



**UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU**  
**WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY Z ODDZIAŁEM MEDYCZYNY**  
**LABORATORYJNEJ**  
**Zakład Chemii Leków**  
**15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2D**  
Tel. (85) 748-57-06, FAX (85) 748-58-66  
[pal@umb.edu.pl](mailto:pal@umb.edu.pl)

**Prof. dr hab. n. farm. Jerzy Pałka**

**Białystok, 24.06.2020.**

**OCENA PRACY DOKTORSKIEJ**

pt. „Badanie in silico zależności struktura-aktywność chlorków bis-imidazoliowych” wykonanej przez mgr Macieja Karola Karolaka w Katedrze Technologii Postaci Leku, Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Przedmiotem niniejszej rozprawy doktorskiej jest analiza ilościowa zależności typu struktura-aktywność (QSAR) dużego zbioru chlorków bis-imidazoliowych o udowodnionej aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Z uwagi na ogromną ilość danych pomiarowych niezbędnych do stworzenia modeli przewidywania aktywności farmakologicznej leków, zachodzi potrzeba zastosowania efektywnych narzędzi analizy tych danych. Analiza QSAR daje takie możliwości.

Celem podjętych badań „in silico” było określenie zależności pomiędzy deskryptorami molekularnymi omawianych związków a ich aktywnością przeciwdrobnoustrojową oraz zbudowanie modeli predykcyjnych w celu identyfikacji parametrów strukturalnych zapewniających wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową. Cel ten Doktorant osiągnął poprzez opracowanie modeli 2D i 3D 266 chlorków bis-imidazoliowych, wyznaczenie deskryptorów molekularnych, ocenę aktywności przeciwdrobnoustrojowej tych związków oraz analizę QSAR z wykorzystaniem trzech metod statystycznych regresji (LASSO, krokowej i cząstkowych najmniejszych kwadratów). Aktywność przeciwdrobnoustrojową badanych związków względem 5 szczepów bakteryjnych i jednego szczepu grzyba Doktorant wyraził logarytmem minimalnego stężenia hamującego ich wzrost (logMIC). Na podstawie wielokrotnego generowania modeli QSAR techniką bootstrap Doktorant ocenił rozkład parametrów predykcyjnych i utworzył rankingi najczęściej występujących deskryptorów w korelacji z wartościami logMIC. Badania te wpisują się w koncepcję nowoczesnej strategii wykorzystywania narzędzi informatycznych w badaniach przedklinicznych. Podłożem tej strategii jest opracowanie metod selekcji kandydatów na leki o pożądaney aktywności farmakologicznej.

Podjęcie przez Doktoranta badania QSAR nad dużym zbiorem pochodnych bis-imidazoliowych uważam za uzasadnione i ważne z punktu widzenia zarówno

metodologicznego jak i aplikacyjnego. Świadczy o tym aktualna literatura dotycząca tych zagadnień, zamieszczona w piśmiennictwie rozprawy doktorskiej. Na podstawie literatury przedmiotu badanych Doktorant opracował syntetyczny wstęp opisując metodologię QSAR, modelowania cząsteczkowego, analizę statystyczną i walidację modeli. Szkoda, że Doktorant niewiele miejsca poświęcił opisowi dotychczasowej wiedzy o grupie badanych związków w aspekcie ich charakterystyki fizykochemicznej, aktywności przeciwdrobnoustrojowej i analizy SAR, cytując jedynie pracę Pałkowskiego i wsp. stanowiącą informacje źródłowe. We wstępie pracy zabrakło również krótkiej charakterystyki analizowanych szczepów bakterii.

Treścią pracy doktorskiej było przeprowadzenie modelowania molekularnego i wyznaczenie deskryptorów struktury badanych związków, ocena aktywności przeciwdrobnoustrojowej i analiza QSAR z zastosowaniem metod regresji liniowej. Wyniki badań przedstawiają rozkład parametrów predykcyjnych obliczonych dla 1000 modeli QSAR wygenerowanych metodami regresji LASSO, PLS i regresji krokowej. Pozwoliło to na dokonanie wyboru deskryptorów odzwierciedlających wartość predykcyjną. Na tej podstawie stworzono rankingi zmiennych niezależnych wyłonionych metodą regresji LASSO, regresji krokowej i regresji PLS. Z otrzymanych rodzin modeli wybrano reprezentantów o wysokiej i słabej predykcyjności.

Na uwagę zasługuje profesjonalne wyznaczenie zmiennych zależnych na podstawie logMIC badanych związków, stworzenie dwu- i trójwymiarowych modeli obszernego zbioru związków, wyznaczenie deskryptorów molekularnych, optymalizację geometrii cząsteczek i stworzenie modeli zależności pomiędzy logMIC a wartościami deskryptorów molekularnych. Modele takie umożliwiają przewidywanie skuteczności farmakologicznej badanych związków. Charakteryzują się one dużym potencjałem poznawczym i predykcyjnym.

Wyniki badań przeprowadzonych przez Doktoranta stanowią instrukcję do stworzenia modeli przewidywania aktywności przeciwdrobnoustrojowej pochodnych bis-imidazoliowych. Zastosowana technologia badawcza wymaga użycia nowoczesnych narzędzi analitycznych, obliczeniowych, specjalistycznych programów oraz biegłej znajomości metod statystycznych.

