery stereoizomery **MF-8A**, **MF-8B**, **MF-8C**, **MF-8D** związku **MF-8rac**, który - we wstępnych badaniach *in vitro* - używany była jako mieszanina stereoizomerów wykazująca najwyższe powinowactwo wobec receptora 5-HT₇. W celu oznaczenia ich aktywności i parametrów ADMET opracowano metodę ich syntezy. Na podstawie uzyskanych wyników (K_i) wykazano zasadnicze różnice w powinowactwie do receptora 5-HT₇ pomiędzy badanymi stereoizomerami, a najwyższą wartość K_i stwierdzono dla stereoizomeru **MF-8A** ($K_i=3$ nM), najniższą dla **MF-8D** ($K_i= 366$ nM). Wykazano również, że wszystkie izomery optyczne zachowały pożądaną selektywność względem receptora 5-HT_{1A}. Przeprowadzone testy funkcjonalne, w których mierzono zdolność badanych stereoizomerów do obniżenia wewnątrzkomórkowego cAMP, wykazały korelację z badaniami radioreceptorowymi. Aktywności stereoizomerów wzrastały analogicznie w obu testach, w następującym porządku: **MF-8D** < **MF-8B** < **MF-8C** < **MF-8A**. Stwierdzono także bardzo silną aktywność antagonistyczną **MF-8A** ($K_b =24$ nM), dużo korzystniejszą niż w przypadku mieszaniny stereoizomerów **MF-8rac** ($K_b =58$ nM).

Dla **MF-8rac** i czterech stereoizomerów **MF-8A**, **MF-8B**, **MF-8C** i **MF-8D** Habilitant wykonał następujące testy parametrów ADMET: biodostępność w teście PAMPA, przy zastosowaniu modelu linii komórkowej Caco-2 pozyskanej z kolekcji ATCC® (HTB-37™) i przy użyciu testu luminescencyjnego i toksyczność przy zastosowaniu panelu testów bezpieczeństwa, w tym wpływu związków na aktywność izoform CYP-3A4, -2D6 i -2C9. Przeprowadzono badanie stabilności metabolicznej przy użyciu mysich mikrosomów wątrobowych (MLMs), wyznaczając parametry Cl_{int} , $t_{1/2}$, oraz badanie hepatotoksyczności w modelu linii komórkowej ludzkiego wątrobiaka HepG2. Otrzymane dla stereoizomerów **MF-8A**, **MF-8B**, **MF-8C** i **MF-8D** wyniki zostały porównane z wynikami uzyskanymi dla **MF-8rac**, jak również z odpowiednimi wynikami związków referencyjnych. Z przeprowadzonej analizy danych wynika, że poszczególne izomery mają odmienne wartości parametrów ADMET. Stwierdzono m.in. różnice w indukowaniu aktywności Pgp, różny profil farmakokinetyczny *in vitro*, dodatkowe ścieżki metaboliczne stereoizomeru **MF-8B** oraz istotne różnice w aktywności izomerów CYP-3A4 i CYP-2C9. Na podstawie wyników badań radioreceptorowych i wyznaczonych parametrów ADMET wyłonił się został stereoizomer **MF-8A** o najkorzystniejszym profilu, wykazujący najwyższe powinowactwo do receptora 5HT-7 oraz brak reakcji międzylekowych. Pomimo stwierdzonych wad takich jak istotna statystycznie aktywacja białka Pgp, najniższa wartość przepuszczalności P_{app} w modelu Caco-2 i jedna z najniższych P_e w modelu PAMPA wśród badanych stereoizomerów, związek ten wykazywał w testach absorpcji satysfakcjonujące wyniki, w porównaniu do dobrze przepuszczalnego związku referencyjnego - kofeiny (**CFN**). **MF-8A** przekazany został do dalszych badań *in vivo* na gryzoniach pod kątem określenia aktywności przeciwdepresyjnej.

