



Warszawa, dnia 12.03.2020

Recenzja pracy doktorskiej mgra Jakuba Jończyka pod tytułem „Projektowanie metodami modelowania molekularnego wielofunkcyjnych związków o potencjalnym zastosowaniu w terapii choroby Alzheimera”, wykonanej na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, w Zakładzie Fizykochemicznej Analizy Leku.

Modelowanie molekularne to coraz popularniejsza metoda używana w badaniach nad złożonymi układami biologicznymi, których celem jest zaprojektowanie i/lub znalezienie nowych związków chemicznych oddziałujących z tymi układami. Zwykle celem takich poszukiwań jest zahamowanie aktywności biologicznej białek, które mają niepożądane działanie i mogą prowadzić do różnego rodzaju schorzeń. Taki jest również cel tej pracy, w której mgr Jakub Jończyk podejmuje się ambitnego zadania zaprojektowania i znalezienia nowych wielofunkcyjnych ligandów mających potencjalne zastosowanie w terapii choroby Alzheimera.

Rozprawa doktorska mgra Jończyka składa się ze streszczenia w języku polskim oraz angielskim, listy publikacji, pięciu rozdziałów przedstawiających wprowadzenie do tematu oraz oryginalnych badań i liczy łącznie 48 stron. Zawiera również bibliografię oraz załączone teksty siedmiu publikacji i jednego posteru, których mgr Jończyk jest autorem lub współautorem.

Rozdział pierwszy stanowi krótkie, ale treściwe wprowadzenie do tematu pracy doktorskiej. Autor na 12 stronach przedstawia krótki opis choroby Alzheimera i jej etiopatogenezę, a następnie płynnie przechodzi do opisu teorii ligandów wielocelowych w kontekście badań na tą właśnie chorobą. Na dalszych stronach przedstawia opis metod komputerowych stosowanych do projektowania takich ligandów oraz daje przykłady znanych ligandów o takim działaniu – wszystko to w kontekście choroby Alzheimera i działania na kilka wybranych białek/receptorów. Rozdział ten, pomimo małej objętości, daje dobry wgląd w złożony problem poszukiwania nowych terapii na chorobę Alzheimera. Oczywiście z powodu „popularności” tego tematu nie jest możliwe zamieszczenie odnośników do choćby małego procenta wszystkich badań na ten temat, jednak optymalnym rozwiązaniem byłoby zamieszczenie dodatkowo odnośników do najnowszych prac przeglądowych w tym temacie. Bibliografia do ścisłego tematu szukania ligandów wielocelowych działających na te białka/receptory, którymi zajmuje się autor w pracy doktorskiej jest jednak dobrana bardzo dobrze i nie pomija żadnych istotnych publikacji naukowych.

Rozdział drugi to 2-stronicowe przedstawienie założeń i celów pracy. Autor skupił się w swojej pracy na projektowaniu i optymalizacji metodami obliczeniowymi ligandów mających dwójakie działania – jako inhibitory beta-sekretazy BACE-1 oraz receptora histaminowego H3.

W rozdziale 3 autor przedstawił pierwsze wyniki swojej pracy, czyli projektowanie nowych inhibitorów cholinoesteraz or beta-sekretazy BACE-1 na podstawie znanych inhibitorów acetylcholinoesteraz (AChE) i butyrylocholinoesteraz (BuChE), otrzymanych wcześniej w zakładzie, w którym wykonywał swoją pracę doktorską. Na 17 stronach autor przedstawia krok po kroku etapy projektowania czterech serii nowych związków chemicznych o potencjalnym działaniu na BACE-1. W publikacji II i tej części dysertacji autor przedstawia walidację parametrów do dokowania molekularnego do modelu BACE-1, opartego na strukturze krystalograficznej tego białka z jednym ze znanych inhibitorów. Wyniki tej części pracy są opisane bardzo dobrze, choć odnoszenie się do schematów zamieszczonych kilka stron dalej (np. na stronie 16 jest odnośnik do Rysunków 6, 9 oraz 12 znajdujących się wiele stron dalej) wymusza ciągle zonglowanie stronami i nie ułatwia czytania. Na kolejnych stronach autor przedstawia wyniki dla kolejnych serii związków chemicznych, które zostały następnie zsyntetyzowane i zbadane eksperymentalnie pod kątem hamowania aktywności BACE-1, AChE oraz BuChE. Przedstawiono również proponowane tryby wiązania najbardziej aktywnych eksperymentalnie pochodnych.