O ile metodologia analizy QSAR chlorków bis-imidazoliowych została doskonale wykonana to jednak niewiele miejsca poświęcono funkcjonalnemu znaczeniu tych badań oraz krytycznej analizie wyników badań, stwarzając pretekst do dyskusji. Na przykład, obszerny zbiór pochodnych bis-imidazoliowych nie kategoryzuje ich pod względem mechanizmu działania. Niektóre z nich mogą wykazywać nie tylko działanie powierzchniowo-czynne ale także antyelektrostatyczne czy kompleksujące białka, DNA itp. Gdyby przyjąć, że poszukujemy w obrębie tych pochodnych, jedynie związków o lepszych właściwościach powierzchniowo-czynnych to trud mógłby być daremny skoro znamy silniejsze surfaktanty z innych grup chemicznych. Nasuwa się zatem pytanie czy różnice pomiędzy modelami QSAR dla badanych związków wykazywały znamienność statystyczną? Czy mała ilość deskryptorów zwiększa zaufanie do modelu predykcyjnego? Czy różnice strukturalne badanej



grupy związków mogą wpływać na oporność badanych drobnoustrojów i czy zastosowane metody pozwalają odpowiedzieć na to pytanie?

Interpretacja wyników badań wyczerpująco odpowiada na postawiony w pracy cel: *„Celem niniejszej pracy doktorskiej było zidentyfikowanie najistotniejszych parametrów molekularnych, korelujących z aktywnością przeciwdrobnoustrojową i uczestniczących w tworzeniu modeli predykcyjnych dla dwóch szeregów homologicznych czwartorzędowych soli bis-imidazoliowych, klasyfikowanych do kationowych związków powierzchniowo czynnych.”* Jednakże, oczekiwałbym, że Autor pracy przedstawi propozycje struktur związków o najwyższym potencjale antyseptycznym. Warto byłoby również podać jakie czynniki były wiodące dla każdego ze szczepów drobnoustrojów. Czy istnieje zależność między budową badanych związków a ich potencjalnym działaniem antyseptycznym? Czy te deskryptory są takie same dla każdego drobnoustroju (co wskazywałoby na możliwość zaprojektowania związku o uniwersalnym działaniu antyseptycznym) czy może deskryptory zidentyfikowane przez modele o dużej predykcji wskazały dla każdego rodzaju badanego drobnoustroju na inne charakterystyczne tylko dla jednego rodzaju drobnoustroju elementy budowy związku? Ponadto, Ryciny 27-32 (str. 57-59) powinny mieć inną skalę, gdyż aktualna prezentacja utrudnia czytelność i interpretację prezentowanych wyników (praktycznie nie widać różnic pomiędzy słupkami na wykresach od drugiego do czwartego).

Na podstawie wyników obszernych badań Doktorant sformułował 8 wniosków podsumowujących wyniki badań. Odzwierciedlają one najistotniejsze elementy poznawcze pracy i przedstawiają niektóre aspekty metodologiczne przewidywania aktywności farmakologicznej chlorków bis-imidazoliowych przy użyciu narzędzi informatycznych. Niemniej jednak kolejność formułowania wniosków pod względem ważności dokonań wymaga korekty. Ponadto niektóre wnioski posiadają małą wartość informacyjną, np. wniosek 1 i 2. Wnioski 7 i 8 właściwie nie wynikają z przeprowadzonych badań a raczej stanowią założenia do wykonania analiz QSAR. Wniosek 6 nie jest jasno sformułowany. Skoro modele mają jedynie wartość predykcyjną i znikomą interpretowalność, to w jaki sposób mają pomóc w wyborze struktury i zaplanowaniu metod syntezy organicznej związku o potencjalnym działaniu przeciwbakteryjnym?

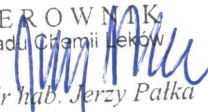
Postawione pytania daleko wykraczają poza ramy tematyki badawczej określonej w tytule pracy i absolutnie nie umniejszają wysokiej oceny merytorycznej pracy, poruszając jedynie zagadnienia, które mogą być lepiej zaadresowane przy przygotowywaniu pracy do publikacji. Należy mieć na uwadze fakt, że adresatami treści niniejszej pracy mogą być nie tylko specjaliści z zakresu modelowania molekularnego, analizy QSAR i analiz statystycznych, ale także badacze z wielu innych dyscyplin.

Rozprawa Doktorska stanowi obszerną dokumentację ogromu pracy koncepcyjnej i obliczeniowej Doktoranta. Szczególną uwagę zwraca opanowanie innowacyjnego warsztatu badawczego, które pozwoliło zapewnić wysoką jakość i rzetelność badań. Rozdział „Dyskusja” prawidłowo interpretuje uzyskane wyniki badań na podstawie aktualnej literatury przedmiotu. Pozwala to bardzo pozytywnie ocenić specjalistyczną wiedzę Doktoranta,

umiejętność rozwiązywania problemów badawczych, korzystania z literatury stanowiącej przedmiot pracy doktorskiej oraz interpretacji wyników.

Reasumując, uważam, że rozprawa doktorska mgr Macieja Karola Karolaka jest poprawnie przygotowana warsztatowo i wnosi nowe elementy poznawcze w zakresie wykorzystania metod obliczeniowych do przewidywania aktywności przeciwdrobnoustrojowej chlorków bis-imidazoliowych. Działalność badawcza Doktoranta w tym zakresie jest innowacyjnym i twórczym wkładem do tworzenia nowoczesnego warsztatu badawczego przewidywania aktywności farmakologicznej badanej grupy związków.

Upoważnia mnie to do wystąpienia z wnioskiem do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr Macieja Karola Karolaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK  
Zakładu Chemii Leków  
  
prof. dr hab. Jerzy Pałka