



Recenzja pracy doktorskiej mgr Anety Bobowskiej p.t.
„IRAK-4 kinase inhibitors as potential therapeutics in immune-oncology diseases
dependent on the functioning of the adapter protein MYD88”
przedstawiona Radzie Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne
Politechniki Wrocławskiej w celu uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych

Poszukiwanie nowych związków biologicznie aktywnych z wykorzystaniem metod modelowania molekularnego stanowi jedno z kluczowych wyzwań współczesnej chemii medycznej. Dysertacja doktorska Pani mgr Anety Bobowskiej, wykonana pod promotorską opieką Pana prof. dr. hab. Piotra Młynarza, cenionego Eksperta z zakresu chemii związków biologicznie ważnych oraz metabolomiki, dobrze wpisuje się w tę niezwykle atrakcyjną tematykę badawczą. Praca ta adresuje bowiem zagadnienia dotyczące projektowania, syntezy oraz określenie właściwości związków mogących pełnić rolę inhibitorów kinazy IRAK4 związanej z receptorem interleukiny-1 (IL1R). Zakres przedłożonej mi do oceny pracy spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, a zdefiniowane w pracy cele badawcze posiadają charakter poznawczy. Dlatego też uważam decyzję Doktorantki, o podjęciu badań z tego zakresu, za uzasadnioną z punktu widzenia naukowego.

Przedstawiona do recenzji rozprawa ma układ klasycznej dysertacji doktorskiej i została napisana poprawnym językiem angielskim. Całość liczy 149 ponumerowanych stron i składa się z dziewięciu rozdziałów pogrupowanych dodatkowo w pięć podstawowych części (niewykazanych w spisie treści pracy) i zatytułowanych kolejno: 1) Introduction (36 stron); 2) The aim of the thesis (3 strony); 3) Experimental research (67 stron); 4) Summary of the dissertation (1 strona); oraz 5) Description of synthesis (42 strony). Dokładna analiza zawartych w poszczególnych fragmentach rozprawy treści pozwala wyraźnie zidentyfikować wymagane zwyczajem rozdziały dysertacji doktorskiej w jej klasycznym wydaniu poświęcone kolejno części literaturowej, omówieniu wyników badań własnych oraz części eksperymentalnej. W pracy nie znalazłem niestety informacji o dotychczasowym przebiegu kariery naukowej i zawodowej Kandydatki. Szkoda, bo taka informacja pozwala Recenzentowi dokładniej poznać autorkę/autora pracy i lepiej zrozumieć kierujące nią/nim motywacje. Z informacji zawartych w Internecie udało mi się jednak ustalić, że dotychczasowa kariera Pani mgr Bobowskiej związana jest z przemysłem. W dostarczonych materiałach zabrakło również podsumowania dorobku naukowego Doktorantki oraz wymaganego ustawowo elementu dysertacji jakim jest streszczenie



Politechnika Łódzka

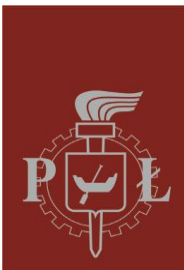
Instytut Chemii Organicznej

Prof. dr hab. inż. Łukasz Albrecht

(w języku polskim i angielskim). Dokumenty te zostały jednak na moją prośbę przedstawione przez Uczelnię, potwierdzając w ten sposób spełnienie wymogu formalnego stawianego rozprawom doktorskim.

