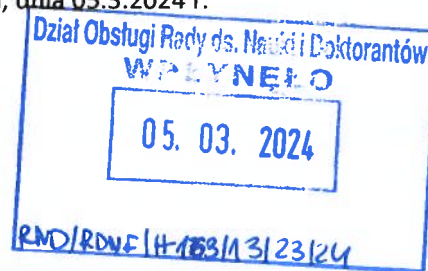


Warszawa, dnia 05.3.2024 r.

Prof. dr hab. Andrzej Leś
Profesor emerytowany
Wydział Chemii
Uniwersytet Warszawski



Recenzja

osiągnięcia naukowego doktora Marcina Gackowskiego

pt. „Wykorzystanie modelowania molekularnego do racjonalnego projektowania pochodnych izostewiolu jako inhibitorów aktywowanego czynnika krzepnięcia X oraz przewidywania aktywności przeciwnowotworowej pochodnych antrapirazolu”

Zapoznałem się z wymogami formalnymi, jakie kandydat do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego powinien spełnić według Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, Dz. U. 2023 poz. 742, Art. 219, ust.1 pkt. 2.

Na podstawie przedstawionych mi materiałów stwierdzam, że Autor posiada stopień doktora nauk farmaceutycznych, posiada w dorobku osiągnięcia naukowe stanowiące znaczny wkład w rozwój dyscypliny nauk chemicznych oraz farmaceutycznych, w formie jednego cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych, oraz wykazuje się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej.

Osiągnięcie naukowe zostało zaprezentowane w formie Autoreferatu, o objętości łącznie 62 stron, w którym dr Gackowski omówił główne kierunki swoich badań nad pochodnymi izostewiolu oraz antrapirazolu, wraz ze zwięzłym omówieniem 5-ciu publikacji naukowych (oznaczonych symbolami P1-P5) stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego, oraz dołączył informację o swojej aktywności naukowej poza macierzystą uczelnią (tj. w latach 2022-2023 współpracował z Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Nitte College of Pharmaceutical Sciences, Yelahanka, Bengaluru, Karnataka, Indie, oraz na bieżąco z Katedrą i Zakładem Chemii Farmaceutycznej oraz Katedrą Biofarmacji i Farmakodynamiki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, w latach 2020-2023 z Kliniką Neurologiczną 10. Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką w Bydgoszczy oraz Niepublicznym Zakładem Opieki Zdrowotnej "SANITAS" LEKARZE SPECJALIŚCI w Bydgoszczy).

Wskaźniki naukometryczne publikacji Habilitanta lokują się w obszarze spotykanym w innych pracach habilitacyjnych o zbliżonym profilu. Wartości liczbowe tych wskaźników są następujące:

Łączna wartość punktacji KBN/MEiN: **1870,000**, Impact Factor: **72,148**, cytowania (Web of Science Core Collection): **114**, cytowania bez autocytowań (Web of Science Core Collection): **106**, Index H=**6** (Web of Science Core Collection).

Poza cyklem prac omawianych w Autoreferacie Kandydat poinformował zwięźle o swojej dotychczasowej aktywności publikacyjnej, która obejmuje **2** rozdziały z monografii, **2** wystąpienia ustne, **3** prezentacje plakatowe, **33** artykuły w czasopismach o zasięgu krajowym oraz

międzynarodowym (w 16 publikacjach występuje jako pierwszy autor, w 19 jako autor korespondencyjny, co zwyczajowo uznaje się za wskazanie współautora o największym wkładzie do wspólnego dzieła).

Można zatem stwierdzić, że jest to obszerna i różnorodna działalność naukowa Habilitanta rozciągająca się na okres kilku lat wstecz przed rozpoczęciem badań cyklu habilitacyjnego. W 5-ciu publikacjach stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego Autor jest pierwszym współautorem, a jak wynika z oświadczeń pozostałych współautorów, jest również osobą o największym wkładzie merytorycznym do powstania tych prac, przy czym Jego dominujący wkład obejmuje wszystkie elementy konstrukcji publikacji.

Kwalifikacje Habilitanta do prowadzenia badań naukowych są wystarczające. Habilitant posiada w dorobku kilkanaście publikacji naukowych (np. widocznych w serwisie Pubmed, <https://pubmed.ncbi.nlm.gov>). Warto zauważyć również publikację z roku 2024 niewchodzącą w cykl prac habilitacyjnych („Novel Thiourea and Oxime Ether Isosteviol-Based Anticoagulants: MD Simulation and ADMET Prediction”, Marcin Gackowski, Mateusz Jędrzejewski, Sri Satya Medicharla, Rajesh Kondabala, Burhanuddin Madriwala, Katarzyna Mądra-Gackowska, Renata Studzińska, *Pharmaceuticals* **2024**, *17*, 163. <https://doi.org/10.3390/ph17020163>). Jest to publikacja ściśle związana merytorycznie z cyklem 5-ciu publikacji P1-P5 Habilitanta i będąca ich naturalnym rozwinięciem.

