

**Ocena pracy doktorskiej mgr Weroniki Wanat
pt. „Fosfonowe analogi aminokwasów aromatycznych
zawierające w pierścieniu fenylowym atomy fluoru – inhibitory
wybranych enzymów”**

wykonana na wniosek Komisji do Spraw Stopni Naukowych
w dyscyplinie Nauki Chemiczne Politechniki Wrocławskiej

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska powstała w Katedrze Chemii Bioorganicznej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej pod opieką merytoryczną promotora prof. dr. hab. inż. Pawła Kafarskiego oraz w École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier, gdzie w laboratorium prof. Jean-Luc Pirat Doktorantka realizowała część prac z zakresu syntezy fosfonowych analogów aminokwasów. Na rozprawę doktorską składa się pięć – niżej wyszczególnionych – prac oryginalnych, opublikowanych w czasopismach z listy JCR, których łączny współczynnik oddziaływania IF wynosi blisko 18, a punktacja wg MNiSW – 470.

1. Weronika Wanat, Błażej Dziuk, Paweł Kafarski. New crystal structures of fluorinated α -aminophosphonic acid analogues of phenylglycine. *Structural Chemistry*, **2020**, *31*, 1197-1209.
2. Weronika Wanat, Michał Talma, Józef Hurek, Małgorzata Pawełczak, Paweł Kafarski. Substituted phosphonic analogues of phenylglycine as inhibitors of phenylalanine ammonia lyase from potatoes. *Biochemie*, **2018**, *151*, 119-127.
3. Weronika Wanat, Michał Talma, Małgorzata Pawełczak, Paweł Kafarski. Phosphonic acid analogues of phenylglycine as inhibitors of aminopeptidases: comparison of porcine aminopeptidase N, bovine leucine aminopeptidase, tomato acidic leucine aminopeptidase and aminopeptidase from barley seeds. *Pharmaceuticals*, **2019**, *12*, 139.
4. Weronika Wanat, Michał Talma, Błażej Dziuk, Jean-Luc Pirat, Paweł Kafarski. Phosphonic acid analogs of fluorophenylalanines as inhibitors of human and porcine aminopeptidases N: validation of the importance of the substitution of the aromatic ring. *Biomolecules*, **2020**, *10*, 579.
5. Weronika Wanat, Michał Talma, Błażej Dziuk, Paweł Kafarski. Synthesis and inhibitory studies of phosphonic acid analogues of homophenylalanine and phenylalanine towards alanyl aminopeptidases. *Biomolecules*, **2020**, *10*, 1319.

We wszystkich wymienionych publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem, a w trzech dodatkowo pełni rolę autora korespondującego. Prezentowane badania były finansowane przez NCN w ramach projektu OPUS 11 (017/26/M/ST5/00437), którego kierownikiem był Promotor. Rozprawa doktorska mgr Weroniki Wanat, oprócz kopii ww. publikacji, zawiera również 110-cio stronicowy *Autoreferat* (choć termin ten nie został zastosowany), obejmujący w szczególności:

- krótkie streszczenie składających się na nią artykułów (rozdział 4)
- poprzedzone trafnie zredagowanym *Celem pracy* (rozdział 3), w szczególności jednoznacznie wskazującym, że artykuły te stanowią spójny tematycznie cykl (choć stwierdzenie takie formalnie nie pada w treści rozdziału) oraz *Wprowadzeniem* (opartym na dobrze dobranej, obejmującej 184 pozycje literaturze), zgrabnie uzasadniającym wybór tematyki badawczej
- zwięźzione zwięzłym *Podsumowaniem* (rozdział 5) oraz opisem dotychczasowego dorobku naukowego Doktorantki (rozdział 7), który w zasadzie w przypadku rozpraw doktorskich nie jest wymagany.

Rozprawa doktorska napisana jest językiem usytuowanym na poziomie dobrego dyskursu naukowego. Czyta się ją bardzo dobrze, w logicznej kolejności. Praktycznie wolna jest od usterek stylistycznych i technicznych, zaś treści w niej zamieszczone uważam za kompletne i optymalne z punktu widzenia obowiązującej ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

