



Warszawa, dnia 12.03.2020

Recenzja pracy doktorskiej mgra Mateusza Rezlera pod tytułem „Synteza, analiza struktury i ocena aktywności biologicznej nowych diamidyn aromatycznych”, wykonanej na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w Zakładzie Chemii Organicznej.

Poszukiwanie i projektowanie nowych leków to długotrwały proces, który zwykle wymaga zastosowania wielu metod i technik z pogranicza chemii, farmacji, biologii, medycyny i fizyki. Coraz częściej wymaga on również udziału metod modelowania molekularnego. Standardowy sposób postępowania w takim przypadku to dokładna analiza danych bibliograficznych w celu znalezienia nowych kandydatów na związki wiodące lub ich zaprojektowanie *de novo* oraz badania teoretyczne oddziaływań ligand-receptor/białko w celu wyłonienia najlepszych kandydatów na nowe leki. Kolejny etap to synteza i analiza nowych związków oraz badania aktywności biologicznej *in vitro/in vivo* i przeprowadzenie badań zależności aktywność-struktura. Niniejsza praca stanowi ciekawą próbę zastosowania części z tych technik i metod do znalezienia nowych związków, które mogłyby znaleźć zastosowanie w terapii pneumocystozy.

Rozprawa doktorska mgra Rezlera składa się ze streszczenia w języku polskim oraz angielskim, pięciu rozdziałów przedstawiających wprowadzenie do tematu oraz oryginalnych badań liczących łącznie 203 strony. Dodatkowo praca składa się z załączonych tekstów sześciu publikacji, których autor dysertacji jest autorem lub współautorem, indeksów i spisów skrótów, rysunków, tabel i równań oraz bibliografii.

Rozdział pierwszy to krótkie, 1-stronicowe wprowadzenie do tematu pracy doktorskiej oraz określenie jej celów, które dobrze sygnalizuje podjęty temat. Pewnym brakiem tego wprowadzenia jest zaznaczenie, co jest przyczyną pneumocystozy (grzybica układu oddechowego wywoływana przez grzyba *Pneumocystis jiroveci*), które powinno się znaleźć już na tym etapie pracy.

Rozdział drugi to bardzo obszerny przegląd bibliografii dotyczącej tematu pracy doktorskiej. Autor na 91 stronach szczegółowo opisuje wyniki dotychczasowych badań dotyczących aktywności biologicznej diamidyn aromatycznych w terapii pneumocystozy, metody syntezy związków z tej rodziny oraz obecny stan wiedzy na temat poszukiwań nowych analogów pentamidyny w terapii pneumocystozy. Ta część pracy została wykonana znakomicie; autor sprawnie snuje narrację wprowadzając czytelnika do tematu i nie omijając żadnych ważnych dotychczasowych dokonań. Pomimo znacznej objętości tej części pracy czyta się ją z zacięciem i aż szkoda, że nie została ona wydana w formie publikacji przeglądowej, co znacznie wzmocniłoby dorobek autora oraz stanowiło ciekawą lekturę dla naukowców

pracujących w tym temacie. Szczególnie cenne jest zebranie w jednym miejscu wartości IC_{50} dla szeregu diamidyn zsyntetyzowanych w różnych grupach i różnym czasie. Zebranie szeregu danych na temat zależności struktura-aktywność i podsumowaniu tego podrozdziału na stronie 103, są również bardzo ciekawe.

Rozdział trzeci przedstawia syntetyczny opis metod, którymi zsyntetyzowano i badano nowe związki chemiczne. Na plus tego rozdziału i całej pracy należy zaliczyć różnorodność metod użytych do odpowiedzi na pytanie o aktywność biologiczną tych związków.

W rozdziale czwartym autor dysertacji przedstawia najpierw tok rozumowania i względy, którymi kierował się przy wyborze struktur wiodących. Następnie przedstawia szczegółowo proces syntezy nowych związków chemicznych, potencjalnych terapeutyków pneumocystozy. Ta część jest ciekawa ze względu na zamieszczenie także tych dróg syntetycznych, które nie przyniosły spodziewanych rezultatów, a o których rzadko pisze się w publikacjach naukowych. Z drugiej strony podrozdział dotyczący przepisów preparatywnych jest według mnie zbyt szczegółowy, ponieważ większość tych informacji można znaleźć w załączonych publikacjach, a syntezy niektórych związków są co najmniej analogiczne, jeśli nie bardzo podobne. Powoduje to, że ta część dysertacji jest trudna w odbiorze, choć z drugiej strony zebranie tych informacji w jednym miejscu może być pomocne dla chemików syntetyków.

