



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Katedra i Zakład Chemii Organicznej

Prof. Dr hab. Lucjusz Zaprutko

ul. Grunwaldzka 6  
60-780 Poznań

tel. 061 854 66 70

fax 061 854 66 80

e-mail: zaprutko@ump.edu.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej magistra farmacji **Macieja Karola Karolaka**,  
z tytułem „**Badanie *in silico* zależności struktura – aktywność  
chlorków bis-imidazoliowych**”

Chemometryczne badania obliczeniowe zastosowane do cząsteczek o udokumentowanym działaniu przeciwdrobnoustrojowym oraz aktywności powierzchniowo czynnej, będące przedmiotem powierzonej mi do oceny pracy doktorskiej magistra farmacji Macieja Karola Karolaka zostały zaprojektowane, zrealizowane i spisane w Katedrze Technologii Postaci Leku na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy, pod bezpośrednią naukową opieką Prof. dr hab. n. farm. Jerzego Krysińskiego jako promotora oraz dr Łukasza Kubika jako promotora pomocniczego. Doktorant jest zatrudniony w wymienionej Jednostce na etacie asystenta badawczo-dydaktycznego i jednocześnie odbywa studia doktoranckie w macierzystej Uczelni. Pracę swoją realizował we współpracy z Katedrą Biofarmacji i Farmakodynamiki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, gdzie odbył szkolenia z zakresu modelowania molekularnego oraz wykonał część obliczeń, wykorzystując w tym celu możliwość dostępu do tamtejszego Centrum Superkomputerowo-Obliczeniowego. W okresie czterech lat aktywności zawodowej Doktorant opublikował 2 prace doświadczalne oraz 2 prace przeglądowe, w tym dwie w czasopiśmie z listy JCR. Dotyczyły one tematyki realizowanej w ramach obowiązków asystenckich i nie miały bezpośredniego związku z przygotowaną rozprawą doktorską. Efektem badań prowadzonych w ramach studiów doktoranckich jest monografia przygotowana zgodnie ze wszelkimi regułami opracowywania tego typu dzieł. Składa się na nią 114 ponumerowanych stron, z czego 84 stanowi zwarty ilustrowany wykresami i tabelami tekst naukowy. Poza nim zamieszczono wykaz wykorzystanego piśmiennictwa, obejmujący 136 niezwykle celnie dobranych prac naukowych nielicznie przeplatanych odsyłaczami do stron internetowych. Sięgnięcie do źródeł internetowych jest jednak w tym przypadku w pełni uzasadnione, a nawet konieczne, gdyż to właśnie tam najczęściej znajdują się niezbędne programy obliczeniowe, względnie odpowiednie bazy danych. Zdecydowana

większość cytowanych prac pochodzi z ostatniego dziesięciolecia, a niemal wszystkie z bieżącego wieku. Jedynym, znowu całkowicie uzasadnionym wyjątkiem, jest odwołanie do niewielkiego bloku prac opisujących wprowadzenie i początki stosowania metod QSAR w projektowaniu substancji leczniczych. Przez owe znacznie już ponad 50 lat nastąpił niesamowity rozwój metod obliczeniowych stosowanych w celu rozwoju i optymalizacji leku. Pojawiło się w tym czasie wiele zupełnie nowych pojęć chemometrycznych, a lawinowo rozwijające się możliwości techniczne co raz to nowych generacji sprzętu obliczeniowego powodują wprowadzanie do użycia setek różnych programów, pozwalających na matematyczne przewidywanie właściwości praktycznie dowolnych struktur chemicznych. Sięgając do systematycznie aktualizowanego spisu dostępnych niekomercyjnych programów obliczeniowych do zastosowań w obszarze chemii medycznej doliczyć się można aż 200 oferowanych w ten sposób pozycji zaprezentowanych na stronie sieciowej:

[\[http://www.vls3d.com/index.php/links/chemoinformatics/admet/admet-and-physchem-predictions-and-related-tools\]](http://www.vls3d.com/index.php/links/chemoinformatics/admet/admet-and-physchem-predictions-and-related-tools).

Drugie tyle zapewne będzie do wykorzystania w formie pełnopłatnej. Poruszając się w tym gąszczu możliwości, Doktorant wybrał w oparciu o dotychczasowe doświadczenia Jednostki i Promotora takie narzędzia badawcze, które pozwalają na uzyskanie modelu obliczeniowego w oparciu o możliwie najmniej skomplikowany zestaw deskryptorów molekularnych, służących do porównawczego opisu parametrów molekularnych wysoko skorelowanych z aktywnością przeciwdrobnoustrojową poddawanych analizie cząsteczek. Po zakodowaniu i dokonaniu optymalizacji dwu- oraz trójwymiarowych struktur 266 wcześniej opisanych i przebadanych pod kątem aktywności przeciwdrobnoustrojowej soli bis-imidazoliowych Doktorant przeprowadził badania ilościowych zależności struktura – aktywność stosując w tym celu trzy niezależne sposoby postępowania, wykorzystujące odmienne podejścia do analizowanego problemu. Zastosował On w swoich badaniach metodę regresji LASSO, metodę regresji krokowej oraz metodę regresji cząstkowych najmniejszych kwadratów. Pozwoliło to na dokonanie dogodnej oceny przydatności poszczególnych parametrów predykcyjnych z jednoczesną ewaluacją częstości wskazywania konkretnych deskryptorów strukturalnych jako najoptymalniej dopasowanych do tworzonych równań.

