

Prof. dr hab.
Sylvia Rodziewicz-Motowidło
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański

Gdańsk, 22.08.2025 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Michała Sulika

**pt. „ Synteza i badanie aktywności biologicznej pochodnych związków pochodzenia naturalnego:
iwermektyny i monenzyny”**

Rozprawa doktorska została przygotowana pod kierunkiem prof. dr hab. Adama Huczyńskiego oraz promotora pomocniczego prof. UAM dr hab. Michała Antoszczaka w Zakładzie Chemii Medycznej Wydziału Chemii UAM

Rozwój współczesnej nauki, szczególnie w obszarze chemii medycznej i biotechnologii, zmierza nieustannie ku poszukiwaniu nowych, bardziej skutecznych i selektywnych leków. Rosnąca oporność pasożytów i nowotworów na stosowane dotychczas terapie wymaga od badaczy nie tylko znajomości narzędzi teoretycznych i bioinformatycznych, lecz przede wszystkim doskonałego warsztatu laboratoryjnego, umiejętności planowania pracy badawczej oraz wytrwałości eksperymentalnej. Są to kompetencje, których mimo dynamicznego rozwoju sztucznej inteligencji nie zastąpi dziś żadna maszyna. W tym właśnie aspekcie praca mgr Michała Sulika stanowi wyjątkowy przykład nowoczesnej i wszechstronnej ludzkiej działalności badawczej. Już we wstępie Doktorant przywołuje metaforę „Alicji w Krainie Czarów”, wskazując, że świat współczesnej nauki biegnie w zawrotnym tempie, a badacz – podobnie jak bohaterka Carrolla – musi stale biec, aby pozostać w tym samym miejscu. Porównanie to jest szczególnie trafne: tak jak Alicja, naukowiec porusza się w rzeczywistości pełnej zaskoczeń i nieoczekiwanych zwrotów, a jednocześnie ma odwagę eksplorować nieznanne. W tym kontekście praca Pana Sulika, łącząca elementy chemii organicznej, medycznej i farmakologii, jawi się jako doskonała odpowiedź na wyzwania przyszłości.

Na początku pracy znaleźć można oryginalne podziękowania, które Doktorant przygotował. W szczerzy i osobisty sposób opisuje on drogę od dziecięcej fascynacji nauką do dojrzałości badacza. Taki element, rzadko spotykany w pracach doktorskich, ukazuje nie tylko pasję, ale także dojrzałą świadomość własnej roli w świecie nauki i społeczności akademickiej.

Rozprawa doktorska mgr Michała Sulika posiada układ typowy dla dysertacji eksperymentalnych z zakresu chemii i nauk przyrodniczych, przy czym została przygotowana w formie zwartego cyklu **siedmiu!** publikacji opatrzonych autorskim komentarzem i omówieniem. Całość obejmuje kilkaset stron maszynopisu i jest podzielona na logiczne części. Struktura pracy jest przejrzysta i konsekwentna. Po krótkim wykazie skrótów oraz streszczeniach w języku polskim i angielskim Doktorant przedstawił jasno sformułowane *Cele pracy*. Następnie rozbudowany *Wstęp*, który zawiera zarówno omówienie aktualnego stanu wiedzy, jak i krytyczny przegląd literatury w zakresie naturalnych makrolidów oraz ich znaczenia w poszukiwaniach leków przeciwnowotworowych i przeciwpasożytniczych. Zasadniczą część rozprawy stanowią *Badania własne*, podzielone na dwie wyraźne części: modyfikację chemiczną iwermektyny oraz modyfikację chemiczną monenzyny. Doktorant przedstawił tu zarówno założenia i cele poszczególnych etapów, jak i szczegółowy opis przeprowadzonych syntez, charakterystyki otrzymanych produktów oraz analizę ich aktywności biologicznej. Całość zamykają *Podsumowanie* i *Wnioski*, starannie opracowany *Spis literatury* oraz zestawienie imponujących osiągnięć naukowych Doktoranta, co dodatkowo wzmacnia wartość rozprawy.

Warto zwrócić uwagę, że rozprawa zawiera liczne schematy reakcji oraz kompletne zestawienia tabelaryczne aktywności biologicznej i selektywności badanych związków. Praca została przygotowana bardzo starannie od strony edytorskiej. Tekst jest komunikatywny a całość dysertacji czyta się płynnie i z dużą przyjemnością, co niewątpliwie świadczy o dojrzałości Autora i jego dbałości o formę przekazu naukowego.

