

**Recenzja rozprawy doktorskiej magister inżynier Kariny Falkiewicz
pt. „Mechanizmy działania wybranych radiosensybilizatorów uszkodzeń
DNA. Badania metodami chemii komputerowej”**

Przedstawione w recenzowanej pracy wyniki nawiązują do tematyki badań promotora rozprawy prof. dr hab. Janusza Raka, który od lat zajmuje się modelowaniem *in silico* indukowanych rodnikowo rozpadów nukleotydów. Cytowana w pracy doktorskiej publikacja poświęcona tej tematyce współautorstwa Raka datuje się na rok 2005. Rodnikowe mechanizmy radiolizy wody mają kluczowe znaczenie w radioterapii nowotworów, którą prowadzi się w warunkach hipoksji, tzn. niskiego stężenia tlenu w guzie. W warunkach beztlenowych radioterapia nie może wywołać radiolizy wody, generującej wolne rodniki, które niszczą chorą tkankę. W celu wywołania procesów rodnikowych konieczna jest radiosensybilizacja litego guza nowotworowego. Projektowanie leków radiosensybilizujących może usprawnić radioterapię, czyniąc ją znacznie efektywniejszą już przy niższych dawkach projektowania. Jednocześnie znanych i stosowanych jest obecnie jedynie niewiele takich związków, np. nimorazol (dopuszczony do stosowania w Danii i Norwegii). Dokładny mechanizm działania takich związków nie jest do końca poznany. Najogólniej celem pracy Doktorantki było badanie *in silico* mechanizmów działania radiosensybilizującego wybranych pochodnych urydyny oraz nitroimidazolowych mimetyków tlenu. To trudne zadanie Doktorantka wykonuje, stosując metody chemii kwantowej oraz elementy modelowania QSAR oraz analizy PCA.

Pracę otrzymałem w postaci typowej dla rozprawy doktorskiej. Manuskrypt liczy 134 strony. Składa się ze streszczenia, wstępu teoretycznego, który jest częścią literaturową, celów badawczych, metodyki badań własnych, dyskusji wyników badań własnych, podsumowania, Autorka cytuje 164 pozycji literaturowych. Z drugiej strony nowoczesny charakter pracy ilustruje ujęcie projektowe. Praca jest raportem z realizacji czterech projektów: (i-ii) **Projekt A** (amidosiarczan 5-hydroksyuracylu; SU) i **B** (*N,N*-dimetyloamidosiarczan 5-hydroksyuracylu: DMSU), dotyczące badań nad mechanizmem

degradacji pochodnych SU i DMSU indukowanej LEE w fazie gazowej (iii) **Projekt C**, dotyczący badań nad stabilnością 6-jodopochodnych urydyny i 2'-deoksyurydyny w środowisku wodnym (iv) **Projekt D** dotyczący weryfikacji literaturowych mechanizmów działania mimetyków tlenu z grupy nitroimidazoli.

W części literaturowej Doktorantka omawia problemy związane z epidemiologią i metodami terapii p-nowotworowych, zastosowaniami promieniowania jonizującego w radioterapii, w szczególności problemom oddziaływania takiego promieniowania z DNA, radiosensybilizatorom oraz problemom dysocjacyjnego przyłączenia elektronu (analogi tyminy) oraz mechanizmom działania mimetyków tlenu w warunkach hipoksji w litych guzach nowotworowych. Ta część dobrze spełnia swoją rolę. Czytelnik, czytając z zainteresowaniem ten rozdział, uzyskuje dobrą podstawę teoretyczną do w sumie bardzo specjalistycznej wiedzy nawet w zakresie chemii leków.

W głównej części badawczej Doktorantka bada dwie grupy związków o potencjale radiouczulającym, pochodne uracylu i urydyny – amidosiarczan 5-hydroksyuracylu (SU), *N,N*-dimetyloamidosiarczan 5-hydroksyuracylu (DMSU), 5-jodo-2'-deoksyurydyna (5IdU), 6-jodo-2'-deoksyurydyna (6IdU) oraz 6-jodouracydyna (6IUrd), które są potencjalnymi radiosensybilizatorami DNA komórek nowotworowych. Druga grupa związków to mimetyki tlenu z grupy nitroimidazoli.

Dla pierwszej grupy Autorka bada degradację indukowaną dysocjacyjnym przyłączeniem elektronu (DEA), który powstaje w wyniku radiolizy wody. W wyniku badań wyjaśniła dlaczego pochodna SU, którą zaprojektowano jako radiosensybilizator, okazuje się nieaktywna. Jak pisze w podsumowaniu pochodna SU okazała się być jedynie pozornym radiouczulaczem. W tak krótkiej recenzji brak miejsca na dyskusję pełni badań. Myślę jednak, że to właśnie wyjaśnienie braku aktywności SU jest podstawową genezą obecnej pracy doktorskiej. Okazuje się, że obliczenia na poziomie G2MP2 pozostają w zgodzie z wynikami eksperymentu radiolitycznego SU. Podobnie z sukcesem Doktorantka modeluje radiosensybilizację DMSU. W tym przypadku proces degradacji nie różnił się od procesu degradacji SU. W ramach badań Doktorantka bada także potencjał radiosensybilizacyjny jodopochodnych 2'-deoksyurydyny i urydyny. Kolejnym przedmiotem badań są nitroimidazole, tzw. mimetyki tlenu w modelu hipoksji. Ich działanie wciąż nie jest w pełni zrozumiałe. Eksperymenty radiolityczne oraz badania kwantowochemiczne wskazują na możliwość tworzenia trwałego adduktu

