



Politechnika Wroclawska

Wroclaw, 11.05.2017

Dr hab. Łukasz Berlicki
Zakład Chemii Bioorganicznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Wroclawska
Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wroclaw
lukasz.berlicki@pwr.edu.pl

Recenzja pracy doktorskiej mgr. Marcina Tomali, pt.: "Design and synthesis of inhibitors of the MDMX/p53 and USP2a/Ub interactions"

Pan mgr Marcin Tomala zrealizował pracę doktorską pod kierunkiem prof. dr Tadeusza Holaka, która dotyczyła projektowania i syntezy inhibitorów oddziaływań MDMX/p53 oraz USP2/Ub. Tematyka badań Doktoranta jest zbieżna z trendem poszukiwania nowych niskocząsteczkowych inhibitorów oddziaływań białko-białko o potencjalnym znaczeniu przeciwnowotworowym.

Problemy badawcze podjęte przez Doktoranta są ciekawymi zagadnieniami z punktu widzenia nauki a jednocześnie mogą przyczynić się do wprowadzenia nowych substancji do praktyki klinicznej. Należy także podkreślić, że są to zadania bardzo ambitne. Poszukiwania inhibitorów oddziaływania MDMX-p53 trwają już szereg lat i przyniosły wiele aktywnych struktur. Kilka z opracowanych związków znajduje się w fazie badań klinicznych. Natomiast wiedza na temat inhibitorów oddziaływania USP2a-Ub jest znacznie mniejsza i poszukiwania związków aktywnych względem tego układu można uznać za pionierskie.

Praca doktorska mgr Marcina Tomali jest napisana w języku angielskim i liczy 110 stron. Ma układ klasyczny zawierając wstęp, wyniki, podsumowanie, część eksperymentalną i referencje literaturowe. Dodatkowo załączono streszczenie w języku polskim i angielskim. Nie ma wyodrębnionego rozdziału opisującego cel pracy, ale jest on zdefiniowany w streszczeniu. Tekst został zilustrowany wieloma rysunkami, schematami i tabelami.

Wstęp pracy jest zadziwiająco krótki (4.5 strony) i zawiera jedynie bardzo ogólne informacje dotyczące rozwoju nowotworów. W szczególności, opisano skrótowo rolę białek ubikwitynujących w cyklu komórkowym. We wstępie zacytowano jedynie 6 artykułów. W opinii Recenzenta, wstęp nie zawiera niezbędnego przeglądu literaturowego dotyczącego podjętego temat. Nie zostały opisane żadne znane inhibitory badanych oddziaływań białko-białko, które w przypadku MDMX-p53 były przecież szeroko badane przez ostatnie lata. Bardzo proszę o uzupełnienie tego braku w czasie obrony rozprawy doktorskiej.

Rozdział dotyczący wyników (i ich dyskusji) liczy 50 stron i jest podzielony na podrozdziały opisujące projektowanie i syntezę różnych grup związków. W pierwszej części Doktorant opisuje badania dotyczące struktur o potencjalnej aktywności względem układu MDMX/p53. Związki te stanowią połączenie kwasu litocholowego i trójpodstawionych imidazoli. Wybrane struktury zostały zadokowane do białka MDMX a następnie otrzymane w wyniku wieloetapowej syntezy. Ostatecznie otrzymano 2 stosunkowo rozbudowane koniugaty (związki K i K2), które jednakże nie oddziaływały z celem molekularnym. Warto zastanowić się nad przyczynami tej porażki. Które z założeń przyjętych przy projektowaniu omawianych struktur były błędne?

W drugiej części rozdziału 'Wyniki' Doktorant opisuje swoje poszukiwania inhibitorów białka USP2a. Początkowo Doktorant otrzymał 8 prostych pochodnych kwasu litocholowego, z pośród których 5 związków okazało się aktywnych w podobnym zakresie jak związek wyjściowy. Następnie, zaprojektowano i zsyntezowano szereg prostych pochodnych peptydowych. Otrzymane związki nie wykazują jednakże znaczącej inhibicji badanego białka. W tym przypadku także warto przeanalizować możliwe przyczyny takiego wyniku eksperymentu. Czy otrzymane sekwencje były zbyt krótkie, czy raczej źle dobrano podstawniki?

Najciekawsze wyniki dotyczące inhibicji USP2a przynosi rozdział opisujący pochodne związku STD1. Otrzymano i przebadano dużą grupę jego pochodnych odnajdując związek STDT o aktywności w niskim zakresie mikromolarnym.

Ogólne uwagi krytyczne dotyczące rozdziału 'Wyniki':

1. Głównym zadaniem Doktoranta była synteza nowych związków. Jednakże w części 'Wyniki' nie ma narysowanej żadnej reakcji syntezy. Doktorant szczegółowo opisuje analizę retrosyntetyczną i różne możliwości syntezy, ale prawidłowa ścieżka syntetyczna prowadząca do właściwej pochodnej nie jest ujęta na schematach, co znacząco utrudnia zrozumienie toku postępowania. Reakcje są przedstawione w części eksperymentalnej, ale to poprawia sytuację tylko w niewielkim stopniu. Warto także zauważyć, że reakcja syntezy związku K2 jest niepoprawna.
2. W przypadku opisywania przez Doktoranta wyników dokowania związków do białek, wielokrotnie padają kategoriyczne stwierdzenia, że dany związek oddziałuje z pewnymi resztami białka. Należy pamiętać, że w wyniku dokowania otrzymujemy jedynie model, który może być poprawny bądź nie. W szczególności takie omówienie wyników jest rażące dla związków, dla których stwierdzono brak aktywności inhibitorowej.
3. Nie jest jasno określone, czy wszystkie otrzymane związki są nowe. Dla znanych związków powinny być dodane odpowiednie odnośniki do literatury.
4. Literowy sposób oznaczania kolejnych pochodnych nie jest zgodny z zwyczajową konwencją stosowaną w pracach z chemii organicznej/medycznej, gdzie związki określa się kolejnymi liczbami. Dodatkowo, taka notacja (w wielu miejscach wyglądająca na przypadkową) często utrudnia zrozumienie przedstawionych wywodów.
5. Nie jest jasne, co oznacza stwierdzenie, że związek STDTM może tworzyć 'sulfur bridge'.

Ostatni fragment pracy — część eksperymentalna zawiera krótki opis procedur dokowania oraz informacje eksperymentalne dotyczące syntez nowych związków. Procedury syntetyczne i charakterystyka spektroskopowa nowych związków zostały opisane bardzo dokładnie.

Należy zaznaczyć, że powyższe krytyczne uwagi nie zmniejszają mojej bardzo dobrej oceny pracy doktorskiej mgr. Marcina Tomali. Stwierdzam, że opisany materiał jest bardzo wartościowy. Należy podkreślić duży nakład pracy eksperymentalnej Doktoranta. Otrzymał on szereg różnorodnych związków chemicznych, z których wiele wykazywało się znaczącym stopniem skomplikowania.

Podsumowując, stwierdzam z całym przekonaniem, że recenzowana rozprawa doktorska mgr. Marcina Tomali spełnia ustawowe i zwyczajowe wymagania stawiane pracom doktorskim. W

związku z powyższym wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pana mgr. Marcina Tomali do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

J. Białoch.