Celem rozprawy doktorskiej mgr Michała Sulika było zaprojektowanie, synteza oraz zbadanie aktywności biologicznej nowych pochodnych iwermektyny i monenzyny w kierunku poszukiwania potencjalnych związków przeciwnowotworowych i przeciwpasożytniczych. Doktorant jasno sformułował cele i postawił sobie następujące zadania: selektywnie zmodyfikować iwermektynę (IWR) i monenzynę (MON), scharakteryzować je za pomocą metod fizykochemicznych (NMR, MS, XRD), ocenić zależności SAR oraz profil aktywności i selektywności dla komórek nowotworowych i dla modelowych pasożytów (w tym *Trypanosoma brucei* i *Plasmodium berghei*).

Poniżej krótko omawiam wyniki uzyskane przez Doktoranta w poszczególnych publikacjach stanowiących podstawę dysertacji. Wprowadzenie do cyklu publikacji stanowi praca przeglądowa (**Publikacja I**) dotycząca dotychczas przeprowadzonych badań nad iwermektyną (IWR). Przegląd literaturowy jest napisany w sposób syntetyczny i krytyczny, z bardzo wartościowym rozdziałem o mechanizmach działania i kontekstach terapeutycznych, co świadczy o dojrzałości naukowej Doktoranta. Praca przeglądowa została opublikowana w bardzo dobrym czasopiśmie, tj. *European Journal of Medicinal Chemistry* (IF 6,0; 140 pkt MNiSW; Q1). Publikacja ta spotkała się z bardzo dużym zainteresowaniem społeczności naukowej – do tej pory została odczytana ponad 2138 razy i

doczekała się już 259 cytowań, co jednoznacznie potwierdza jej wpływ na rozwój badań nad iwermektyną i jej pochodnymi. Myślę, że podobny przegląd dotyczący monenzyny (MON) byłby również pożądanym i z pewnością tak samo chętnie byłby czytany i cytowany przez środowisko chemików medycznych.

Publikacje II i III (Publikacja II – *European Journal of Medicinal Chemistry*, IF 6,0; 140 pkt MNiSW; Q1), Publikacja III – *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, IF 4,0; Q2) dotyczą wieloetapowych i precyzyjnych modyfikacji iwermektyny, które zostały zaprojektowane i przeprowadzone przez Doktoranta. Mgr Sulik przeprowadził selektywną funkcjonalizację atomu C13, ochronę grup hydroksylowych oraz epimeryzację węgla C13. Co szczególnie istotne, Doktorant odkrył i opisał nieoczekiwane przegrupowanie heksahydrobenzofuranu, które otworzyło drogę do uzyskania podwójnie modyfikowanych analogów iwermektyny. Było to odkrycie o charakterze przełomowym, świadczące o dużej spostrzegawczości i umiejętności interpretacji wyników. W praktyce mgr Sulik, oprócz klasycznego amidowania (TBTU/CDI/HATU), zastosował także chloroacetylację i koniugację (strategia CDI i trifosgen), a następnie łączył IWR z farmakoforami (np. artezunat), aby zweryfikować hipotezę na temat synergii działania tych związków. Uzyskał bardzo ciekawe wyniki biologiczne, które pokazały, że nieprzegrupowany i przegrupowany amid 2-chloroacetylowy IWR wykazały ~230-krotnie wyższą aktywność *in vitro* wobec pasożytów wywołujących śpiączkę afrykańską niż niemodyfikowana iwermektyna.