2. trzech agonistów receptora 5-HT₇: dwóch wyselekcjonowanych z serii pochodnych 3-(1-alkilo-1*H*-imidazol-5-yl)-1*H*-indolo-5-karboksamidów (**AH-494**, **AGH-282**) oraz

komercyjnie dostępnego związku referencyjnego, nieselektywnego agonistę 3-(2-aminoetylo)-1*H*-indolo-5-karboksyamid (**5-CT**). Wyselekcjonowane związki przeznaczone do badań parametrów ADMET charakteryzowały się nie tylko wysokim powinowactwem do receptorów 5HT₇, ale także wysoką selektywnością względem receptora 5-HT_{1A}.

Dla trzech ww. związków oszacowano następujące parametry ADMET: biodostępność w teście PAMPA (zastosowano test określający potencjalne substraty Pgp), toksyczność przy zastosowaniu panelu testów bezpieczeństwa (w tym wpływu związków na aktywność izoform CYP 3A4, 2D6 i 2C9 w celu przewidzenia interakcji międzylekowych), badanie stabilności metabolicznej oraz ścieżek metabolicznych (przy użyciu mikrosomów wątrobowych pochodzących z różnych gatunków – człowieka HLMs, myszy MLMs oraz szczura RLMs). Ponadto, określono cytotoksyczność i hepatotoksyczność oraz neurotoksyczność na liniach komórkowych odpowiednio HEK-293, HepG2 i ludzkiej neuroblastomy SH-SY5Y (ATCC®, CRL-2266™) oraz określono mutagenność w teście Ames.

Na podstawie analizy wyznaczonych parametrów ADMT Habilitant wykazał, że głównymi zaletami związków **AH-494** i **AGH-282** są wysokie powinowactwo do receptora 5-HT₇ i selektywność względem receptora 5-HT_{1A} w porównaniu do związku referencyjnego **5-CT**. Związki **5-CT** i **AH-494** wykazywały bardzo dobrą zdolność do biernej dyfuzji przez błony biologiczne, a także znacząco hamowały Pgp. Dla związku **AGH-282** zaobserwowano nieznaczące, statystycznie nieistotne hamowanie Pgp. Wszystkie badane związki charakteryzowały się wysoką stabilnością, szczególnie **AGH-282**, w przypadku którego nie obserwowano metabolitów po inkubacji z HLM i RLM. Znaczące różnice pomiędzy związkiem referencyjnym **5-CT** a pochodnymi **AH-494** i **AGH-282** zaobserwowane zostały tylko w testach in vitro (pod względem ich wpływu na aktywność cytochromów P-450). Prawdopodobnie ta hamująca aktywność – w przypadku związków **AH-494** i **AGH-282** - spowodowana jest obecnością pierścienia imidazolu. Wszystkie badane związki nie wykazywały znaczącej toksyczności i mutagenności. Aktywność związku **AH-494** została ustalona w badaniach farmakologicznych in vivo (badania na myszach), potwierdzając możliwość przenikania przez barierę krew-mózg. Związki **AH-494** i **AGH-282** wykazują szereg obiecujących parametrów ADMET in vitro w porównaniu z wzorcem **5-CT** m.in. bardzo dobrą rozpuszczalność w wodzie i pożądaną wysoką selektywność względem receptora 5-HT_{1A}. Mogą więc stanowić podstawę do dalszych modyfikacji strukturalnych w celu otrzymania selektywnej molekularnej sondy w badaniach receptora 5HT-7.

3. sześć ligandów receptora 5-HT₆ o symbolach: TR-12, TR-37, KB-61, MST-4, KMP-10 oraz DJ-8.

Wyselekcjonowana grupa związków należy do nowej chemicznej klasy (pochodnych metylopiperazyno-1,3,5-triazyny) aktywnych i selektywnych ligandów receptora 5-HT₆.

Dwa związki z tej grupy (**DJ-18** i **KMP-10**) to pochodne metylopiperazyno-1,3,5-triazyny zawierające cykliczny hydantoinowy łącznik pomiędzy ugrupowaniami aromatycznymi, związki **TR-37** i **KB-61** zawierają resztę fenylową z chlorem lub metylem w pozycji *meta*, związek **TR-12** zawiera ugrupowanie 3-indolu, natomiast **MST-4** ugrupowanie tymolu.

