

**Dr hab. inż. Maciej Bagiński, prof. nadzw. PG**

Katedra Technologii Leków i Biochemii

Wydział Chemiczny

Politechnika Gdańska

Ul. Narutowicza 11/12

80-233 Gdańsk, Polska

Tel.: (58) 347 15 96

Fax: (+48) (58) 347 11 44

e-mail: maciekb@hypnos.chem.pg.gda.pl



**POLITECHNIKA  
GDAŃSKA**

---

Gdańsk, 6.11.2015

**Recenzja pracy doktorskiej  
Mgr inż. Mariusza Belki**

Pt.:

**Chemometrycznie wspomagana, oparta na badaniach metabolicznych,  
strategia projektowania nowych leków**

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska stanowi przedstawienie, omówienie i dyskusję wyników badań prowadzonych przez mgr inż. Mariusza Belkę pod kierunkiem Prof. dr hab. Tomasza Bączka w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Katedra ta i zespół Prof. Bączka od lat zajmuje się chemią i analityką leków (w tym ich metabolizmem), a w ostatnim czasie w tematyce tej stosuje podejścia modelowania molekularnego i metody chemometryczne. Celem nadrzędnym pracy było opracowanie modeli matematycznych opartych na technikach chemometrycznych i statystycznych, które pomogą podejmować decyzje przy projektowaniu i wyborze aktywnych cząstek, posiadających pożądane właściwości chemoterapeutyczne, do dalszych etapów badań w procesie opracowywania nowych leków. Opracowanie i zastosowanie tych metod zostało w pracy przedstawione w odniesieniu do dwóch grup związków. Są nimi pochodne benzenosulfonamidu wykazujące działanie przeciwnowotworowe, oraz analogi arylopiperazyny o przypuszczalnej działalności przeciwdepresyjnej i przeciwłękowej. Generalnie przedstawione podejście obejmowało badanie zależności pomiędzy strukturą tych związków, a ich aktywnością czy też właściwościami metabolicznymi.

Prowadzone przez Doktoranta badania mieszczą się w szeroko pojętym obszarze badań z jednej strony podstawowych (opracowanie metod) a z drugiej aplikacyjnych (zastosowanie do konkretnych grup związków) tak zwanej ang. "medicinal chemistry". Koszty wprowadzenia nowych leków rosną, a czas tego procesu nadal pozostaje długi (10-15 lat). Z tego powodu liczba rejestrowanych nowych innowacyjnych leków w danym roku na świecie nie jest zadawalająca i adekwatna do potrzeb społecznych. Odnotowuje się też wiele przypadków wycofywania kandydatów na leki z różnych faz badań klinicznych co przyczynia się sumarycznie do wzrostu kosztów wprowadzenia nowego innowacyjnego leku. Te koszty

obecne przekraczają nawet 1 mld USD. Przyczyną tych niepowodzeń jest najczęściej zbyt duża toksyczność, czy też niezadawalające parametry farmakokinetyczne i/lub farmakodynamiczne. Niekorzystne właściwości chemoterapeutyczne kandydatów na leki, często są trudne do przewidzenia na wczesnych etapach procesu opracowywania nowych leków. Taki stan rzeczy, zmienia się jednak we współczesnej szeroko pojętej nauce o leku (medicinal chemistry). Powodem tego jest m.in. korzystanie z różnorodnych metod *in silico* wspomagających proces projektowania nowych cząsteczek i selekcji tych związków do dalszych etapów badań. Z tego punktu widzenia można powiedzieć, że przedstawiana praca mieści się w stosunkowo nowym głównym trendzie ang. "medicinal chemistry" - określanym jako komputerowo wspomaganie projektowanie czy też opracowywanie nowych leków.

Na szczególne podkreślenie zasługuje element nowości naukowej zaprezentowany w pracy. Otóż autor w ramach opracowywania nowych procedur m.in. zaproponował trzy interdyscyplinarne procedury badawcze których celem jest wykorzystanie wielowymiarowych zestawów danych biologicznych i deskryptorów molekularnych do opisu zjawiska izomeryzacji i aktywności biologicznej danej grupy związków. Drugim elementem nowości naukowej było opracowanie nowego podejścia metodycznego opisującego korelację pomiędzy stabilnością metaboliczną a strukturą związku. Opracowany model pozwala numerycznie identyfikować elementy struktury chemicznej odpowiedzialne za małą/dużą stabilność metaboliczną.

#### **Układ pracy:**

Praca ma prawie klasyczny układ stosowany w tego typu pracach doktorskich i zawiera na początku spis dorobku autora, następnie streszczenie, po którym umieszczony jest wstęp teoretyczny. Po wstępie przedstawiony jest cel i założenia pracy. Dalej autor przedstawia rozdział metodyczny i rozdział zawierający wyniki i ich dyskusję. Ostatni rozdział zawiera podsumowanie wyników i wnioski. Na końcu praca zawiera spis rycin i tabel oraz spis literatury. Przegląd literaturowy obejmuje 103 pozycje, z których większość, ze względu na tematykę pracy pochodzi z ostatniej dekady.