Analizując merytoryczną treść zamieszczonych w rozprawie oświadczeń autorów można zauważyć, że we wszystkich artykułach mgr Wanat realizowała zasadnicze elementy, to jest koncepcję pracy, część syntetyczną oraz enzymatyczną (w tym izolację enzymów), redakcję manuskryptu, opracowanie dyskusji i wniosków oraz korespondencję z wydawnictwem (w trzech artykułach). Udział pozostałych autorów (M. Talma, B. Dziuk, J. Hurek, M. Pawełczak) wydaje się znacznie mniejszy i obejmuje udział w badaniach enzymatycznych oraz dyskusję uzyskanych wyników, wykonanie i interpretację wyników badań rentgenograficznych oraz modelowania molekularnego, zaś wkład prof. Jean-Luc Pirat w zasadzie ogranicza się do opieki merytorycznej w zakresie syntez fluorowanych fosfonowych pochodnych fenyloalaniny. Z kolei udział Promotora rozprawy obejmuje przygotowanie ogólnej koncepcji badań, opiekę merytoryczną, wsparcie podczas przygotowywania manuskryptów oraz pozyskanie środków finansowych na realizację badań ujętych w rozprawie. Jak sam prof. Kafarski podkreśla, „(...) wraz z rozwojem pracy doktorskiej udział Pani mgr Weroniki Wanat stawał się coraz bardziej samodzielny, a w przypadku ostatnich prac polegał głównie na życzliwym komentowaniu wyników badań i pomocy w przygotowaniu manuskryptów.” W rezultacie, ocena efektów udziału Doktorantki w przygotowaniu publikacji jest jednoznaczna i wskazuje na Jej wiodący wkład w ich powstaniu i opublikowaniu.

Aminopeptydazy należą do enzymów z grupy hydrolaz, odpowiedzialnych za odszczepienie N-końcowych reszt aminokwasowych z łańcucha peptydowego. Te cynko-zależne enzymy proteolityczne pełnią kluczową rolę w aktywacji, modyfikacji oraz degradacji protein, jak również katalizują szereg reakcji niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Jak powszechnie wiadomo, aktywność układów proteolitycznych w warunkach fizjologicznych

podlega ścisłej, wielopoziomowej regulacji, zaś zaburzenia stanów równowagi dynamicznej, a w konsekwencji nadmierna aktywacja lub inhibicja procesu proteolizy towarzyszy licznym stanom patologicznym. Na tej podstawie podejmowane są liczne prace badawcze dedykowane poszukiwaniu inhibitorów aminopeptydaz, jako potencjalnych leków, w tym o aktywności m.in. przeciwnowotworowej, przeciwcukrzycowej, przeciwwirusowej, neuro-protেকcyjnej oraz neuroregeneracyjnej. Również intencją przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej jest próba (skuteczna) opracowania nowych syntetycznych inhibitorów aminopeptydaz (LAP, APN) oraz amoniakolizy *L*-fenyloalaniny. Cel ten, zlokalizowany na styku chemii organicznej, biochemii oraz chemii medycznej, mgr Weronika Wanat osiągnęła poprzez realizację następujących zadań badawczych: (i) syntezę trzech serii fluorowanych fosfonowych mimetyków α -aminokwasów aromatycznych; analogów fenyloglicyny, fenyloalaniny oraz homofenyloalaniny, (ii) wyznaczenie ich aktywności inhibicyjnej wobec ww. enzymów, (iii) wyprowadzenie zależności pomiędzy strukturą molekularną a aktywnością inhibicyjną, (iv) poznanie molekularnych podstaw powinowactwa otrzymanych inhibitorów do centrów katalitycznych.

Tym samym, zaprezentowana tematyka, w której zespół profesora Kafarskiego jest bez wątplenia wiodący, jest nie tylko bardzo aktualna ale może mieć również znaczenie aplikacyjne. Czuję się w dużej mierze zwolniona ze szczegółowej oceny merytorycznej przedstawionej rozprawy, ponieważ rozprawa oparta jest na artykułach naukowych opublikowanych we wiodących czasopismach, w których (zwłaszcza obecnie) selekcja oparta jest na rzetelnej analizie merytorycznej dokonanej przez międzynarodowych ekspertów. Dlatego główną trudnością w przygotowaniu niniejszej recenzji był fakt iż nie znalazłam mankamentów merytorycznych. Gdybym starała się (bardzo na siłę) znaleźć jakiś mankament, to byłby to brak podrozdziału dedykowanego charakterystyce, roli biologicznej oraz zastosowaniu amoniakolizy *L*-fenyloalaninowej, w tym jako potencjalnego celu molekularnego dla chemoterapeutyków, tym bardziej, że w toku podjętych badań wyłoniono obiecujące inhibitory o aktywności inhibicyjnej w zakresie niskich kilku- lub kilkunastomolowych stężeń.

Konkludując uważam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa spełnia, a nawet przewyższa wszelkie wymagania określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Dlatego z pełnym przekonaniem wnioskuję do Komisji do Spraw Stopni Naukowych w dyscyplinie Nauki Chemiczne Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie mgr Weroniki Wanat do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponieważ sumaryczny współczynnik oddziaływania IF publikacji stanowiących przedmiot rozprawy wynosi około 18, cykl ten jest bliższy osiągnięciu naukowemu ocenianemu w postępowaniach o nadanie stopnia doktora habilitowanego aniżeli w przypadku doktoratów. Dlatego, o ile spełnione są inne wymogi regulaminowe lub zwyczajowe ustanowione przez Komisję do Spraw Stopni Naukowych w dyscyplinie Nauki Chemiczne Politechniki Wrocławskiej, wnoszę również o wyróżnienie recenzowanej rozprawy.

Weronika Wanat