W tym samym rozdziale mgr Rezler przedstawia badania dotyczące struktury przestrzennej otrzymanych pochodnych. O ile same wyniki tej części są ciekawe, o tyle nie wnoszą one zbyt wiele do rozważań w głównym temacie pracy. Oczywiście potwierdzenie struktury oraz badania konformacji związków za pomocą rentgenografii oraz spektroskopii NMR jest istotne z punktu widzenia samych badań nad tymi związkami, ale w większości przypadków ma małe znaczenie dla badań oddziaływania tych związków z makromolekułami biologicznymi. Jest to spowodowane tym, że preferowane konformacje w ciele stałym czy roztworze wielu ligandów są całkowicie różne od konformacji tych związków w miejscach wiązania z białkami/DNA (patrz np. Perola E., Charifson P.S. Conformational analysis of drug-like molecules bound to proteins: an extensive study of ligand reorganization upon binding. *J. Med. Chem.* 2004;47:2499–2510 oraz Tirado-Rives J., Jorgensen W.L. Contribution of conformer focusing to the uncertainty in predicting free energies for protein-ligand binding. *J. Med. Chem.* 2006;49:5880–5884.).

O wiele ciekawsze, pod kątem tematu i celów pracy doktorskiej, są badania biologiczne opisane w dalszej części dysertacji. Nowo otrzymane związki przebadano w kierunku pneumocystozy, określono cytotoksyczność, aktywność przeciwbakteryjną, przeciwgrzybiczą oraz przeciwnowotworową i ich wpływ na receptory NMDA. Wyniki tych badań nie były spektakularne, choć kilka związków wykazało dość wysoką aktywność w kierunku pneumocystozy przy niskiej cytotoksyczności oraz bardzo niskich wartościach pozostałych aktywności. Głównym problemem związanym z tą częścią pracy jest dość niska liczba wszystkich nowych związków otrzymanych i przebadanych w tej pracy, która bardzo utrudnia przeprowadzenie analizy struktura-reaktywność.

Ostatni podrozdział rozdziału czwartego opisuje wyniki modelowania molekularnego dla nowo zsyntetyzowanych związków oddziałujących z DNA. Zastosowany model pozwolił na bardzo dobre skorelowanie eksperymentalnie wyznaczonych wartości EC_{50} z entalpią swobodą wiązania ligand-DNA oraz pokazał które części ligandów są odpowiedzialne za silne wiązanie z kwasem deoksyrybonukleinowym.

Ostatnie dwa podrozdziały ujawniają także główny mankament tej pracy, czyli brak pogłębionej analizy struktura-aktywność dla tej klasy związków, która zaowocowałaby kolejną serią (lub seriami) nowych związków o wyższej aktywności biologicznej. Standardowym trybem postępowania w szukaniu nowych leków jest użycie wyników biologicznych oraz modelowania dla pierwszej (i kolejnych) tur nowych związków do zaprojektowania i syntezy kolejnej serii związków, która miałaby szanse dać lepsze rezultaty. Przedstawione w pracy badania biologiczne oraz wyniki modelowania molekularnego, mimo że zrobione dla dość małej liczby związków chemicznych, powinny być wystarczające dla zaproponowania przynajmniej kolejnej serii 10-20 związków o potencjalnie lepszych właściwościach. Związki te można by przebadać najpierw za pomocą tego samego modelu teoretycznego, a te dające najwyższe entalpie swobodne wiązania zsyntetyzować oraz poddać badaniom biologicznym analogicznym do przedstawionych.

Pewnym problemem, wynikającym z mankamentu podanego powyżej, jest także dość niska liczba publikacji naukowych autora dysertacji oraz nie do końca jasny jego wkład w te publikacje. Z opisu pracy doktorskiej wynika, że mgr Rezler był odpowiedzialny za syntezę ww. związków, natomiast jego wkład w badania biologiczne czy modelowanie molekularne jest niejasno opisany.

Podsumowanie pracy jest krótkie, ale treściwe i dobrze rekapitułuje całą pracę. Bibliografia jest przygotowana prawidłowo, a dołączenie wszystkich cytowanych publikacji autora bardzo ułatwia czytanie i ocenę całej dysertacji. To samo można powiedzieć o spisie tabel i rysunków, który dla tak obszernej pracy jest bardzo mile widziany. Sam układ prac jest bardzo przejrzysty, napisany poprawnym i łatwym do zrozumienia językiem.

Podsumowując całą pracę mgra Mateusza Rezlera uważam, że autor dysertacji osiągnął założone we wstępie cele, syntetyzując serię nowych związków chemicznych, które zostały zanalizowane pod kątem ich struktury i aktywności biologicznej. Mimo że liczba nowych związków chemicznych jest stosunkowo niska, wyniki przedstawione w pracy doktorskiej są ciekawe i mają znaczny wkład w badania naukowe na poziomie światowym, a na pewno mogą być przyczynkiem do kolejnych prac z tego tematu. Biorąc pod uwagę całość pracy doktorskiej stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca spełnia wymagania ustawowe i wnoszę o dopuszczenie mgra Mateusza Rezlera do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. Bartosz Trzaskowski