Na pozytywne odnotowanie zasługuje część teoretyczna, która stanowi w przystępny sposób przedstawione wprowadzenie do tematyki badawczej pracy jak też opis grup związków badanych przez autora. Rozdział metodyczny również zasługuje na pochwałę, ze względu na kompaktowe przedstawienie wszystkich aspektów technicznych. Założenia i cel pracy zostały przedstawione bardzo przejrzyście, co również warto jest podkreślić. Ta część pracy pozwala też przygotować czytelnika do zrozumienia zagadnień przedstawianych w części wynikowej. Warto tu też podkreślić, iż ze względu na to, że tematyka pracy doktorskiej była nowa dla Doktoranta (nie była to kontynuacja pracy dyplomowej) wykonał On poważny wysiłek w przygotowanie szeroko rozumianej części teoretycznej. W całej pracy znajduje się też bardzo wiele odniesień do bieżącej literatury co wskazuje na obszerną wiedzę Doktoranta w obszarze prowadzonych badań. Przegląd literaturowy i analiza danych w dziedzinie objętej badaniami jest wnikliwa i związana z poszczególnymi zagadnieniami podejmowanymi w pracy doktorskiej. Warto też pozytywnie odnotować pomysł Doktoranta aby w pracy umieścić spis projektów grantowych, z których były finansowane badania prowadzone w ramach pracy.

#### **Uwagi i komentarze ogólne:**

Na początku warto zaznaczyć, że praca jest wyjątkowo dobrze napisana od strony narracyjnej i edytorskiej. Bardzo to ułatwia czytanie i podążanie za poszczególnymi elementami pracy. Praca zawiera z jednej strony aspekty teoretyczne obejmujące opracowanie nowych modeli chemometrycznych, a z drugiej aspekty eksperymentalne. W tym drugim obszarze wyznaczane są parametry lipofilowości oraz badane są produkty biotransformacji pochodnych

benzenosulfonamidów i analogów piperazyny. Uzyskiwane dane eksperymentalne, zarówno te pochodzące z badań własnych Doktoranta, jak też te będące danymi wejściowymi odnośnie aktywności związków ( $GI_{50}$  - amerykański program DTP prowadzony przez agencje NCI i NIH) wykorzystywane były do opracowania modeli teoretycznych. Dodatkowo Doktorant stosował metody modelowania molekularnego w celu opracowania zestawu deskryptorów molekularnych potrzebnych do stworzenia teoretycznych modeli chemometrycznych (PCA, QSAR i QSRR). Praca zatem ma charakter multidyscyplinarny, co niejako zwiększa wymagania w stosunku do autora i poszerza jego obszar działania. Mimo, że praca jest multidyscyplinarna to w tym obszarze badawczym jest to swego rodzaju klasyczne podejście, które sprowadza się do tego, że na wejściu mamy dane eksperymentalne dla pewnej grupy związków. Na podstawie tych danych eksperymentalnych wspomaganych danymi teoretycznymi (deskryptory molekularne) opracowuje się modele teoretyczne, które testuje się i stara zastosować w celach predykcyjnych dla polepszenia właściwości chemoterapeutycznych nowych związków z danej grupy. Sukces takiego podejścia zależy od grupy związków, jakości opracowanego modelu i siły jego predykcji. W przypadku przedstawionej pracy myślę, że jest to dobry projekt naukowy, który zakończył się sukcesem. Zarówno część eksperymentalna (metody chromatograficzne) polegająca głównie na wyznaczeniu parametrów liofilowości czy też badaniu stabilności badanych związków (biotransformacja *in vitro* z rozdziałem chromatograficznym) jak też dobór i opracowywanie chemometrycznych modeli teoretycznych był bardzo trafne. Biorąc pod uwagę realizację celu pracy to właściwie ten cel został osiągnięty. Opracowano nowe modele o znacznej sile predykcyjnej. Do tego aspektu pracy i takiego przedstawienia wyników nie mam jako recenzent zastrzeżeń, a o dobrej jakości takiego podejścia świadczy opublikowanie części wyników pracy doktorskiej w prestiżowych czasopismach.

Z obowiązku recenzenta jednak chciałbym zwrócić uwagę, że czasami czytając pracę nie w pełni byłem usatysfakcjonowany, gdyż tekst nie zawierał wystarczającego opisu lub zawierał taki, który nie był w pełni zrozumiały. Stąd też poniżej przedstawiam szereg uwag mniej lub bardziej szczegółowych wymagających komentarza.

#### **Uwagi i komentarze szczegółowe:**

1. Część teoretyczna jest spójna i dobrze dostosowana do pracy, ale w sumie nie zawiera przedstawienia szerszej perspektywy opracowywania nowych leków w oparciu o metody *in silico*. Modele chemometryczne nie są bowiem jedynymi modelami teoretycznymi stosowanymi w podejściach *in silico* opracowywania nowych leków. W przypadkach gdy znany jest cel molekularny, a zwłaszcza jego struktura stosowane są podejścia m.in. ang. structure-based drug design. Autor zajmował się pochodnymi benzenosulfonamidów w aspekcie ich aktywności przeciwnowotworowej. Wspomina również, że ten mechanizm działania przeciwnowotworowego opiera się m.in. na hamowaniu izoenzymu anhidrazy węglanowej, czy też na inhibicji kinazy tyrozynowej. Doktorant jednak nie podaje w pracy czy znane są struktury molekularne tych enzymów i czy były opracowywane inne modele teoretyczne w projektowaniu nowych inhibitorów tych enzymów (zarówno modele chemometryczne jak też np. podejścia *de novo* projektowania leków w oparciu o znaną strukturę i procesy dokowania).

