



Dr hab. Bartosz Trzaskowski
Laboratorium Symulacji Systemów Chemicznych i Biologicznych
Centrum Nowych Technologii
Uniwersytet Warszawski
Banacha 2c
02-097 Warszawa

Warszawa, dnia 02.11.2021

Ocena wniosku habilitacyjnego „Symulacje oddziaływań małych cząsteczek z celami molekularnymi oraz analiza lekopodobieństwa: od substancji o potencjale terapeutycznym do wdrukowanych polimerów” oraz osiągnięć naukowych dr n. farm. Teresy Iwony Żolek w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Pani dr n. farm. Teresa Iwona Żolek jest absolwentką Wydziału Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego, gdzie w 1999 roku obroniła pracę magisterską pod tytułem „Badania oddziaływań podwójnie interkalujących antracyklin z DNA metodami modelowania molekularnego” po kierunku prof. dr hab. Bogdana Lesynga. Od tego samego roku pracuje na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego; najpierw jako asystent w Zakładzie Chemii Fizycznej (1999-2003), następnie wykładowca w Zakładzie Chemii Organicznej (2003-2008), a od 2008 roku jako adiunkt w tym samym zakładzie. Pracując pod opieką prof. dr hab. Doroty Maciejewskiej w 2008 roku obroniła pracę doktorską pod tytułem „Badanie oddziaływań analogów pentamidyny z DNA oraz poszukiwania modeli CoMFA dla układów z 1-alkilo-4-arylopiperazyną metodami modelowania molekularnego”.

Ocena osiągnięcia naukowego

Poszukiwanie i projektowanie nowych leków to długotrwały proces, który zwykle wymaga zastosowania wielu metod i technik z pogranicza chemii, farmacji, biologii, medycyny i fizyki. Coraz częściej proces ten jest wspomagany również metodami modelowania molekularnego. Standardowy sposób postępowania w takim przypadku to dokładna analiza danych bibliograficznych w celu znalezienia nowych kandydatów na związki wiodące lub ich zaprojektowanie *de novo* oraz badania teoretyczne oddziaływań ligand-receptor/białko w celu wyłonienia najlepszych kandydatów na nowe leki. Kolejny etap to synteza i analiza nowych związków oraz badania aktywności biologicznej *in vitro/in vivo* i przeprowadzenie badań zależności aktywność-struktura. Zastosowanie metod teoretycznych wsparte komputerowym modelowaniem molekularnym pozwala na skrócenie części z tych etapów. Cykl publikacji habilitantki tworzący osiągnięcie naukowe jest ciekawym zastosowaniem takich metod w szeregu badań nad związkami aktywnie biologicznymi, kandydatami na leki.

W pracy **H1** habilitantka zajmuje się serią bisamidin i modelowaniem ich potencjalnego oddziaływania z DNA w celu zbadania potencjału antygrzybiczego tych związków chemicznych. Praca ta w znakomity sposób łączy dane eksperymentalne (IC_{50} , temperatura mięknięcia/topnienia DNA) z modelowaniem entalpii swobodnej wiązania badanych związków z modelowym układem DNA. Uzyskane korelacje pomiędzy wartościami eksperymentalnymi i teoretycznymi są wysokie, co pokazuje siłę metod obliczeniowych i możliwość ich użycia nie tylko do wyjaśnienia otrzymanych wyników eksperymentalnych, ale także do zaprojektowania *in silico* nowych związków o podobnej aktywności biologicznej. Bardzo wysoko oceniam samą koncepcję tej pracy oraz wiodącą rolę dr Żolek, która przeprowadziła wszystkie obliczenia znajdujące się w niej.

Praca **H2** jest kontynuacją tematu potencjalnego zastosowania bisamidin w celach terapeutycznych, ale tym razem badana była toksyczność tych związków, szczególnie pod kątem oddziaływania z kanałami potasowymi hERG. Dla dziewięciu związków chemicznych przeprowadzono bardzo szczegółową analizę ADMET, a następnie zastosowała metody dokowania molekularnego i dynamiki molekularnej do oszacowania siły wiązania tych związków z kanałem potasowym hERG. Wyniki teoretyczne uzyskane w tej pracy są ciekawe, jednak wymagają dalszej walidacji; inaczej niż w pracy **H1** brakuje tutaj danych eksperymentalnych, które pozwoliłyby jednoznacznie stwierdzić, że znalezione miejsca wiązania są prawidłowe. Dodatkowo, czasy symulacji metodami dynamiki molekularnej są dość krótkie (rzędu kilku nanosekund), brak wykresów zmian energii układu w czasie, czy rmsd nie pozwalają na stwierdzenie, czy badane systemy w tak krótkim czasie rzeczywiście uległy procedurze zrównoważenia.