Przed powszechnie stosowanymi metodami QSAR stawia się obecnie dwojakiego rodzaju zadania. Z jednej strony mają one znajdować zastosowanie do oceny parametrów farmakokinetycznych leków, a w przypadku szerzej pojętych metod QSPR do oceny właściwości użytkowych badanych substancji. Z drugiej jednak strony mają służyć do przewidywania, nazywanego także predykcją, owych możliwości użytkowego wykorzystania nowo otrzymywanych, czy wręcz tylko nowo projektowanych substancji, jako materiałów użytkowych w farmacji względnie w innych obszarach ludzkiej gospodarki. Zdaniem oceniającego właśnie ów obszar predykcyjny zastosowań metod obliczeniowych ma szczególne znaczenie, ponieważ pozwala z dużym prawdopodobieństwem ukierunkować prowadzone poszukiwania nowych cząsteczek, eliminując niepotrzebne koszty, szczególnie eksperymentów biologicznych. Działania Doktoranta zmierzają w kierunku właśnie takiego podejścia do realizacji wyznaczonych celów. Zastosowany aparat badawczy umożliwił mu stworzenie, na bazie posiadanych wyników doświadczeń biologicznych, nowych

uogólniających reguł rządzących zależnościami QSAR dla określonej grupy związków chemicznych i zdefiniowanego kierunku ich wykorzystania. Doktorant skupił się w swej pracy na aktywności przeciwdrobnoustrojowej badanych związków, rozpatrując ją w odniesieniu do trzech najbardziej reprezentatywnych szczepów bakterii Gram-dodatnich (*Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus* i *Staphylococcus aureus*), dwóch szczepów bakterii Gram-ujemnych (*Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli*) oraz jednego szczepu grzybów (*Candida albicans*). I jest to niezwykle racjonalne i słuszne podejście, ponieważ tak opracowany model będzie mógł być bez trudu wykorzystany do realizacji podobnych badań w odniesieniu do innych układów chemicznych i biologicznych. Kluczowe w owych metodach, stosowanych m.in. przez Doktoranta, jest wykluczenie rozpatrywania aspektów oddziaływań wysokiego rzędu z wymodelowaną strukturą białkową receptora. Wykorzystanie do predykcji przyszłych zachowań cząsteczki chemicznej, bazy danych obejmującej doświadczalnie stwierdzone jej cechy, prowadzi do uzyskania znacznie wyższej wiarygodności wyniku. Jest on bowiem oparty o przeprowadzony wcześniej eksperyment biologiczny a nie o predykcję jedynie potencjalnych oddziaływań. Ponadto działanie takie staje się w swoim końcowym efekcie, faktycznym i rzeczywistym „przewidywaniem” a nie „dopasowywaniem”. Dla uzyskania właśnie owego efektu „przewidywania” w jak najbardziej pożądanej formie edycyjnej, Autor dysertacji wprowadził do swego warsztatu obliczeniowego szereg metod aparatu matematycznego doskonalących uzyskiwane wyniki pod względem ich możliwości względnie prostego, łatwego i szybkiego wykorzystania oraz potencjału ich praktycznego zastosowania. Świadczy to o doskonałym opanowaniu przez Doktoranta nieczęsto spotykanego w naukach farmaceutycznych niezwykle specyficznego warsztatu charakterystycznego dla nauk matematycznych. Opis zawarty w części pracy zatytułowanej „Wyniki” pokazuje po pierwsze, jaki ogrom pracy doświadczalnej został włożony w przygotowanie ocenianej rozprawy doktorskiej a po drugie dokumentuje powyższą tezę o wyjątkowym przygotowaniu Kandydata do prowadzenia dalszych prac doświadczalnych w obszarze nauk farmaceutycznych z wykorzystaniem złożonego aparatu badawczego nauk matematycznych. W moim odczuciu, kluczowe stwierdzenie zawarte w rozdziale „Dyskusja”, mówiące, że: „Zastosowane w pracy algorytmy RK i PLS, są obecnie jednymi z powszechnie stosowanych metod liniowych w przewidywaniu właściwości fizykochemicznych i aktywności biologicznych związków, na podstawie ich struktur” pozwala postawić tezę, że Doktorant wykorzystując jedno z najlepszych aktualnie dostępnych narzędzi matematycznych opracował model umożliwiający przewidywanie zależności QSAR dla soli bis-imidazoliowych. Sam Autor podsumowuje swoją pracę w postaci 8 rozbudowanych wniosków, które w odczuciu oceniającego dałoby się sformułować w nieco bardziej zwartej formie. Pod względem treści są one natomiast faktyczną kwintesencją całej pracy, która zgodnie z zasadami sztuki przygotowywania tego typu opracowań kończy się streszczeniem w języku polskim oraz angielskim wraz ze spisem wykorzystywanego piśmiennictwa. Kontynuując posiłkowanie się słowami Doktoranta przytoczę jeszcze ostatnie zdanie zawarte w streszczeniu pracy. Mówi ono, że: „Wyniki badań wskazują, że deskryptory obliczane na podstawie dwuwymiarowej struktury chlorków bis-imidazoliowych ... wykazują silną korelację z aktywnością przeciwdrobnoustrojową tej grupy związków”. I to właśnie to

