

Prof. dr hab. inż. Wiesław Szeja
Politechnika Śląska w Gliwicach
Wydział Chemiczny
Katedra Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii
Ul. Bolesława Krzywoustego 4
44-100 Gliwice
emerytowany profesor zwyczajny
tel. 604535256
email wieslaw.szeja@adres.pl

Recenzja rozprawy habilitacyjnej doktora Henryka Myszkii pt. „Synteza, ustalenie budowy i badania właściwości biologicznych glikozaminydów diosgeniny”

Niniejszą recenzję wykonałem jako recenzent Komisji habilitacyjnej powołanej decyzją Centralnej Komisji ds. Stopni i Tytułów w celu przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego dr Henryka Myszkii. Ocenę osiągnięcia naukowego oraz istotnej aktywności naukowej Habilitanta przeprowadziłam zgodnie z obowiązującymi uregulowaniami prawnymi (art. 16 ust. 3 Ustawy), tj. Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. Recenzję wykonałam w oparciu o cykl publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, autoreferat oraz zestaw załączonych dokumentów, w tym oświadczeń współautorów.

I. Rozwój naukowy i zawodowy dr Henryka Myszkii

Pan Henryk Myszka w roku 1982 ukończył studia wyższe na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii–Uniwersytetu Gdańskiego uzyskując stopień magistra. Następnie, w tej samej Uczelni po uzyskaniu dyplomu magistra podjął studia doktoranckie. W ramach pracy doktorskiej pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Zygryda Smiatacza prowadził badania nad glikozylacją chemiczną pirazoli i hydroksy aminokwasów. W roku 1987 przedstawił na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii–Uniwersytetu Gdańskiego rozprawę doktorską pt. „Budowa i właściwości produktów reakcji chlorków O-acetylo-2-deoksy-2-nitrozo-D-glikopiranozyli z pirazolem i pochodnymi hydroksyaminokwasów” – promotor, prof. dr hab. Zygryd Smiatacz, i uzyskał stopień naukowy doktora nauk chemicznych. Po uzyskaniu stopnia naukowego dr Myszka został zatrudniony na etacie asystenta a następnie adiunkta w swojej macierzystej Uczelni w Instytucie Chemii. W roku 2010 został zatrudniony na etacie starszego wykładowcy na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, gdzie pracuje obecnie. W latach 1989-1991 odbył staż naukowy w Instytucie Farmakologii Uniwersytetu Tennessee w Memphis (USA).

Od początku kariery zawodowej zainteresowania Habilitanta skupiały się głównie na badaniach w zakresie chemii związków naturalnych, z szczególnym akcentem na właściwości chemiczne i aktywność biologiczną złożonych pochodnych węglowodanów. Uzyskane doświadczenia przedstawił w serii publikacji w czasopismach z tzw. listy JCR oraz dwu patentów. Jednym z kierunków zainteresowań dr Myszkii jest aplikacja glikozydów diosgeniny jako substancji czynnych o potencjalnym zastosowaniu w terapii chorób nowotworowych i infekcji bakteryjnych. Wyniki tych prac zostały wysoko ocenione przez Rektora Uniwersytetu Gdańskiego oraz Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego i zespół realizujący badania uzyskał nagrody I stopnia w 1996, 2012, 2017 roku. Dr Myszka uzyskał nagrodę indywidualną 2 stopnia Rektora UG, za osiągnięcia naukowe (2009 rok).

Habilitant uczestniczył w realizacji uczelnianych projektów badawczych:

„Synteza chlorowodoru 3-O-(2-amino-2-deoksy-β-D-glukopiranozylo-) diosgeniny i badania jego antynowotworowych właściwości”(2000-2001);

„Synteza glikopeptydów zawierających 3-O-D-glikopiranozylo-L-serynę” (rok 2002)

„Synteza pochodnych chlorowodoru 3-O-(2-amino-2-deoksy-β-D-glukopiranozylo)diosgeniny i badania ich właściwości przeciwdrobnoustrojowych” (2006);

„Synteza i właściwości biologiczne wybranych glikozydów diosgenyłu” (2008).

Uczestniczył w jednym z zadań naukowo-badawczych w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007-2013 działanie 1.1 /Poddziałanie 1.1.2 na badania naukowe pt. „Synteza chlorowodorku O3 -(2-amino-2-deoksy-β-D-glukopiranozylo)diosgeniny i jego wybranych pochodnych oraz badania ich właściwości przeciwnowotworowych, przeciwbakteryjnych oraz przeciwgrzybiczych”. Habilitant nie kierował projektami realizowanymi z środków NCN i NCBiR.