Podsumowując te dwie prace, prezentują ona ciekawe i oryginalne badania dotyczące szeregu nowych bisamidin zsyntetyzowanych na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym. O ile sam temat zastosowania bisamidin jako związków antygrzybiczych nie jest nowy, przedstawione wyniki badań poszerzają naszą wiedzę na temat nowych pochodnych oraz zależności pomiędzy ich strukturą a aktywnością. W badaniach tych dr Żolek zastosowała szereg standardowych metod modelowania molekularnego i pokazała, że bardzo dobrze opisują one rzeczywiste właściwości związków z tej rodziny.

Trzy kolejne prace dr Żolek dotyczą modelowania pochodnych kumaryny, związku naturalnego który często jest szkieletem związków biologicznie czynnym o bardzo zróżnicowanym działaniu, a którego pochodne od lat są badane na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym. W pracy **H3** habilitantka sporządziła analizę ADMET dla 31 pochodnych kumaryny oraz teoretyczną analizę ich toksyczności, ze szczególnym uwzględnieniem hepatotoksyczności oraz kardiotoxyczności. Podobnie jak w pracy **H2** w celu uzyskania informacji na poziomie molekularnym na temat spodziewanej kardiotoxyczności przeprowadzono dodatkowo symulacje dokowania molekularnego wybranych związków do kanałów potasowych hERG wraz z krótkimi symulacjami metodą MD i oszacowaniem entalpii swobodnej wiązania ligandów do białka. Wyniki dokowania pozwalają skorelować konkretnie zmiany w strukturze kumaryn z przewidzianą toksycznością konkretnych pochodnych kumaryn, co może w przyszłości być pomocne przy szukaniu nowych, biologicznie czynnych kumaryn. Podobnie

jak w pracy **H2**, głównym mankamentem jest tutaj brak walidacji wyników teoretycznych, co powoduje że przedstawiona ocena oddziaływań ligand-białko jest bardzo wstępna.

Celem pracy **H4** było oszacowanie lekopodobieństwa pochodnych 5-hydroksykumaryny, które zostały zsyntetyzowane we wcześniejszych pracach i dla których wykazano stosunkowo wysokie powinowactwo do wybranych receptorów serotoninowych. Tutaj oprócz standardowej analizy ADMET skupiono się na potencjalnym oddziaływaniu tych kumaryn z białkiem – albuminą surowicy ludzkiej (HSA). Białko to występuje w ludzkim osoczu w stosunkowo dużym stężeniu i poprzez wiązanie z wprowadzanymi do organizmu lekami może mieć negatywny wpływ na ich pożądane działanie biologiczne. Teoretyczna analiza ADMET sześciu pochodnych kumaryn (nie do końca jest jasne dlaczego wybrano akurat te sześć z dużo większej puli) wykazała dla tych związków dobry transport przez błony biologiczne oraz barierę krew-mózg, ale też wysokie prawdopodobieństwo dużego powinowactwa do białka HSA. W związku z tym przeprowadzono symulacje metodami dokowania molekularnego połączonego z dynamiką molekularną wiązania badanych pochodnych kumaryn do albuminy. Wyniki pokazały, jakie modyfikacje strukturalne kumaryn dają wyższe/niższe powinowactwo do albuminy. Wyniki te zostały potwierdzone przez badania eksperymentalne wiązania pochodnych kumaryn do białka HSA za pomocą spektroskopii fluorescencyjnej. W podobnej metodologicznie pracy **H5** przeprowadzono analogiczne badania dla innej serii pochodnych kumaryn, również zsyntetyzowanych wcześniej pod kątem oddziaływania z receptorami serotoninowymi. Tak samo jak w pracy **H4** habilitantka skupiła się tutaj na teoretycznej analizie ADMET oraz dokowaniu molekularnym pochodnych kumaryn do białka HSA. Analiza wyników teoretycznych jest również analogiczna do poprzedniej pracy oraz podobnie jak w pracy **H4** część wyników została zweryfikowana za pomocą metod eksperymentalnych.