2. Doktorant korzystał w pracy z programów do modelowania molekularnego (HyperChem - mechanika molekularna i obliczenia półempiryczną metodą chemii kwantowej AM1) w celu ustalenia struktury badanych związków i następnie obliczenia/wyznaczenia deskryptorów molekularnych w programie Dragon. W części metodycznej jednak niewiele wspomina On jak te struktury były przygotowane. W szczególności, ponieważ niektóre z deskryptorów molekularnych mogą zależeć od konformacji cząsteczki nie ma informacji, czy różne

konformacje były rozważane i czy wogóle znane są struktury badanych związków wyznaczone eksperymentalnie? Porównanie struktur eksperymentalnych i obliczonych przez Autora byłoby wartościowe.

3. Autor w celu stworzenia modeli chemometrycznych korzystał z wielu obliczonych teoretycznie deskryptorów molekularnych dla danych związków. M.in. na stronie 69 podaje, że wykorzystywał takie parametry jak energię jąder atomowych cząsteczki, energię elektronów cząsteczki czy też energię całkowitą. Z jednej strony chciałbym zapytać o jakie energie właściwie chodzi? Czy są to energie pochodzące z obliczeń AM1? A z drugiej strony chciałbym zapytać dlaczego Doktorant wziął takie w sumie makroskopowe wielkości raczej rosnące z wielkością cząsteczki pod uwagę? Czy tego typu deskryptory są w stanie polepszyć model teoretyczny? Czy można spodziewać się, że istnieje jakaś korelacja pomiędzy tymi wielkościami, a aktywnością np. przeciwnowotworową badanych związków?

4. Czytając rozdziały przedstawiające wyniki i wnioski końcowe nie do końca wiadomo, czy opracowane modele chemometryczne i uzyskane wyniki donośnie stabilności metabolicznej badanych związków mają szansę czy też są takie palny aby wykorzystać je w praktyce do opracowywania nowych pochodnych w obu badanych grupach związków.

#### **Uwagi edytorskie:**

1. Praca nie zawiera spisu i rozwinięcia skrótów, często angielskojęzycznych, ani na osobnej stronie ani w tekście tam gdzie pierwszy raz się pojawiają. Utrudnia to czasami czytanie tekstu.

2. W opisie powyżej Tabeli 22 na str. 72 jest chyba błąd w zdaniu: „Najwyższe wartości współrzędnych czynnikowych zmiennych dla PC2 otrzymano dla deskryptorów E\_HOMO, E\_LUMO oraz HE.” Ten opis powinien dotyczyć składowych PC3 a nie PC2.

3. Autor nie do końca konsekwentnie stosuje graficzny podział grup związków na rysunkach. Np. na wielu rysunkach używa jedynie koloru zaznaczając klasterzy związków (rycina 10, 11 czy 14) elipsami, a w innym miejscu dodatkowo poza kolorem używa symboli, których legenda znajduje się na rysunku (np. rycina 13).

#### **Podsumowanie:**

Pomimo moich pewnych uwag krytycznych przedstawionych powyżej, z których część ma jedynie charakter dyskusji naukowej lub uwag korekcyjnych, wysoko oceniam przedstawioną mi do recenzji pracę Pana mgr inż. Mariusza Belki pt.: „Chemometrycznie wspomaganą, opartą na badaniach metabolicznych, strategią projektowania nowych leków”. Zwłaszcza ciekawa tematyka jak też i wyszukany aparat metodyczny użyty do stworzenia modeli chemometrycznych zasługuje na uznanie. Sama też praca stanowi dokumentację oryginalnych badań prowadzonych przez Doktoranta, o wysokich walorach naukowych. Wyniki tych badań w części zostały opublikowane w prestiżowych czasopiśmie i z tych powyższych względów wnioskuję o wyróżnienie pracy. Stworzone modele i podejścia metodyczne pokazują ich siłę predykcyjną i jednocześnie są uniwersalne. Podobne podejścia można bowiem zastosować dla innych grup związków.

Moim zdaniem praca doktorska Pana Mariusz Belki wyróżniająco spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim w Art. 13 Ustawy o tytule i stopniach naukowych. Praca wskazuje także, że Doktorant posiada dużą wiedzę teoretyczną (metody chemometryczne) i praktyczną (metody chromatograficzne) w dziedzinie chemii leków (Medicinal chemistry) oraz wykazuje dojrzałość naukową w krytycznym analizowaniu wyników. W toku realizacji

pracy wykazała On również umiejętność samodzielnego prowadzenia złożonych badań eksperymentalnych i analizy wyników. Z podanych wyżej względów wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pana mgr inż. Mariusza Belkę do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Mariusz Bajda