Rozeznanie Habilitanta w kierunkach współczesnych badań nad mechanizmami działania leków oceniam jako dobre. Habilitant zna literaturę współczesną, np. prace grupy Zacconi i inn. dotyczące inhibitorów czynnika krzepnięcia FXa, a także, nieco starsze (lata 80-te XX wieku) dotyczące niektórych leków przeciwnowotworowych, np. pochodnych antrapirazolu. Zarys badań laboratoriów zagranicznych nad wspomnianymi lekami jest zwięźle przedstawiony w Autoreferacie. Choć cytowana w rozprawie literatura naukowa jest obszerna, to zabrakło odnośników do konkretnych pozycji na tych stronach Autoreferatu, które dotyczą omawianych zagadnień. Pewną orientację ułatwia zamieszczenie tytułów artykułów naukowych w spisie literatury cytowanej.

Nowością obecnego osiągnięcia naukowego jest efektywna implementacja czterech nowoczesnych algorytmów uczenia maszynowego, dostępnych w pakiecie Statistica, i wykorzystanie ich do analizy relacji pomiędzy strukturą badanych cząsteczek i doświadczalnymi parametrami w środowisku *in vitro* (IC_{50} , K_i). Są to algorytmy: MARSplines (Multivariate Adaptive Regression Splines), ANN (Artificial Neural Networks), Random Forest, Boosted Trees. Algorytmy te można uznać za część algorytmów sztucznej inteligencji (AI).

Główne elementy zaprezentowanego osiągnięcia naukowego:

[1] - opracowanie metodologii badań modelowania molekularnego (modelowanie *in silico*) z wykorzystaniem 73 cząsteczek chemicznych - pochodnych antrapirazolu [P1] oraz predykcja aktywności przeciwnowotworowej 7-miu związków o znanej strukturze chemicznej, lecz nieposiadających danych empirycznych (IC_{50} murine leukemia L1210)

[2] wykorzystanie opracowanej metodologii do modelowania molekularnego (modelowanie *in silico*) 17 eterów oksymu estru etylowego izostewiolu [P4] oraz 20 *N*-podstawionych pochodnych

tiosemikarbazonu estru etylowego izostewiolu wraz z predykcją aktywności przeciwzakrzepowej kilku wyselekcjonowanych związków [P2, P5] .

[3] identyfikacja molekularnych cech strukturalnych wpływających na aktywność hamującą eterów oksymu estru etylowego izostewiolu [P4] oraz *N*-podstawionych pochodnych tiosemikarbazonu izostewiolu [P4] wobec czynnika krzepnięcia FXa [P5]. Wskazanie kilkunastocząłowego zbioru aminokwasów z fragmentu czynnika FXa i tworzących miejsce wiążące do którego dokuje się ligand (pochodna izostewiolu) . Dokowanie liganda do miejsca aktywnego powinno sprzyjać działaniu hamującemu czynnika FXa.

[4] adaptacja w laboratorium farmaceutycznym czterech nowoczesnych algorytmów uczenia maszynowego do rozwiązania postawionego problemu regresyjnego(QSAR i jej modyfikacje) oraz wskazanie najbardziej efektywnych algorytmów identyfikacji istotnych cech molekularnych wpływających na spodziewaną aktywność farmakologiczną [P3] . Badania *in silico* obejmowały wizualizację i optymalizację struktury 3-D, obliczanie deskryptorów molekularnych, analizę regresji z implementacją nowoczesnego algorytmu regresji MARS, predykcją aktywności farmakologicznej.

Uwagi krytyczne

[K1] Nie podzielam optymizmu Autora (Autoreferat, str. 26/62) odnośnie zalety obecnej metody ocenionej jako kompleksowa z uwagi na wykorzystanie AM1, generowania deskryptorów, MARS, także niektórych metod AI, *ze względu na brak wymagań „...zaawansowanego i kosztownego sprzętu komputerowego, jak również dużego nakładu czasu...”*. Autor wykorzystał niezbyt zaawansowany sprzęt komputerowy do działań w istocie lokalnych. Natomiast współcześnie pracownicy naukowci uczelni mogą mieć bezpłatny (jak to tej pory) dostęp do ogromnych mocy obliczeniowych w centrach komputerowych większych ośrodków badawczych (np. w Gdańsku, Krakowie, Poznaniu, Warszawie). Współczesne badania nad modelami relacji pomiędzy własnościami strukturalnymi cząsteczek i ich parametrami biochemicznymi wymagają zastosowania zdecydowanie większych mocy obliczeniowych i znacznie powiększonej ilości parametrów biochemicznych. W badaniach nad lekiem użycie zaledwie dwóch parametrów doświadczalnych (IC_{50} , K_i , *in vitro*) jest zbyt skromne dla realistycznej oceny działania farmakologicznego.