W pracy **H6** dr Żolek zastosowała podobne metody do oceny szczegółów wiązania pochodnych bis-indolu z receptorem EFGR. Jest to kolejna rodzina związków chemicznych, które zostały zsyntetyzowane w Zakładzie Chemii Organicznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego i wykazują bardzo szerokie działanie biologiczne. W pracy tej przebadano teoretycznie 14 związków chemicznych, a najciekawszą jej częścią jest przewidywanie na poziomie molekularnym miejsc wiązania ligandów w receptorze EFGR oraz szczegółów oddziaływań białko-ligand. Dla 10 związków, znanych inhibitorów EFGR uzyskano wysoką korelację pomiędzy entalpią swobodną wiązania ligandów a ich eksperymentalnymi wartościami IC_{50} . Dla czterech nowych związków chemicznych uzyskano podobną, dobrą korelację pomiędzy wartościami teoretycznymi i eksperymentalnymi, choć szacowanie poprawności otrzymanych modów wiązania na podstawie dobrej korelacji tylko dla czterech ligandów nie daje zbyt dużej pewności.

Ostatnia publikacja, **H7**, to podjęcie bardzo ciekawego i popularnego w ostatnich latach tematu polimerów wdrukowanych molekularnie. Celem habilitantki w tej pracy było opracowanie procedury obliczeniowej, która pozwoliłaby na stworzenie modelu selektywnych miejsc wiążących w matrycy polimerowej, a następnie użycie go do zbadania polimeru molekularnie wdrukowanego pseudowzorcem dopaminy. Z powodu braku struktur eksperymentalnych takich wdrukowanych polimerów praca ta wymaga użycia zupełnie innych metod modelowania

niż prace **H1-H6**. Dr Żolek zastosowała tu kombinację metod DFT oraz MM do otrzymania modeli badanych wdrukowanych polimerów, a następnie wyłącznie metody MM do oszacowania energii wiązania pomiędzy analitem a polimerem. Zastosowana metoda, pomimo swoistej prostoty, jest ciekawa i pozwala na szybkie opracowanie modelu polimeru. Pewnym jej mankamentem może być jednak brak a) zautomatyzowanego i wyczerpującego przeszukiwania przestrzeni konformacyjnej kompleksów oraz b) brak uwzględnienia zmian w entropii podczas oddziaływania analit-polimer. Wyniki uzyskane za pomocą tej metody są, pomimo to, ciekawe i dobrze korelują z wynikami eksperymentalnymi.

Podsumowując osiągnięcie naukowe dr Żolek mogą bez cienia wątpliwości stwierdzić, że habilitantka potrafi zarówno bardzo sprawnie zastosować znane metody obliczeniowe do badania układów biomolekularnych jak i zaproponować nowe protokoły obliczeniowe (oparte na znanych metodach) do modelowania nietypowych układów chemicznych.