Publikacja IV (*ACS Omega*; IF 3,7; 70 pkt MNiSW; Q2) stanowiła kolejną, dobrze zaplanowaną serię badań, w której Doktorant opracował biokoniugaty iwermektyny, wykorzystując kilka komplementarnych strategii syntezy (trifosgen, CDI, DBU). Mgr Sulik wykazał się tutaj umiejętnością łączenia różnych metod chemii „click”, co pozwoliło uzyskać zróżnicowaną bibliotekę hybryd o potencjale biologicznym. Szczególne znaczenie miało powstanie koniugatu IWR–artezunat (IV-16), dla którego uzyskano $GI_{50} = 0,39 \mu M$ wobec *T. b. brucei* oraz bardzo korzystny profil bezpieczeństwa wobec HaCaT ($IC_{50} > 100 \mu M$). Hybryda ta okazała się mniej toksyczna niż mieszanina 1:1 IWR+artezunat, a jednocześnie skuteczna wobec wielu linii nowotworowych (A549, HCT 116), co wskazywało ją jako strukturę wiodącą. Doktorant w tej pracy udowodnił, że podejście hybrydowe nie było jedynie formalnym połączeniem fragmentów strukturalnych, lecz świadomym projektowaniem nowych lekopodobnych cząsteczek o wielokierunkowym działaniu. W publikacji IV mgr Sulik rzetelnie uargumentował wybór strategii syntezy, a wyniki biologiczne potwierdziły trafność jego koncepcji. W mojej ocenie jest to jedna z najlepiej podbudowanych koncepcyjnie i eksperymentalnie prac w całym cyklu rozprawy, pokazująca dojrzałość badawczą Doktoranta i umiejętność przełożenia założeń teoretycznych na rzeczywiste, obiecujące rezultaty.

Publikacje V–VII (Publikacja V – *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, IF 4,0; 140 pkt MNiSW; Q2; Publikacja VI – *Journal of Organic Chemistry*, IF 4,4; 140 pkt MNiSW; Q1; Publikacja

VII – *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, IF 3,5; 70 pkt MNIŚW; Q2) stanowią drugą zasadniczą część rozprawy poświęconą modyfikacjom monenzyny. Obejmują one opracowanie nowych strategii syntezy, w tym otrzymanie fosfonowych soli monenzyny celujących w mitochondria, optymalne przejście od pseudocykliów do makrocyclicznych pochodnych oraz chemiczne modyfikacje prowadzące do silnych związków o aktywności przeciwmalarycznej. Wszystkie te prace dowodzą wysokich kompetencji Doktoranta w zakresie chemii bioorganicznej i dostarczają unikalnych wyników o istotnym znaczeniu aplikacyjnym. Mgr Sulik opracował i przeprowadził syntezę hybryd MON–TPP⁺ (kation trifenylofosfoniowy), które kierowały związek do mitochondriów. Zsyntetyzował także serię 12 biokoniugatów fosfoniowych i udowodnił, że obniżały one potencjał błonowy mitochondriów (test JC-10), zaburzały procesy oddechowe (Oxygraph 2k) i działały antyproliferacyjnie – często skuteczniej niż dokсорubicyna, a przy tym wykazywały mniejszą cytotoksyczność wobec komórek referencyjnych HaCaT.

Drugim ważnym osiągnięciem tego cyklu badań było opracowanie pochodnych C26 azydru i C26 aminy monenzyny, co otworzyło dostęp do nowych klas związków: amidów, moczników oraz makrocykli. Mgr Sulik nie tylko je zsyntetyzował, ale również poddał dogłębnej analizie strukturalnej (XRD) i funkcjonalnej. Uzyskane makrocykle kompleksowały jony pierwszej i drugiej grupy, wykazując wyraźne uprzywilejowanie jonów sodu, a także potencjał do pełnienia roli receptorów par jonowych. Na podstawie danych rentgenostrukturalnych Doktorant wykazał, że analogi VII-4 i VII-5 krystalizowały jako kompleksy sodowe w różnych grupach przestrzennych (R3:H i P2₁2₁2₁), natomiast uretan VII-8 w grupie P1. Analiza ta potwierdziła podobieństwa motywów wiązań wodorowych przy istotnych różnicach symetrii krystalicznej. Ta część pracy doktorskiej pokazała również, że zarówno niemodyfikowana monenzyna (IC₅₀ ~5,5 nM), jak i liczne pochodne przewyższały aktywnością lek referencyjny prymachinę. Pochodna uretanowa VII-8 osiągnęła IC₅₀ = 0,7 nM i SI > 4000. Jest to wynik zarówno znaczący merytorycznie, jak i niezwykle obiecujący aplikacyjnie.

Wszystkie publikacje (I-VII) składające się na rozprawę doktorską zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych i poddane szczegółowej recenzji międzynarodowych ekspertów, dlatego też niezwykle trudno jest doszukać się w nich istotnych uchybień czy niedociągnięć merytorycznych. Poniżej przedstawiam kilka pytań które nasunęły mi się podczas lektury recenzowanej dysertacji:

- (1) W części pracy dotyczącej iwermektyny Doktorant pokazuje koniugat IWR–artezunat IV-16 i jego przewagę nad mieszaniną 1:1 (s. 42). Jak można wytłumaczyć mechanistycznie tę różnicę? Czy synergii należy szukać w farmakokinetyce wewnątrzkomórkowej, czy raczej we wspólnym kotwiczeniu w miejscach docelowych liganda/dów?