[K2] Autor wymienia kilka uwag krytycznych (Autoreferat, str. 14/62) odnośnie zastosowanej przez Niego metody AM1 (np. *„...niektóre przewidywania bywają nieprecyzyjne (np. zbyt niskie bariery rotacyjne, zbyt stabilne pięciocząłowe pierścienie i niedokładna standardowa entalpia tworzenia dla związków chemicznych o dużej ilości lokalizacji ładunku...”*). Jednocześnie Autor nie podejmuje dyskusji nt. wpływu tych nieprecyzyjnych przewidywań na uzyskane przez Niego przewidywania związków wiodących (ang. lead structures). Dla przykładu, na str.51/62 Autor pisze tak: *„... na podstawie przewidywanej aktywności przeciwzakrzepowej oraz energii swobodnej wiązania kompleksu ligand-receptor, wyłoniłem dziewięć potencjalnych związków wiodących [P4 i P5] ...”*. W pracy [P4], Tabela 4, o wyborze (wskazaniu) struktury (zapewne wiodącej) decydują różnice energii swobodnej o wielkości ułamków kcal/mol (np. związki e15, e12, vs. edoxaban). Autor powinien odnieść się do problemu relacji pomiędzy nieprecyzyjnymi przewidywaniami AM1 wobec istotności (znaczenia) tak małych różnic obliczonych energii swobodnych. Przy okazji dyskusji zastosowania metody AM1 warto zwrócić uwagę na możliwość weryfikacji uzyskanych

struktur 3-D przy użyciu innych wersji metod półempirycznych, np. PM3 (HyperChem), PM7 (Mopac), jak sądzę, będących w zasięgu możliwości Autora.

[K3] Nie zauważyłem, aby w przedstawionych algorytmach uwzględniono odchylenia standardowe wielkości eksperymentalnych, np. pIC_{50} , które są opublikowane w pracach Shi et al. (doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.07.044). Można przypuszczać, że uwzględnienie odchyleń standardowych może przełożyć się na ostateczne wyniki symulacji w obecnej pracy.

Uwagi krytyczne nie zmieniają mojej ogólnie pozytywnej oceny osiągnięcia naukowego dr M. Gackowskiego. Natomiast chętnie zapoznam się z komentarzami Habilitanta wobec podniesionych wyżej kwestii podczas najbliższego posiedzenia Komisji habilitacyjnej.

Zalety obecnego osiągnięcia naukowego:

Łączne wykorzystanie teoretycznych metod badania struktury cząsteczek o znaczeniu farmakologicznym oraz metod uczenia maszynowego w przewidywaniu aktywności farmakologicznej zaprojektowanych teoretycznie struktur chemicznych są bez wątpienia największą zaletą. Na podkreślenie zasługuje staranna analiza modeli uczenia maszynowego, szczególnie zaś wrażliwości sieci neuronowych na modyfikacje zbioru danych.

Jedną z ciekawych obserwacji przeprowadzonych badań jest wskazanie istotnej roli podstawnika chlorowego w niektórych pochodnych oksymu izostewiolu. Wprawdzie rola chloru została zauważona w literaturze znacznie wcześniej (np. prace Shi et al.), to jednak molekularny mechanizm wpływu chloru na spodziewaną aktywność farmakologiczną został pokazany przez Habilitanta dopiero obecnie.

Adaptacja przedstawionej teoretycznej metodyki badawczej w laboratorium farmaceutycznym (Katedra Toksykologii i Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Toruń oraz w instytucji zagraniczne tj. Department of Pharmaceutical Chemistry, Yalahanka, Indie) jest ze wszech miar pożądana i konieczna dla poznania, przynajmniej w zarysie, molekularnych podstaw działania wybranych leków przeciwnowotworowych i przeciwzakrzepowych. Korzystne dla prowadzonych badań są konsultacje Autora w innych, niż jednostka macierzysta, ośrodkach naukowych krajowych i zagranicznych. Zapewne umknęły uwadze Habilitanta liczne prace naukowe w zakresie podobnej tematyki (np. dokowanie ligandów do struktur białkowych, obszerne studia MD) w jednostkach naukowych Uniwersytetu Warszawskiego, Gdańskiego lub Jagiellońskiego, a także kompleksowe badania firm farmaceutycznych, np. Selvita, Adamed, (obejmujących m.in. znacznie rozbudowaną analizę danych farmakokinetycznych, przenikalności przez błony komórkowe, wiązania z białkami, również obszerne modelowanie *in silico*). Są to złożone wielodyscyplinarne działania określane zwykle jako Computer Aided Drug Design. Obecne osiągnięcie naukowe zawiera w sobie znacznie skromniejsze działania, choć mieszczą się we współczesnym nurcie badań nad cząsteczkami o potencjale terapeutycznym.

Ocena końcowa.

Po zapoznaniu się z kompletem dokumentów oraz z treścią osiągnięcia naukowego wraz z dołączonymi publikacjami naukowymi i uzupełniającymi informacjami Autora stwierdzam, że przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe spełnia wszystkie wymogi Ustawy oraz stanowi istotny wkład do rozwoju dyscypliny nauki farmaceutyczne.

Moja ocena jest pozytywna i w związku z powyższym wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych o skierowanie wniosku Autora do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

/ prof. dr hab. Andrzej Leś/