Ocena pozostałego dorobku naukowego, działalności organizacyjnej i dydaktycznej

Całkowity dorobek pani dr Teresy Iwony Żolek to według przedstawionych dokumentów 18 publikacji naukowych znajdujących się w bazie Journal Citation Report (w tym 14 po doktoracie), których sumaryczny Impact Factor zgodny z rokiem opublikowania wynosi 61.936 i które zostały zacytowane 137 razy (według Web of Science) lub 141 razy (według Scopus), nie uwzględniając autocytowań. Biorąc pod uwagę okres 11 lat po doktoracie liczba 14 publikacji nie jest stosunkowo duża. Warto jednak zwrócić uwagę, że są to zwykle publikacje w dobrych lub bardzo dobrych czasopismach naukowych, uznanych w środowisku chemików i farmaceutów, takich jak *European Journal of Medicinal Chemistry*, *Talanta* czy *Biosensors i Bioelectronics*. Ciekawe wyniki opisane w tych publikacjach były podstawą przyznania habilitantce szeregu nagród naukowych Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz nagrody zespołowej Ministra Zdrowia za cykl publikacji. W większości publikacji niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego dr Żolek jest środkowym autorem, co jest zrozumiałe biorąc pod uwagę interdyscyplinarność badań przedstawionych w tych publikacjach i fakt, że symulacje i modelowanie są zwykle dopełnieniem badań eksperymentalnych. Tę w pewnym sensie uzupełniającą rolę modelowania widać również we wskazaniu udziału procentowego oraz opisu wkładu w zgłoszenie patentowe nr P.432365, którego dr Żolek jest współautorem, a które dotyczy bardzo ciekawej kwestii molekularnie wdrukowanych polimerów to rozpoznawania konkretnych związków chemicznych. Index Hirscha równy 7, udział w 47 konferencjach naukowych oraz pozostałe dane naukometryczne Pani dr Żolek spełniają wymagania zwyczajowo stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Habilitantka była kierownikiem dwóch grantów Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Finansowanie Nauki – Młodzi Badacze, wykonawcą w grantie NCN OPUS, wykonawcą w grantie węgierskiego odpowiednika NCN, wykonawcą wewnętrznego grantu WUM oraz opiekunem mini-grantu studenckiego WUM. W spisie tym brakuje niestety kierownictwa w jakimkolwiek projekcie finansowanym przez NCN lub NCBiR.

Dr Żolek jest bardzo aktywna na polu dydaktycznym, prezentując bardzo ciekawy dorobek dydaktyczny. Od początku zatrudnienia na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (1999) prowadzi szereg zajęć dydaktycznych z zakresu fizyki, informatyki, chemii oraz projektowania substancji leczniczych. Od 2004 roku była opiekunem 14 prac magisterskich realizowanych na Wydziale Farmaceutycznym WUM, promotorem pomocniczym w jednym przewodzie doktorskim oraz opiekunem studenta studiów indywidualnych. Od 17 lat jest także opiekunem Studenckiego Koła Naukowego Molekuła (za tę działalność otrzymała indywidualną nagrodę dydaktyczną Rektora WUM) i brała aktywny udział w zajęciach i warsztatach popularnonaukowych takich jak Festiwal Nauki Polskiej, piknik Warszawski Uniwersytet Medyczny – Społeczeństwo Warszawy oraz Odkryj Nasz Wydział. Aktywnie uczestniczy również w przygotowywaniu nowych zajęć dydaktycznych na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym. Z opisu przedstawionego w załączonej dokumentacji wynika, że pod względem dydaktycznym jest osobą kreatywną i pełną inicjatywy, która stanowi istotne wzmocnienie potencjału dydaktycznego WUM.

Podsumowanie

Pani dr Teresa Iwona Żolek w ramach swojego wniosku habilitacyjnego zaprezentowała materiał mający istotny wkład w naukę i opublikowany w dobrych lub bardzo dobrych czasopismach naukowych. Otrzymane wyniki są ciekawe, posiadają wyraźnie zaznaczony charakter poznawczy i poszerzają nasz stan wiedzy badania metodami obliczeniowymi związków chemicznych o działaniu biologicznym. Habilitantka, pierwsza autorka wszystkich siedmiu publikacji włączonych w osiągnięcie naukowe, wykazała że potrafi przeprowadzić badania na dobrym poziomie, pełniąc w nich wiodącą rolę. Z przedstawionej dokumentacji wynika również, że dr Żolek pełniła istotną rolę w inicjacji tej linii badań oraz w opracowaniu jej celu i koncepcji. Za pewien mankament można uznać fakt, że w żadnej publikacji habilitantka nie jest ostatnim autorem, co wraz z brakiem samodzielnego prowadzenia dużych grantów stawia pytania, czy potrafi ona zbudować swój zespół i pracować jako całkowicie samodzielny pracownik naukowy, lider grupy badawczej. Analiza całości działalności naukowej habilitantki pokazuje również, że jest ona naukowcem chętnie współpracującym z innymi grupami badawczymi, zarówno krajowymi jak i zagranicznymi.

W mojej opinii przedstawiona do oceny dokumentacja habilitacyjna spełnia wymagania formalne właściwej ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym jak również te zwyczajowe stawiane rozprawom habilitacyjnym. Dlatego też wnoszę do Komisji habilitacyjnej powołanej przez Radę Doskonałości Naukowej oraz do Rady Naukowej Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie dr Teresy Iwony Żolek do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

dr hab. Bartosz Trzaskowski