

Prof. dr hab. Marek L. Główka,  
profesor zwyczajny  
Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej  
Politechniki Łódzkiej

Łódź, 26.08.2015.

### RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ pt.

#### „Zastosowanie metod projektowania podmian bioizosterycznych do analizy sposobu oddziaływania ligandów z receptorem 5-HT<sub>6</sub>”,

wykonanej przez magistra **Jakuba Staronia** w Zakładzie Chemii Leków PAN oraz w Zakładzie Krystalochemii i Krystalografii Wydziału Chemii UJ, pod kierunkiem prof. dr hab. **Andrzeja J. Bojarskiego** oraz prof. dr hab. **Barbary Oleksyn**

**Podstawowe dane.** Mgr Jakub Staroń ukończył studia w 2009 roku na Wydziale Chemii UJ na kierunku Chemia jako jeden z najlepszych studentów Wydziału, o czym świadczą stypendia Rektora UJ za wyniki w nauce w latach 2005-2008 oraz Ministra za osiągnięcia naukowe w roku akademickim 2008/2009. Swoje zainteresowania naukowe, związane z molekularnymi podstawami procesów biologicznych Doktorant realizował już w trakcie studiów poprzez aktywną działalność w studenckim ruchu naukowym i podczas stażu naukowego w Zakładzie Leków Instytutu Farmakologicznego PAN, gdzie zresztą znalazł zatrudnienie po ukończeniu studiów. Swoje „studenckie” osiągnięcia magister Staroń prezentował na kilku konferencjach naukowych. Oprócz tego czynnie włączał się w organizację imprez naukowych (Noc Naukowców, Festiwal Nauki, Kraków-Jena Student Chemistry Workshop) oraz socjalnych (Rajd Chemika, Świąteczna Paczka, międzynarodowa wymiana studencka).

Po ukończeniu studiów mgr Jakub Staroń rozpoczął pracę w Zakładzie Chemii Leków Instytutu Farmakologicznego PAN w Krakowie a w następnym roku również w Zakładzie Biochemii i Fizjologii Roślin na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ. W roku 2011 mgr Staroń rozpoczął interdyscyplinarne studia doktoranckie „Nauki molekularne dla medycyny”, w trakcie których skoncentrował swoje zainteresowania na oddziaływaniu ligandów z receptorami, w szczególności serotoninowymi (pod kierunkiem prof. Andrzeja J. Bojarskiego) i glutaminianergicznymi oraz wykonywał badania związane z drugim miejscem pracy, zajmując się m.in. poszukiwaniem nowych barwników do zastosowania w terapii fotodynamicznej. Jego dotychczasowa działalność naukowa zaowocowała czterema publikacjami oraz kilkoma wystąpieniami, w tym również ustnymi, na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Zwraca uwagę duża aktywność Doktoranta w realizacji projektów badawczych (jako wykonawca) takich jak NorPol, Team, Lider, NatCo, ProKog, ModAll i Opus.

**Rozprawa** liczy 202 strony, nie uwzględniając załącznika na płycie CD z pełnymi danymi liczbowymi, i prezentuje się niezwykle elegancko w formie typowej monografii z bogatą dokumentacją graficzną. Ponad pięćdziesiąt kolorowych rysunków i prawie pięćdziesiąt tabel z wzorami oraz liczbowymi danymi dobrze ilustrują poruszane w rozprawie zagadnienia. Język rozprawy jest żywy i czyta się pracę z przyjemnością. Widać racjonalne ograniczenie w podawaniu niektórych szczegółów eksperymentalnych, zwłaszcza w części syntetycznej.

**Zakres** wykonanych (i opisanych) przez Doktoranta badań jest imponujący. Obejmuje nie tylko teoretyczne modelowanie ligandów dla wybranego receptora (i kilku pokrewnych) z zastosowaniem innowacyjnej kombinacji kilku znanych technik, ale również syntezę wielu ligandów, rentgenograficzne badania strukturalne, dokowanie wymodelowanych ligandów do modeli receptorowych z celną analizą oddziaływań, oraz elementy analizy konformacyjnej i SAR. Wprawdzie syntezy są na ogół niezbyt złożone i czasami mało wydajne, ale przecież ich celem było uzyskanie określonych substancji do sprawdzenia aktywności, ewentualnie otrzymanie monokryształów odpowiednich do badań rentgenograficznych.