Zsyntetyzowane związki 1-wszej i 2-giej tury miały stosunkowo niską aktywność. Dlatego podczas projektowania trzeciej tury związków zastąpiono fragmenty, które nie tworzyły według modeli teoretycznych silnych oddziaływań z miejscem aktywnym BACE-1 innymi fragmentami molekularnymi, które znacznie podwyższyły aktywność nowej serii związków. Wyniki te były punktem wyjściowym do kolejnej optymalizacji ich struktur i zaproponowania kolejnej, ostatniej już serii ligandów wielocelowych, która w pierwszych testach biologicznych dała bardzo dobre rezultaty.

Podsumowując tę część pracy, autor dysertacji osiągnął założone we wstępie cele, przeprowadzając szczegółowe badania zależności aktywności od struktury dla czterech nowych serii ligandów wielocelowych, z których część wykazała wysokie aktywności względem celów molekularnych.

W rozdziale 4-tym mgr Jończyk przedstawił poszukiwania nowych ligandów wiążących się do i hamujących działanie receptora H3 histaminowego. W odróżnieniu od poprzedniej części pracy struktura tego receptora nie jest znana, dlatego na wstępie tej części projektu zbudowano model homologiczny ludzkiego receptora H3 histaminowego. Model ten przygotowano na podstawie receptorów M3 oraz H1, które należą do tej samej klasy receptorów GPCR oraz wykazują stosunkowo wysokie podobieństwo sekwencyjne. W celu walidacji modelu przeprowadzono bardzo szczegółowe i wieloetapowe obliczenia stosując różne algorytmy oraz dokowania dużej ilości znanych antagonistów i odwrotnych agonistów. Wyniki te są bardzo szczegółowo opisane w publikacji VI, a otrzymany model jest również szczegółowo porównany do innych dostępnych modeli tego receptora. Podobnie jak w przypadku innych modeli opisanych w literaturze, z powodu braku struktury krystalograficznej, możliwa jest

jedynie częściowa walidacja. Jednak ostateczny model receptora H3 jest przekonujący. Z drugiej strony szkoda, że opiera się on wyłącznie na dość prostych modelach homologicznych, które nie pozwalają na duże zmiany konformacyjne (np. większe rotacje całych helis) w odniesieniu od struktur homologicznych, jak to jest np. w cytowanej pracy Kim et al.

W tym samym rozdziale autor opisał analizę 50 związków pod kątem ich aktywności na receptor H3 oraz AChE i BuChE. Niestety jest to najłabsza (choć ciągle bardzo dobra) część pracy, ponieważ autor nie wyjaśnia dokładnie na podstawie jakich przesłanek wybrano te związki. Wyniki nie zostały jednak przedstawione (choćby dla najlepszych związków) w formie tabeli tak jak w poprzednich rozdziałach. Abstrahując od tego problemu, uzyskane wyniki są bardzo ciekawe i pokazują dość wysoki potencjał badanych związków, które mogą zostać poddane dalszej optymalizacji. Wyniki tej części pracy również pozwalają na stwierdzenie, że cel znalezienia wielocelowych ligandów oddziałujących z receptorem H3 oraz białkami AChE i BuChE został osiągnięty, pomimo dość wstępnych wyników dla tej części pracy doktorskiej.

Podsumowanie pracy jest krótkie, ale treściwe i dobrze rekapituje całą pracę. Bibliografia jest przygotowana prawidłowo nie licząc drobnych literówek (np. w pozycji numer 1). Zamieszczenie wszystkich cytowanych publikacji autora bardzo ułatwia czytanie całej dysertacji; niestety dołączony plakat jest tak zmniejszony, że nie pozwala na odczytanie większości danych na nim zawartych, przynajmniej w formie drukowanej pracy.

Sam układ prac jest bardzo przejrzysty, napisany poprawnym i łatwym do zrozumienia językiem. Uzyskane wyniki są przedstawione w sposób przekonujący i stanowią znaczący wkład w badania, których celem jest znalezienie nowych związków o potencjalnym działaniu na białka, które mają istotne znaczenie w chorobie Alzheimera. Jedynym moim zastrzeżeniem co do prezentacji wyników w pracy doktorskiej jest brak porównania (w rozdziałach 3 i 4) wartości IC_{50} badanych związków z najlepszymi związkami z literatury światowej działającymi na te same białka.

Podsumowując, rozprawa doktorska mgra Jakuba Jończyka to zwieńczenie kilku lat znakomitej pracy badawczej, która zaowocowała bardzo ciekawymi wynikami, mającymi znaczny wkład w badania naukowe na poziomie światowym. Biorąc pod uwagę całość pracy doktorskiej stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca spełnia wymagania ustawowe i zasługuje na wyróżnienie oraz wnoszę o dopuszczenie mgra Jakuba Jończyka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. Bartosz Trzaskowski