Pochodne metylopiperazyno-1,3,5-triazyny zostały poddane szeregowi testów radioreceptorowych w celu oszacowania ich powinowactwa i selektywności względem receptorów serotoninowych 5-HT₆, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₇ oraz dopaminowego D_{2L}.

Otrzymane wyniki wskazywały na bardzo wysokie powinowactwo obu pochodnych fenylowych oraz 3-indolowej i tymolowej do receptora 5-HT₆ (*K_i* = 11 – 29 nM), podczas gdy pochodne z łącznikiem hydantoinowym pomiędzy ugrupowaniami aromatycznymi, wykazały mniejsze, ale nadal istotne powinowactwo w zakresie od 87 do 127 nM.

W badaniach receptorowych również wykazano selektywność wszystkich badanych pochodnych względem receptorów 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₇ oraz D_{2L}.

Dla ww. związków Habilitant przeprowadził następujące testy w celu wyznaczenia parametrów ADMET : biodostępność wszystkich związków metodą PAMPA oraz testem definiującym substraty Pgp, dodatkowo w modelu komórkowym Caco-2 przebadano jedną pochodną **KMP-10**; cytotoksyczność i hepatotoksyczność w modelach eukariotycznych linii komórkowych HEK-293 i HepG2. Ponadto przeprowadzono badanie stabilności metabolicznej, w tym określenie parametrów farmakokinetycznych *Clint*, *t*_{1/2} oraz określenie ścieżek metabolicznych przy użyciu HLMs (panel zastosowanych testów bezpieczeństwa obejmował badanie wpływu związków na aktywność izoform CYP-3A4 i -2D6 w celu oszacowania potencjalnych interakcji międzylekowych,) oraz badania mutagenności w teście Ames i test wiązania do białek osocza w celu określenia parametru dystrybucji związku **KMP-10**.

Na podstawie analizy wyznaczonych parametrów ADMT Habilitant wykazał, że badane związki charakteryzowały się bardzo dobrą przepuszczalnością (z wyjątkiem związku **KMP-10**), niskimi wartościami *Clint* oraz wysokim profilem bezpieczeństwa, m.in. znikomym prawdopodobieństwem wywołania efektów cytotoksycznych, hepatotoksycznych i mutagennych oraz wystąpienia interakcji międzylekowych.

Testy *in vivo*, przeprowadzone w Zakładzie Farmacji Klinicznej oraz Katedry Farmakodynamiki UJ MC wyłoniły z badanej grupy związki **TR-12** i **MST-4** jako posiadające najbardziej obiecujący profil farmakologiczny. Dla tych pochodnych stwierdzono znaczące działanie prokognitywne oraz potencjalny efekt przeciwlękowy w testach behawioralnych. Ponadto badania wpływu **MST-4** na przyrost masy ciała zwierząt wykazały korzystne, istotne statystycznie wyniki w grupie zwierząt karmionych dietą wysokokaloryczną. Kompleksowe testy behawioralne wykonano również dla związku **KMP-10**. Pomimo stwierdzonej umiarkowanej przepuszczalności *in vitro*, pochodna ta posiadała wiele korzystnych aktywności związanych z funkcjonowaniem OUN, w tym znaczące, potencjalne działanie przeciwlękowe, przeciwdepresyjne oraz efekt prokognitywny. Ponadto stwierdzono również korzystny wpływ **KMP-10** na metabolizm i masę ciała szczurów karmionych dietą wysokokaloryczną

Podsumowując przeprowadzone przez Habilitanta badania *in vitro* parametrów ADMET wybranych aktywnych i selektywnie działające ligandów receptorów 5-HT₆ i 5-HT₇ dostarczyły cennych informacji na temat ich bezpiecznego stosowania jako potencjalnych leków. Na podstawie analizy otrzymanych danych dr Latacz mógł wskazać związki, które charakteryzowały się nie tylko wysoką aktywnością farmakologiczną, ale także korzystnymi parametrami *in vitro*, które powinny wykazywać związki "lekopodobne" Niewątpliwym osiągnięciem Habilitanta jest pogłębienie wiedzy na temat nowych ligandów receptorów 5-HT₆ i 5-HT₇, która może przyczynić się do skuteczniejszego odkrywania leków w schorzeniach OUN.

3. Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Dr Gniewomir Latacz posiada także znaczące osiągnięcia dydaktyczno-organizacyjne. Od momentu rozpoczęcia studiów doktoranckich (2004) bierze udział w prowadzeniu zajęć laboratoryjnych z przedmiotu „*Biotechnologia farmaceutyczna*”, a od 2020 roku także wykładów oraz seminariów „*Synteza i technologia środków leczniczych*” dla studentów kierunku Farmacja.

W latach 2010-2012 prowadził zajęcia laboratoryjne „*Biotechnologia w kosmetologii*” dla studentów kierunku Kosmetologia.

Prowadził lub ciągle prowadzi zajęcia fakultatywne, m.in.:

Od 2012 – „*Od DNA do firmy biotechnologicznej*” dla studentów kierunku Analityka

medyczna (od 2019 roku jako koordynator przedmiotu)

Od 2014 – „*Przemysłowe aspekty biotechnologicznej produkcji leków*” dla studentów kierunku Farmacja (od 2019 roku jako koordynator przedmiotu)

Od 2017 – „*Metody komputerowe w racjonalnym projektowaniu leków*” dla studentów kierunku Farmacja

Od 2014 do 2018 – „*Leki generyczne – metodyka badań*” dla studentów kierunku Farmacja
Koordynuje następujące przedmioty fakultatywne, poświęcone aspektom tatuażu dekoracyjnego:

Od 2017 – „*Tatuaż ozdobny z punktu widzenia kosmetologa*” dla studentów kierunku Kosmetologia

Od 2019 – „*Tatuaż ozdobny – zagrożenia, powikłania, pielęgnacja oraz aspekty historyczne i artystyczne*” dla studentów kierunku Farmacja

W latach 2014-2020 prowadził dla doktorantów seminarium z przedmiotu „*Metodologia badań naukowych*”. W 2020 roku wygłosił również wykład dla studentów studiów podyplomowych „*Farmacja przemysłowa*”.

Brał czynny udział w organizacji anglojęzycznych studiów magisterskich II stopnia „*Drug Discovery and Development*”, które rozpoczęły się na Wydziale w roku akademickim 2018/2019. W ramach tego kierunku przygotował sylabus i koordynuje przedmiot „*Biological Drugs*”.

Zaangażowany jest także w prowadzenie następujących przedmiotów na kierunku „*Drug Discovery and Development: „Biology in pharmaceutical sciences; „Translational medicine and biomarkers”, „Introduction to drugs safety and toxicology”; „Principles of clinical trials”; „Molecular ADME and in vivo pharmacokinetics”; „Model informed drug development”, • „Introduction to drugs safety and toxicology”; „Medicinal chemistry”*”.

W 2013 roku został koordynatorem Studenckiego Koła Naukowego Biotechnologii Medycznej. Jego podopieczni otrzymali 4 nagrody za prezentacje ustne lub posterowe podczas międzynarodowych konferencji studentów kierunków medycznych. Ponadto jeden z Jego studentów otrzymał grant badawczy przyznany przez Studenckie Towarzystwo Naukowe UJ CM.

W latach 2012-2020 był promotorem 22 prac magisterskich, w tym: 11 prac studentów kierunku Farmacja; 6 prac studentów kierunku Kosmetologia; 3 prac studentów kierunku Analityka medyczna; 2 prac studentów kierunku Biotechnologia na Wydziale Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie (na podstawie umowy międzyuczelnianej).

Był promotorem pomocniczym trzech prac doktorskich, w tym dwóch obronionych dr Małgorzaty Marć i dr Karoliny Witek oraz jednej będącej przed obroną mgr Annamarii Lubelskiej.