stwierdzenie wywołuje u recenzenta refleksję związaną ze słynnym zdaniem Neila Armstronga „to mały krok dla człowieka ale wielki skok dla ludzkości”. Bowiem ten mały krok poczyniony przez Doktoranta w wybranym przez Niego obszarze badawczym, w sposób niezaprzeczalny przyczynia się do zrobienia wielkiego kroku w dziedzinie metod predykcyjnych znajdujących zastosowanie w każdym obszarze ludzkiej działalności – nie tylko w farmacji

Po tak licznych pochwałach ocenianej pracy powinien przyjść czas na uwagi wskazujące na błędy i uchybienia. Pierwsze z nich, to jak zwykle, błędy tzw. edytorskie. Są one nieuniknione, ale jest ich wyjątkowo niewiele i dużego trudu wymaga ich znalezienie. Natomiast pewien niedosyt oceniającego budzi małe wyeksponowanie możliwości powiązania uzyskanych wyników ze znanym dla tych związków działaniem surfaktantowym. Niewykluczone, że takie próby były robione w ramach innych badań, ale można było w sposób bardziej wyrazisty połączyć uzyskane wyniki z podobnego typu danymi prezentującymi zdolność obniżania napięcia powierzchniowego. Doktorant wprowadzie omawia zagadnienie zmian aktywności powierzchniowej przez te związki, ale nie koreluje ich wyraźnie z aktywnością przeciwdrobnoustrojową. A przecież obniżenie napięcia powierzchniowego śluzu jest jednym z mechanizmów działania przeciwdrobnoustrojowego czwartorzędowych soli amoniowych. Zakładam jednak, że ten kierunek badań nie stanowił przedmiotu pracy i dlatego nie został w niej szerzej rozwinięty.

Mając na uwadze fakt, że w powszechnie spotykanym piśmiennictwie, do badań QSAR zazwyczaj stosowane są innego typu modele obliczeniowe, należy uznać że przedstawiona do oceny praca prezentuje w pełni nowatorskie podejście do ustalania zależności QSAR/QSPR w odniesieniu do soli bis-imidazoliowych. Jest ona osiągnięciem badawczym wskazującym na umiejętność prowadzenia badań na odpowiednim poziomie, przyporządkowanym do VIII stopnia kwalifikacji według europejskich i Krajowych Ram Kwalifikacji, potwierdzającym wymagany stopień samodzielności w prowadzeniu pracy naukowej oraz umiejętność posługiwania się posiadanym warształem badawczym. Efekty badań prowadzonych przez Doktoranta, zebrane w formę opracowania monograficznego prezentują wysoki poziom merytoryczny i stanowią odpowiedni materiał doświadczalny do przygotowania publikacji mogących ubiegać się o przyjęcie do druku w renomowanych czasopismach o wysokim wskaźniku obrazującym ich znaczenie w świecie branżowej informacji naukowej.

Rozprawa doktorska magistra Macieja Karola Karolaka, przygotowana pod kierunkiem Profesora dr hab. Jerzego Krysińskiego, przy współudziale Doktora Łukasza Kubika, w Katedrze Technologii Postaci Leku na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy stanowi w pełni oryginalne rozwiązanie problemu badawczego i spełnia wszystkie wymagania prawne i zwyczajowe stawiane rozprawom doktorskim, zgodnie z przepisami obowiązującymi dla doktoratów, których przewód doktorski otwarto przed wejściem w życie nowego Prawa o Szkolnictwie

Wyższym. W związku z powyższym, przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu wniosek o dopuszczenie pana magistra Macieja Karola Karolaka do kolejnych etapów procedury prowadzącej do nadania stopnia doktora nauk farmaceutycznych.

Jednocześnie wnoszę o rozważenie przez Komisję Doktorską oraz przez Wysoką Radę Wydziału Farmaceutycznego możliwości wyróżnienia tej pracy jako dzieła o wysokich walorach poznawczych, które choć jeszcze nie zostało szeroko upublicznione, ale wykazuje wysoki potencjał publikacyjny, kwalifikujący je do odpowiedniego, w tym zakresie, wykorzystania.

Niezbędny w tym celu wniosek przedkładam jako oddzielny dokument w załączeniu.

Poznań, dnia 17 lipca 2020 r.

Prof. dr hab. n. farm. Lucjusz Zaprutko



Prof. dr hab. n. farm.  
Lucjusz Zaprutko