(2) W rozdziale „Modyfikacja chemiczna monenzyny” Doktorant zestawiał warunki i reagenty do modyfikacji C1/C26 (Schemat 3, s. 43). Które z etapów były najbardziej wrażliwe na skalowanie i jakimi kryteriami kierował się Doktorant przy wyborze aktywatorów amidowania (HATU/EDC/HOBt vs CDI)?

(3) Nowa reakcja przegrupowania heksahydrobenzofuranu IWR to jeden z najważniejszych i ciekawych wyników pracy. Czy Doktorant próbował wychwycić produkty pośrednie (np. NMR niskotemperaturowy, pułapki nukleofilowe), aby rozrysować pełną ścieżkę reakcji?

(4) W części krystalograficznej makrocykli Doktorant pokazał różne grupy przestrzenne dla związków VII-4/VII-5/VII-8. Czy widać korelacje między geometrią supramolekularną a preferencją kompleksowania Na^+ i selektywnością biologiczną?

(5) Uretan VII-8 osiąga $\text{IC}_{50} = 0,7 \text{ nM}$ i $\text{SI} > 4000$. Czy Doktorant dysponuje danymi symulacji metabolicznej *in silico*, które uzasadniałyby wybór tego analogu do wczesnych badań *in vivo*?

(6) Doktorant akcentuje kompleksowanie metali przez makrocykle. Czy planowane są pomiary ilościowe (ITC, NMR) i modelowanie wiązania soli w układach konkurencyjnych (Na^+/K^+ , bufor)?

(7) Skoro hybrydy MON-TPP⁺ wykazują mitochondrialny „targeting” i obiecujące wyniki wobec linii opornych (LoVo/DX), czy Doktorant rozważa testy synergii z inhibitorami łańcucha oddechowego lub modyfikację długości łącznika fosfoniowego jako „fine tuning” penetracji?

(8) Jestem również ciekawa, jakie są wyniki stażu, podczas którego Doktorant dokował pochodne iwermektyny do konkretnych celów molekularnych. Opis interakcji ligand-białko można by wzmocnić wizualizacjami miejsc wiązania.

(9) W kilku miejscach (np. opis SAR) można by poszerzyć analizę o elementy ilościowe z użyciem deskryptorów molekularnych (TPSA, logP), choć jakościowo Doktorant taką analizę przeprowadził.

(10) Przy tak imponujących wynikach kilku struktur wiodących, czy naturalnym kolejnym krokiem badawczym będzie zaplanowanie badań *in vivo* oraz weryfikacja stabilności metabolicznej i parametrów farmakokinetycznych?

(11) W rozprawie doktorskiej dokonano rzetelnej, klasycznej analizy SAR, ale brakuje jej formalizacji statystycznej. Z uwagi na wysoki potencjał strukturalny i dostępność danych, badane związki idealnie nadają się do zastosowania nowoczesnych narzędzi AI i chemoinformatyki. Zastosowanie modeli QSAR i AI pozwoliłoby nie tylko uzupełnić analizę, ale również wygenerować hipotezy do kolejnych syntez – zwiększając trafność projektowania. W mojej opinii warto rozważyć połączenie obecnego podejścia eksperymentalnego z predykcyjnym modelowaniem ML.

Warto zaznaczyć, że Doktorant realizował swoje badania we współpracy z licznymi ośrodkami w kraju i za granicą. Na poziomie krajowym istotna była współpraca z zespołem prof. Marty Strugi z Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, gdzie prowadzone były badania aktywności biologicznej nowych pochodnych. Współprace zagraniczne obejmowały m.in. prace z dr. Dietmarem

Steverdingiem z University of East Anglia (Wielka Brytania) w zakresie badań przeciwpasożytniczych, z grupą prof. Miguela Prudêncio z Lizbony w badaniach przeciwmalarycznych, z prof. Hiroki Ogurim z Uniwersytetu Tokijskiego (Japonia) nad syntezą wspomaganą enzymatycznie oraz z prof. Jackiem Tuszyńskim z Politechniki Turyńskiej (Włochy) nad badaniami dokowania molekularnego. Współprace te zaowocowały licznymi publikacjami oraz znacznym poszerzeniem zakresu badań, nadając rozprawie wyraźny wymiar międzynarodowy.