Analiza dorobku naukowego Kandydatki pokazuje, że nie jest on szczególnie obfity, co jest konsekwencją dotychczasowego przebiegu kariery zawodowej Doktorantki, która jest związana z przemysłem. Pani mgr Bobowska jest bowiem współautorką tylko jednej publikacji, która dodatkowo nie jest bezpośrednio związana z tematem Jej dysertacji doktorskiej (5-Keto-3-cyano-2,4-diaminothiophenes as selective maternal embryonic leucine zipper kinase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, 29, 607-613). Druga publikacja była w trakcie przygotowywania w momencie składania rozprawy. Prosiłbym o określenie jej aktualnego statusu w ramach publicznej obrony rozprawy doktorskiej. Dorobek naukowy Doktorantki uzupełniają cztery patenty oraz siedem prezentacji posterowych na konferencjach międzynarodowych. Biorąc pod uwagę przytoczone powyżej fakty należy uznać, że wymóg ustawy odnoszący się do posiadania w dorobku co najmniej jednego artykułu naukowego opublikowanego w czasopiśmie naukowym lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowej, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie ministerialnym został przez Doktorantkę spełniony.

Wstęp (Introduction) otwiera rozdział zatytułowany *Background of the synthetic and medicinal chemistry research*. Zawiera on swoiste podsumowanie zakresu zrealizowanych badań z podziałem na lata oraz wykaz skrótów stosowanych w pracy. Rozdział ten spokojnie mógłby zostać pominięty, a treści w nim zawarte omówione łącznie w rozdziale przedstawiającym cel zrealizowanych badań. Jego zawartość ma bowiem istotne znaczenie z uwagi na fakt, że Doktorantka jednoznacznie pokazuje zakres merytoryczny zrealizowanych przez siebie badań oraz te elementy, które zostały wykonane we współpracy z zewnętrznymi interesariuszami. Taki zabieg oceniam bardzo pozytywnie ponieważ jasno pokazuje on zakres odpowiedzialności, co jest niezwykle istotne w przypadku badań o charakterze interdyscyplinarnym realizowanych z udziałem różnych podmiotów zewnętrznych. Przedstawione opisy pokazują jednoznacznie, że opisane w pracy syntezy zostały zrealizowane przy wyłącznym udziale Kandydatki. Podobnie rolę Pani mgr Bobowskiej w analizie danych biologicznych, fizykochemicznych oraz farmakokinetycznych należy uznać za wiodącą. Co ciekawe opisane w dysertacji badania zostały zrealizowane w latach 2014-2016. Trochę szkoda, że Doktorantka nie wykorzystwała tego czasu, żeby choć częściowo opublikować wyniki swoich badań. Z pewnością byłoby to korzystne z punktu widzenia realizowanego obecnie postępowania.



Politechnika Łódzka

Instytut Chemii Organicznej

Prof. dr hab. inż. Łukasz Albrecht

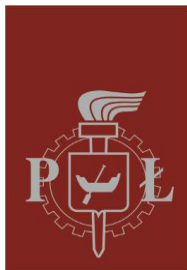
Dwa kolejne rozdziały dysertacji (zatytułowane: *Overview of interleukin-1 receptor-associated kinases (IRAK)-family* oraz [REDACTED] *compounds in medicine – physicochemical properties*) można potraktować jako wstęp literaturowy do rozprawy. Jest to starannie przygotowane opracowanie poruszające zagadnienia bezpośrednio związane z tematyką badań własnych Doktorantki. Ten liczący 29 stron fragment rozprawy otwierają rozważania dotyczące kinaz związanych z receptorem interleukiny-1, ich podziału, funkcji biologicznej i sposobu działania oraz potencjału terapeutycznego ze szczególnym uwzględnieniem związków mogących pełnić rolę inhibitorów kinazy IRAK4. W dalszej części wstępu mgr Bobowska w sposób kompetentny omówiła potencjał [REDACTED] w chemii medycznej. Ten niezwykle ciekawy fragment opracowania przedstawia również wykorzystywane do ich przygotowania metody syntezy, co jest szczególnie cenne w odniesieniu do zrealizowanych w doktoracie prac syntetycznych. W kontekście zaprezentowanych w tym fragmencie badań zastanawiają mnie następujące kwestie:

- Z czego wynika brak amidowej grupy karbonylowej w produkcie sprzęgania typu Hecka przedstawionego na Schemacie 8? Czy jest to błąd, czy też można to wytłumaczyć stosowanymi warunkami reakcji?
- Część z otrzymywanych w [REDACTED] produktów jest chiralna (np. Schemat 7 lub 10). Czy autorzy raportują trudności związane z racemizacją produktów z uwagi na zasadowe warunki realizacji tych procesów?