rodnika 5-hydroksypirymidynowego z metronidazolem, powstającym w pierwszym etapie postulowanego mechanizmu rodnikowego. Jak pisze Autorka: *analiza kwantowochemiczna kolejnego etapu procesu, związanego z przeniesieniem atomu wodoru z deoksyrybozy na rodnik nitrowy w addukcie pokazała, że jest to etap termodynamicznie niedozwolony, zarówno na poziomie metod DFT jak i G2MP2*. Aby rozstrzygnąć, który z postulowanych mechanizmów molekularnych jest prawidłowy Doktorantka stosuje metodę QSAR oraz analizę PCA, jeden z mechanizmów wykazuje lepsze dopasowanie, w tym zdolność predykcji (Q^2), co zdaniem Autorki sugeruje, że lepiej opisuje on rzeczywiste mechanizmy działania tych związków.

Pracę oceniam bardzo wysoko. Warto podkreślić biegłość Doktorantki w posługiwaniu się skomplikowanymi narzędziami współczesnej chemii kwantowej oraz chemometrii. Prawidłowo stosuje metodykę modelowania QSAR. Praca jest innowacyjną i pomysłową aplikacją tych metod w chemii leków, która skupia się głównie na dopasowywaniu małych cząsteczek efektorów do receptorów (enzymów). Autorka musiała wykazać się dużą pomysłowością w prowadzonych badaniach oraz pomocniczych obliczeniach termodynamicznych i kinetycznych. Praca napisana jest bardzo dobrze. Czyta się ją z dużym zainteresowaniem. Warto podkreślić dobry język i styl tego naukowego tekstu. Wyważona argumentacja to następna zaleta. Wyszukanie nawet pojedynczych błędów typograficznych czy interpunkcyjnych nie jest łatwe. Ponieważ czytałem pracę uważnie, znalazłem na stronie 47 brak przecinka po imiesłowie czynnym (obowiązkowy w języku polskim): jest - Przeprowadzając [...] uwzględniono [...]; powinno być - Przeprowadzając [...], uwzględniono [...]. Moją wątpliwość budzi również pojęcie „elektrofilowego podstawnika” str. 28, w pojęciu podstawnika, który *chętnie* akumuluje ładunek elektronu. W klasycznym znaczeniu taki podstawnik byłby bowiem centrum nukleofilowym. Czy dobrze odczytałem znaczenie tego terminu i czy faktycznie stosuje się go w takim znaczeniu.

Do pracy dołączony jest także wykaz publikacji Doktorantki, z którego wynika, że jest ona w szczególności współautorem rozdziału w monografii oraz 3 artykułów w czasopismach naukowych. O jakości prac decyduje dzisiaj nie tylko liczba publikacji ale także tzw. parametry naukometryczne czasopism, w których są one publikowane. Chociaż taki ogląd jakości prac jest z pewnością sporny, w realiach dzisiejszej stał się on faktem. Brak po prostu innej możliwości w szybkiej i w miarę obiektywnej oceny aktywności zespołów badawczych. W tym aspekcie wszystkie publikacje są 140

punktowe, a ich IF wynoszą 5,9 (IJMS, MDPI) lub 3,0 (J.Phys.Chem B ACS). Osobiście wysoko oceniam ten dorobek. Prace te cytowane już wielokrotnie cytowane (Google Scholar):

Spisz, P., Kozak, W., Chomicz-Mańka, L., Makurat, S., Falkiewicz, K., Sikorski, A., ... & Zdrowowicz, M. (2020). 5-(N-Trifluoromethylcarboxy) aminouracil as a Potential DNA Radiosensitizer and Its Radiochemical Conversion into N-uracil-5-yloxamic Acid. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6352 (6 cytowań)

Arthur-Baidoo, E., Falkiewicz, K., Chomicz-Mańka, L., Czaja, A., Demkowicz, S., Biernacki, K., ... & Denifl, S. (2021). Electron-Induced Decomposition of Uracil-5-yl O-(N, N-dimethylsulfamate): Role of Methylation in Molecular Stability. *International journal of molecular sciences*, 22(5), 2344 (7 cytowań)

Spisz, P., Zdrowowicz, M., Kozak, W., Chomicz-Mańka, L., Falkiewicz, K., Makurat, S., ... & Denifl, S. (2020). Uracil-5-yl O-Sulfamate: An Illusive Radiosensitizer. Pitfalls in Modeling the Radiosensitizing Derivatives of Nucleobases. *The Journal of Physical Chemistry B*, 124(27), 5600-5613 (9 cytowań)