Ze względu na nowoczesne podejście do projektowania ligandów i doskonały opis stosowanych procedur oraz całościowe potraktowanie tematu, recenzowana rozprawa stanowi dobry wzór dla tego typu prac, zwłaszcza że zawiera aktualną i szeroką informację bibliograficzną w postaci 158 pozycji z pełnymi tytułami cytowanych prac. Przeważająca część odnośników pochodzi z ostatnich dziesięciu lat, w tym 8 z 2011, 9 z 2012, 4 z 2013 i 3 z 2014 roku.

Podoba mi się również zwarty opis aktualnego stanu wiedzy dotyczącej poruszanych zagadnień, bez nadmiernego rozbudowania tego rozdziału, jak to ma często miejsce w rozprawach doktorskich.

Za najważniejsze osiągnięcie doktoratu uważam zaproponowanie modyfikacji modelu farmakoforowego receptora 5-HT<sub>6</sub>. Wszystkie dotychczas proponowane modele opisujące oddziaływanie tego receptora z ligandami szczególną rolę przypisywały wiązaniom wodorowym grupy sulfonowej lub podobnej o charakterze akceptorowym oraz silnym oddziaływaniami zasadowego atomu azotu (najprawdopodobniej protonowanego w warunkach fizjologicznych), położonego w ściśle określonej pozycji. Na podstawie analizy powinowactwa zaprojektowanych przez siebie ligandów Doktorant wykazał względnie większą rolę pierścieni aromatycznych na oddziaływanie z miejscem wiążącym receptora oraz znaczną tolerancję położenia zasadowego atomu azotu. Co więcej, na podstawie otrzymanych wyników modelowania (dokowania) Doktorant pokazał, że istnieje możliwość zupełnie innego położenia „klasycznych” ligandów w kieszeni wiążącej. Zaproponowane modyfikacje modelu umożliwiają poszerzenie bazy potencjalnych liganów receptora 5-HT<sub>6</sub>.

Ponadto, w recenzowanej rozprawie podoba mi się umiejętne połączenie wielu metod i technik w zakresie racjonalnego projektowania leków oraz uzyskanie pozytywnego rezultatu, czyli wymodelowanie, synteza oraz potwierdzenie powinowactwa kilku zaprojektowanych ligandów badanych receptorów serotoninowych.

W rezultacie można stwierdzić, że rozprawa niesie w sobie ładunek nowości zbliżony do prac habilitacyjnych.

Największą łyżką dziegciu w mojej niezwykle pozytywnej recenzji rozprawy doktorskiej jest zarzut użycia w niej formy bezosobowej. Wiem, że jest to powszechna praktyka a wręcz logiczna konieczność w przypadku oryginalnych publikacji współautorskich. Niemniej w przypadku prac doktorskich taka forma uniemożliwia recenzentowi wyodrębnienie z pracy elementów ewentualnie wykonanych nie przez doktoranta. Nie chodzi mi o to, aby zmuszać doktorantów do wykonywania wszystkie operacje własnoręcznie. Wiadomo, że dostęp do zaawansowanych technik badawczych oraz szeroka współpraca naukowa są niezbędne dla prowadzenia nowoczesnych badań. Jednak rozprawa doktorska ma służyć między innymi pokazaniu, że autor opanował odpowiedni warsztat badawczy i potrafi samodzielnie wykonać badania w danej dziedzinie oraz przeanalizować otrzymane wyniki.

Szczegółowe uwagi krytyczne, które nie zmieniają mojej bardzo pozytywnej opinii o rozprawie, przytaczam poniżej w kolejności ich występowania:

1. str. 37. Pierwsze zdanie rozdziału 2.1 kończy się stwierdzeniem: „... że wobec obecnie przyjętej koncepcji oddziaływania ligand-receptor powstaje bardzo wiele pytań. „ Całkowicie zgadzam się z tym stwierdzeniem, niemniej nigdzie nie znalazłem jasno sprecyzowanych tych pytań, na które miała odpowiedzieć recenzowana rozprawa.
- 2.<sup>b</sup> W recenzowanej rozprawie powinowactwo badanych ligandów wobec wybranych receptorów było określane ilościowo, co jest jak najbardziej poprawne, poprzez podanie wartości stałej powinowactwa i wynikającego z niej stężenia, natomiast w tekście wszystkie te pojęcia były często traktowane tożsamo, co jest niestety złą praktyką, np. na str. 48 6wg: „... charakteryzowały się silnym powinowactwem do receptora 5-HT6 (przeważnie poniżej  $10\text{ nM}$ ), ...”. Natomiast nie do przyjęcia jest zupełne pomijanie stężeń, jak to jest np. w Posumowaniu (Rozdział 3.6, str. 63).
3. Opis badań krystalograficznych i związaną z tym dyskusję znacznie utrudniał brak zastosowanego przez Doktoranta systemu numerowania atomów na niektórych rysunkach obrazujących struktury molekularne w Rozdziale 7.6. Ten brak najbardziej dawał się we znaki podczas analizy parametrów geometrycznych, zestawionych w Tabelach 3.11 – 3.13 (str. 60-62).
4. Str. 51 13wg: („... cząsteczka jest obrócona o  $180^\circ$  ..”). Sądząc z Tabeli 3.4 (bardziej przypominającej rysunek), jest to obrót zbliżony raczej do  $90^\circ$ .
5. Str. 77 – Rozdział 5.1. W pierwszym zdaniu rozdziału wspomniana jest hipoteza, w oparciu o którą zaprojektowano podmiiany bioizosteryczne. Z treści nie wynika autorstwo tej hipotezy więc (może niesłusznie) założyłem autorstwo zespołu promotorów i doktoranta. Jeśli nie, warto by przytoczyć źródło.
6. W opisach zastosowanych syntez (str. 126 -158) często występuje zaniedbywanie dużej litery w nazwie związku na początku zdania, w przypadku gdy nazwa zaczyna się od cyfr, stosowanych dla oznaczenia pozycji podstawników, np. „4-aminoindol (1g, 0,0076 mol) rozpuszczono ...”, zamiast „4-Aminoindol .... itd.” (str. 128).
7. Kilka uwag i wątpliwości dotyczy wartości podanych w Tabelach 7.2 do 7.6 (str. 160 – 164), które potraktuję łącznie. I tak:
  - 1 - Atomy chloru we wzorze sumarycznym winny być wymienione po atomach wodoru.
  - 2 - W symbolu grup przestrzennych dla kilku kryształów podane są elementy symetrii dla wszystkich kierunków krystalograficznych, nawet gdy go w rzeczywistości nie ma (jest oś jednokrotna czyli tożsamość), np. P 1 21/n 1. Mógłbym to uznać za dopuszczalne, gdyby ten system był zastosowany dla wszystkich zbadanych kryształów.
  - 3 – Dla związku (kryształu) nr 59 obliczona gęstość jest za duża i podejrzenie równa liczbowo liniowemu współczynnikowi absorpcji.

4 - Podejrzenie wygląda ogromna różnica w liczbie zebranych refleksów dla „związków” 71 i 72, mimo podobieństwa sposobu zbierania danych dyfrakcyjnych i samych kryształów, tej samej grupy przestrzennej oraz zbliżonych zakresów mierzonych kątów odbłyску, wzorów sumarycznych i rozmiarów komórek elementarnych.

5 – Brakuje wyjaśnienia niecałkowitej liczby atomów azotu (2,67) we wzorze sumarycznym (?) oraz liczba  $Z=9$  w przypadku układu jednoskośnego (kryształ 81).

8. Niezbyt precyzyjne jest słowo związek w podpisach pod Rysunkami 7.2 do 7.15 (str. 165 – 178). Rysunki przedstawiają „Jednostki asymetryczne” w odpowiednich kryształach, które nie zawsze odpowiadają wzorowi odpowiedniego związku. Mamy tu do czynienia zarówno z solami jak i wolnymi zasadami, a w zbadanych kryształach, zwłaszcza soli, występuje woda. Tak więc lepiej używać określeń precyzujących również postać związku. Można ewentualnie w takim przypadku dopuścić kreślenia związek 23, sól 23 i kryształ 23.

9. Nawet w erracie wkrały się niewielkie błędy edytorskie. W ostatnim wierszu winna być str. 162 a nie 161 a odpowiednia poprawka dotyczy kolumny trzeciej a nie czwartej.

Podsumowując stwierdzam, że niedociągnięcia rozprawy (często nie dotyczące samej pracy doktorskiej w sensie wykonanych eksperymentów, analizy wyników czy wniosków) są zdecydowanie niewielkie w stosunku do osiągnięć.

W rezultacie nie mam wątpliwości, że recenzowana rozprawa doktorska magistra Jakuba Staronia **spełnia z naddatkiem warunki określone w artykule 13 ustawy z 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., nr 65 poz 595 z późn. zm.), wobec czego wnioskuję o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Ze względu na oryginalność metodyki, wysoki poziom naukowy wykonanych badań i dyskusji oraz ogólnie wysoką jakość recenzowanej rozprawy **wnoszę o jej wyróżnienie.**