Poproszę o odniesienie się do tych dwóch pytań w ramach publicznej obrony pracy.

Zdefiniowany przez Doktorantkę w rozdziale 4 (The aim of the thesis) cel pracy obejmował projektowanie, syntezę oraz określenie właściwości biblioteki [REDACTED] [REDACTED] mogących pełnić rolę inhibitorów kinazy IRAK4 związanej z receptorem interleukiny-1 (IL1R). Struktura docelowych związków była [REDACTED] który we wcześniejszych badaniach wykazał słabą aktywność względem IRAK4. Tak zdefiniowany cel badawczy został następnie dookreślony za pomocą 12 parametrów i towarzyszących im opisowych wskaźników pozwalających na zdefiniowanie oczekiwań odnośnie właściwości fizykochemicznych i biologicznych końcowych produktów.

Wyniki badań własnych Doktorantki zostały opisane w kolejnych trzech rozdziałach zebranych pod zbiorczym tytułem Experimental research. Otwiera go fragment przedstawiający cele i hipotezy badawcze pracy. Autorka w jasny sposób zaprezentowała [REDACTED] cząsteczki wiodącej oraz omówiła kluczowe fragmenty, które zamierzała poddać modyfikacjom. Krytyczna analiza pozwoliła mgr Bobowskiej na identyfikację biblioteki 39 pochodnych, które zostały otrzymane w ramach zrealizowanych



Politechnika Łódzka

Instytut Chemii Organicznej

Prof. dr hab. inż. Łukasz Albrecht

badzeń. Część z zaprezentowanych tu związków jest chiralna. Czy Doktorantka rozważała kwestię wpływu chiralności na aktywność biologiczną związków docelowych oraz czy zastanawiała się jak otrzymać te produkty w postaci pojedynczych enancjomerów? Kandydatka przedstawiła również właściwości fizykochemiczne zaprojektowanych cząsteczek, a następnie dokonała przeglądu dostępnych metodologii syntetycznych skupiając się na różnorodnych strategiach **redukcji** jako kluczowego etapu tworzenia produktów docelowych. Przeprowadzona analiza pozwoliła na wybór **redukcji** jako podstawowego narzędzia syntetycznego. Ten fragment dysertacji zamykają rozważania odnoszące się do warunków **redukcji**. Są one miejscami nieco mylące, ponieważ nie do końca wiadomo do jakiej reakcji modelowej Doktorantka odnosi przedstawiane dane (dla przykładu zaprezentowane w tabeli 12), a część z przekazanych informacji niepotrzebnie pokrywa się z tymi omówionymi w kolejnym rozdziale. Rozdziały 7 i 8 odnoszą się bowiem już bezpośrednio do wyników zrealizowanych badań zarówno w warstwie syntetycznej jak i właściwości fizykochemicznych oraz aktywności biologicznej otrzymanych pochodnych. Całość otrzymanych wyników została zgrabnie podsumowana w Rozdziale 8.

Część eksperymentalna (Experimental part) stanowi ostatni obszerny fragment dysertacji. Jest ona rozbudowana pod względem zawartych w niej informacji. Opisy wykorzystywanych/opracowanych procedur syntetycznych zostały przygotowane w sposób zgodny ze standardami współczesnej chemii organicznej i nie budzą zastrzeżeń, co do możliwości ich odtworzenia. Produkty docelowe zostały scharakteryzowane z wykorzystaniem spektroskopii ^1H NMR. Zastanawia mnie brak widm ^{13}C NMR dla tych związków oraz pominięcie spektroskopii NMR w przypadku określania struktury produktów pośrednich – w tym przypadku Doktorantka bazowała jedynie na analizie HPLC-MS. Spektroskopia NMR jest podstawową techniką badawczą pozwalającą na jednoznacznie określenie struktury związków organicznych i brak stosownych widm w części eksperymentalnej pracy uważam za błąd metodologiczny.