Na szczególne podkreślenie zasługuje imponujący dorobek naukowy Doktoranta, który na etapie pracy doktorskiej zgromadził osiągnięcia przewyższające często wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego. Michał Sulik jest współautorem **17 publikacji naukowych**, z czego **7** zostało włączonych do cyklu rozprawy doktorskiej – obejmują one jedną pracę przeglądową oraz sześć artykułów oryginalnych opublikowanych w czasopiśmie o wysokim współczynniku wpływu. Wyniki badań były wielokrotnie prezentowane na forum naukowym – Doktorant wziął czynny udział w **22 konferencjach krajowych i międzynarodowych**, występując zarówno z prezentacjami ustnymi, jak i posterami. Dorobek Michała Sulika obejmuje także **zgłoszenie patentowe**, co podkreśla potencjał aplikacyjny jego badań.

Warto również zaznaczyć, że Doktorant pełnił rolę kierownika prestiżowego *Diamentowego Grantu MNiSW*, w ramach którego prowadził badania nad pochodnymi iwermektyny. Ponadto był wykonawcą w dwóch innych projektach badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki, co pozwoliło mu zdobyć doświadczenie w pracy zespołowej i realizacji dużych projektów badawczych. Tak duże osiągnięcia jednoznacznie dowodzą nie tylko samodzielności i dojrzałości naukowej p. Michała Sulika, ale także jego silnej pozycji w środowisku badawczym pomimo młodego wieku.

Podsumowując osiągnięcia naukowe, projekty, publikacje, konferencje i nagrody Doktoranta są imponujące zarówno jakościowo, jak i ilościowo, a wnikliwie zebrane parametry bibliometryczne potwierdzają rangę jego dorobku. Rozprawa doktorska mgr Michała Sulika podejmuje niezwykle aktualną i ważną tematykę poszukiwania nowych leków przeciwnowotworowych i przeciwpasożytniczych. Praca stanowi znaczący wkład w rozwój chemii bioorganicznej i farmakologii, łącząc syntezę nowych pochodnych iwermektyny i monenzyny z ich wszechstronną oceną biologiczną. Wszystkie cele zostały w pełni zrealizowane, a dysertacja zawiera bogaty materiał doświadczalny i wartościową analizę SAR. Doktorant wykazał się wysokimi kompetencjami badawczymi, a jego rozprawa wnosi istotną nową wartość naukową.

Biorąc pod uwagę powyższe fakty, stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa spełnia ustawowe i zwyczajowe kryteria stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z wymaganiami artykułu 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2022 r., poz. 574 z późn. zm.). W związku z tym wnoszę do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza o dopuszczenie mgr Michała Sulika do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.

Ponadto, mając na względzie wyjątkowy wkład rozprawy mgr Michała Sulika w uzyskanie nowych, oryginalnych w skali światowej wyników badań, zwracam się do Wysokiej Rady z wnioskiem o jej wyróżnienie. Dysertacja ta zasługuje na szczególne docenienie ze względu na innowacyjne podejście do chemicznej modyfikacji naturalnych makrolidów, umiejętne połączenie metod syntezy organicznej z badaniami biologicznymi i analizą zależności struktura–aktywność (SAR), a także znaczący potencjał aplikacyjny w kontekście poszukiwań nowych terapii przeciwnowotworowych i przeciwpasożytniczych. Do najważniejszych osiągnięć należy odkrycie nowej reakcji przegrupowania w cząsteczce iwermektyny, które otworzyło drogę do serii unikalnych analogów, a także opracowanie oryginalnych szlaków syntezy pochodnych monenzyny prowadzących do związków o interesujących właściwościach strukturalnych i biologicznych. Szczególnie cenne okazały się wyniki badań aktywności biologicznej, które jednoznacznie wskazały przewagę i wysoką selektywność nowych pochodnych w stosunku do związków wyjściowych. Rezultaty te nie tylko imponują poziomem innowacyjności, lecz także dostarczają wartościowych wskazówek projektowych dla dalszych badań nad makrolidami. Warto również podkreślić, że imponujące osiągnięcia Doktoranta są wspierane zarówno grantem „Diamentowym”, którego był kierownikiem, jak i licznymi publikacjami naukowymi w czasopismach o wysokiej randze i dużym wpływie w skali międzynarodowej.