Ponadto był opiekunem naukowym następujących stażystów: 4 studentów zagranicznych w ramach wakacyjnych pobytów ISEP (ang. International Student Exchange Program); 8 studentów Biotechnologii UJ w ramach letnich praktyk; magistra Biotechnologii Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie (6-miesięczny staż naukowy w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego); doktorantki Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (5-miesięczny staż naukowy); 8 studentów programu Erasmus (jeden pobyt powyżej 6 miesięcy)

W 2018 r. był współorganizatorem i osobą współprowadząca sesję naukową pt. „*Metabolic activation of xenobiotics - therapeutic target and drug monitoring*” podczas konferencji 3rd Congress of Polish Biosciences BIO2018, Gdańsk, 18-21 września 2018.

Był członkiem komitetów organizacyjnych następujących konferencji:

1. V Meeting of the Paul Ehrlich MedChem Euro-PhD Network, Kraków, 3-5 lipca 2015.
2. The Meeting Bio-Selenium People in Europe, 1-3 września 2016.

3. 48th Annual Meeting of the European-Histamine-Research-Society (EHRS), Kraków, 15-18 maja 2019.

Od 2018 r. bierze czynny udział w pracach Zespołu, zajmującego się konsultacją merytoryczną projektów pracowni badawczych mających powstać w ramach planowanego Centrum Rozwoju Terapii Chorób Cywilizacyjnych i Związanych z Wiekiem (CDT-CARD) na Kampusie Medycznym UJ CM. W ramach tej działalności współtworzył m.in. wniosek o dofinansowanie infrastruktury badawczej dla CDT-CARD w ramach konkursu POIR 4.2 (Program Operacyjny Inteligentny Rozwój 2014-2020 działanie 4.2). Przygotowany przez Zespół projekt dofinansowano kwotą 39 997 636 PLN.

Habilitant był również nagradzany za osiągnięcia naukowe jak i za działalność dydaktyczną. in. w: 2015 Nagrodą Dziekana Wydziału Farmaceutycznego za osiągnięcia naukowe; 2018 Nagrodą Dziekana Wydziału Farmaceutycznego za osiągnięcia naukowe; 2018 Nagrodą Rektora UJ za indywidualne osiągnięcia dydaktyczne i w 2019 Nagrodą Rektora UJ za indywidualne osiągnięcia naukowe

Podsumowanie

Reasumując, oceniany dorobek Pana dr Gniewomira Latacza jest znaczący i spójny – zwłaszcza w obszarze jednotematycznego cyklu prac stanowiących osiągnięcia naukowe zgłoszone do postępowania habilitacyjnego - oraz cechuje się wysokim poziomem merytorycznym. Przedstawiony zakres i procentowy wkład Habilitanta w poszczególnych publikacjach oraz załączone oświadczenia współautorów jednoznacznie określają udział Pana dr Gniewomira Latacza w badaniach.

Kierunek przedstawionych badań dobrze wpisuje się we współczesne potrzeby związane z poszukiwaniem nowych leków oraz pracami dotyczącymi optymalizacji parametrów ADMET związków wiodących w zakresie chorób neurodegeneracyjnych.

Przedstawiony dorobek - oprócz charakteru poznawczego - stwarza możliwości praktycznego zastosowania i wskazuje również na istotny wkład Pana dr Gniewomira Latacza w rozwój nauk farmaceutycznych.

Uważam, że przedstawiony dorobek naukowy, dydaktyczny i działalność organizacyjna oraz popularyzująca naukę Pana dr Gniewomira Latacza w pełni odpowiada wymogom stawianym kandydatom do stopnia doktora habilitowanego. Habilitant wypełnia wszelkie kryteria oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, określone w *art. 219 ust. 1 pkt. 2) lit. b) oraz art. 221 ust. 8. Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.*

Dlatego przedstawiam **Radzie Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie** wniosek o dopuszczenie Pana dr Gniewomira Latacza do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.