Myślę, że taka analiza dorobku skłania do ciekawych wniosków. W ostatnim czasie wiele miejsca poświęca się dyskusji na temat znaczenia wydawnictw MDPI, którego praktyka wydawnicza jest krytykowana. Chciałbym, żeby w czasie obrony Doktorantka podjęła się obrony MDPI. Poniżej kilka przeciwstawnych argumentów zwolenników i krytyków. Krytycy podkreślają, że MDPI spełniają definicję wydawnictwa drapieżnego (Szczepaniak, *Forum Akademickie*, 11/2022). Czy argument drapieżności spełnia kryterium naukowego miernika jakości czasopisma? Ciekawe, że jako przejaw drapieżności oceniane jest szybkie recenzowanie. Drapieżność to też wysokie opłaty za licencje *open access*. Jednocześnie MDPI to wiele zalet. Wysokie wartości parametrów naukometrycznych (Polanski, *Forum Akademickie*, 9/2022). O jakości prac decyduje dzisiaj nie tylko liczba publikacji ale także tzw. parametry naukometryczne czasopism, w których są one publikowane. Chociaż taki ogląd jakości prac jest z pewnością sporny, w realiach dzisiejszej stał się on faktem. Kochamy proste rankingi. Współczesna nauka to fabryka publikacji. Ocena parametrów naukometrycznych - to szybka oceny aktywności zespołów badawczych. Publikacje w MDPI stanowią ekonomicznie uzasadnioną alternatywę dla krajów gdzie finanse limitują rozwój nauki (Polański, Nie

od razu Liga Mistrzów FA, 9/2022). Kontynuując sportowe analogie nauki, Proń pisze w Przeglądzie: *Prędszej Legia wygra Ligę Mistrzów niż pracujący w kraju polski naukowiec dostanie Nobla z chemii, fizyki czy medycyny* pisze (Przegląd 10.2022; <https://www.tygodnikprzeklad.pl/author/adam-pron/>), gdzie omawia znaczenie efektu, który ja określam jako tworzenie sieci naukowców i interesów, networking. Kontrowersje wokół MDPI ilustrują moim zdaniem walkę na rynku czasopism, gdzie obserwujemy inflację publikacji. Dużej podaży nie towarzyszy wzrost popytu na publikacje w topowych czasopismach. W takiej sytuacji coraz łatwiej zgubić nawet dobre publikacje. Zauważa to Nature. Replikując strategię MDPI (czy faktycznie?), tworzy wiele odmian Nature, np. Nature Biotechn. Redaktorami w tych czasopismach są wyłącznie bardzo młodzi naukowcy, rodowici Brytyjczycy po bardzo dobrych uczelniach brytyjskich. Czemu? Czy koszty *open access* są w rzeczywistości tak duże jeżeli porównamy koszty prenumeraty klasycznych czasopism (Skrendo, FA, 11.2022). Musimy oczywiście wliczyć koszty baz danych, swoistego spisu treści do czasopism. Naukowcy kolekcjonują publikacje jak medale sportowe. Profity to finansowanie grantów rozdzielanych wg rankingów publikacji oraz nowe publikacje. W międzyczasie mimo tych trudności prowadzimy badania naukowe. Im lepszy zespół, organizacja nauki, finanse, tym łatwiej radzimy sobie w kolekcjonowaniu trofeów publikacyjnych. W doborze naturalnym tłumaczy to hipoteza upośledzenia, medale publikacyjne to nasza reklama reprodukcyjnego potencjału (Wiki: Dobór płciowy: https://pl.wikipedia.org/wiki/Dob%C3%B3r_p%C5%82ciowy) memów naukowych. Liczę na atrakcyjną dyskusję w czasie obrony i ciekaw jest jak Doktorantka poradzi sobie w roli adwokata MDPI. Publikując w MDPI, nie ma bowiem innej możliwości.

Praca stanowi studium innowacyjne studium w zakresie chemii leków radisensybilizujących. Autorka posiada biegłą znajomość współczesnych metod chemii kwantowej oraz obliczeń termodynamicznych i kinetycznych oraz modelowania QSAR oraz prawidłowo stosuje metodykę takich badań. W recenzji przedstawiłem powyżej bardzo skrótowo treści recenzowanej pracy. Zakres wykonanych prac budzić musi duży szacunek. Na podkreślenie zasługuje dojrzały sposób opisu wyników. Warto tu dodać, że wyniki pracy pani Falkiewicz zostały opublikowane w artykułach naukowych w czasopismach z listy filadelfijskiej oraz rozdziale książki. Doktorantka jest współautorem czterech publikacji naukowych.

Podsumowując, uważam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim przez ustawę o stopniach i tytułach naukowych, w związku z czym wnoszę o dopuszczenie pani Kariny Falkiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Jarosław Polański