Literatura cytowana w pracy, obejmująca 190 pozycje ściśle związane z tematyką rozprawy, została umieszczona w postaci przypisów dolnych na stronie, na której pojawia się odpowiednie cytowanie. Takie podejście jest w pełni akceptowalne i wygodne dla czytelnika, ponieważ pozwala na szybkie powiązanie poruszanych zagadnień z konkretnym odnośnikiem literaturowym. Fragment ten został przygotowany poprawnie, ale zawiera błędy edytorskie, których można było uniknąć przy dokładnej korekcie edytorskiej opracowania.



Politechnika Łódzka

Instytut Chemii Organicznej

Prof. dr hab. inż. Łukasz Albrecht

Podczas lektury dysertacji natknąłem się na kilka określeń lub zdań, które są niepoprawne lub zostały zredagowane w sposób za mało precyzyjny. Z obowiązku Recenzenta wymieniam niektóre z nich:

- W kilku miejscach tekstu rozprawy Doktorantka błędnie określa konfigurację wiązania podwójnego konformacją (strona 68). Proszę o poprawne zaprezentowanie definicji tych dwóch pojęć w ramach obrony pracy doktorskiej i wskazanie różnic między nimi.
- Proszę o ponowną analizę przedstawionych na stronie 68 argumentów spektralnych pozwalających na przypisanie konfiguracji *E/Z* w alkenach. Z informacji tam podanych wynika, że stała sprzężenia dla izomerów *cis* powinna być większa niż dla izomerów o konfiguracji *trans*. Czy rzeczywiście tak jest? Jeżeli tak proszę o pokazanie dowodów literaturowych.
- Przedstawiona na Schemacie 21 (strona 78) reakcja nie jest reakcją sprzężenia peptydów (peptide coupling), a tworzące się wiązanie nie jest wiązanie peptydowym, ponieważ nie biorą w niej udziału aminokwasy. Jest to zwyczajnie reakcja tworzenia wiązania amidowego.
- Przedstawiona na Schemacie 22 (strona 79) reakcja arylowania amin allilowych za pomocą chlorku arylowego nie przebiega zgodnie z mechanizmem S_N2 . Proszę o zaproponowanie poprawnego mechanizmu reakcji.
- Pojawiające się w rozprawie określenia typu „R-piperazine” (strona 84) są nieco mylące, ponieważ zapis ten nawiązuje do konfiguracji absolutnej przypisanej zgodnie z regułami CIP.

Podsumowując stwierdzam, że cel pracy został osiągnięty, a przedstawiona mi do recenzji dysertacja zawiera wyniki posiadające charakter poznawczy i dostarczające ciekawych informacji na temat syntezy i aktywności biologicznej wybranych związków makrocyklicznych. Zakres zrealizowanych badań jest wystarczający dla opracowania jakim jest dysertacja doktorska, a sposób przeprowadzenia badań jest poprawny. Opisane badania spełniają warunek oryginalności, a błędy merytoryczne, gramatyczne i edytorskie pojawiające się w tekście nie wpływają na moją pozytywną ocenę rozprawy.



Politechnika Łódzka

Instytut Chemii Organicznej

Prof. dr hab. inż. Łukasz Albrecht

W mojej opinii rozprawa doktorska Pani mgr Anety Bobowskiej spełnia wymagania ustawowe stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2022 r. poz. 574 z późn. zm.). Dlatego też zwracam się z wnioskiem do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie Pani mgr Anety Bobowskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.



Instytut Chemii Organicznej
90-924 Łódź, ul. Żeromskiego 116, budynek A-27
Tel. 042 636 25 42; fax. 042 636 55 30; www.p.lodz.pl
NIP: 727 002 18 95; Regon: 000001583