Habilitant dał się poznać nie tylko jako pracownik naukowy, ale również jako organizator życia akademickiego o czym świadczy udział w pracach Senatu jako przedstawiciel pomocniczych pracowników nauki Senacie UG (2008-2016). Dr Myszkowski pełnił szereg funkcji organizacyjnych na Wydziale Chemii:

- Prodziekan ds. Studenckich na Wydziale Chemii (2002-2008)
- członek Rady Wydziału Chemii (1993-2016)
- członek Uczelnianej Komisji Rekrutacyjnej (2002-2012) –
- członek Zespołu Audytorów wewnętrznych Wydziału Chemii (2013-2016) –
- członek Rady Programowej Kierunku Chemia (2012 + -
- opiekun Naukowego Koła Chemików (2008
- koordynator wydziałowy systemu plagiat. pl (2013 +

Działalność dr Myszkowskiego na tym polu została wysoko oceniona i nagrodzona kilkakrotnie przez Rektora Uniwersytetu.

W mojej ocenie kariera zawodowa dr Myszkowskiego rozwijała się prawidłowo. Habilitant miał szczęście brać udział w działalności naukowej w zakresie syntetycznej chemii węglowodanów w zespole kierowanym przez Prof. Smiatacza. Ten okres pracy naukowej owocuje szeregiem publikacji zamieszczonych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Z tego okresu pochodzi też tematyka rozwijana przez dr Myszkowską ukierunkowana na syntezę i badania właściwości biologicznych glikozydów pochodnych wybranych saponin. Po odbyciu stażu w Instytucie Farmakologii Uniwersytetu Tennessee w Memphis (USA) dr Myszkowski z powodzeniem wykazał się umiejętnością prowadzenia badań naukowych w zespołach interdyscyplinarnych rozszerzając współpracę z ośrodkami zagranicznymi. Aktywnie uczestniczył w organizacji procesu nauczania w macierzystej Uczelni oraz prowadził działalność organizacyjną. Bardzo czasowo absorbujące funkcje pełnione na Uczelni i Wydziale ograniczyły możliwości rozszerzenia badań w ramach interdyscyplinarnej współpracy naukowej i przygotowania międzynarodowych projektów badawczych. Uważam, że ten znaczący zakres obowiązków nałożonych na Habilitanta wpłynął ujemnie na poziom osiągnięć naukowych stanowiącym podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

II. Ocena osiągnięcia naukowego dr Henryka Myszkowskiego

II.1. Ocena osiągnięcia naukowego pod względem formalnym

Podstawę osiągnięcia naukowo-badawczego dr Henryka Myszkowskiego pt „Synteza, ustalenie budowy i badania właściwości biologicznych glikozaminydów w diosgenyłu” stanowi zestaw 8 prac oryginalnych (według załączonej listy pozycje H-01 ÷ H-04 i H-07 ÷ H-10 IF 16,259-17,401) opublikowanych w czasopismach o zasięgu światowym (z listy JCR) takich jak: Carbohydrate Research (3x); Magn. Reson. Chem.; J. Med. Microbiology; Beilstein J. Org. Chem.(2x); Med. Chem oraz dwu prac przeglądowych opublikowanych w czasopiśmie Wiadomości Chemiczne, Prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego powstały w latach 2000-2018, a więc stanowią wieloletni dorobek Habilitanta. Jak na wieloletni okres prowadzonych badań dorobek przedstawiony w postaci publikacji oceniam jako skromny. W przypadku ocenianego osiągnięcia, łączny IF czasopism wynosi 16.259 punktów co daje niezbyt wysoką średnią (1,63 pkt IF) na publikację. Nie zamieszczono liczby cytowań poszczególnych prac wchodzących w zakres osiągnięcia naukowo-badawczego. W czterech z prac o zasięgu międzynarodowym włączonych do ocenianego osiągnięcia naukowego Habilitant jest pierwszym autorem, a w dwu drugim, przy czym w sześciu publikacjach pełnił funkcję autora do korespondencji jako współautor, są to prace wieloautorskie. Według oświadczenia autora jego wkład w większości prac polegał na zaplanowaniu prac badawczych, wykonaniu doświadczeń w tym określeniu właściwości fizykochemicznych, interpretacji wyników oraz napisaniu manuskryptu. Po analizie przedstawionych publikacji i oświadczeń współautorów proszę o przedstawienie prac

doktorskich realizowanych pod opieką dr Myszkii. Uważam, że należy ocenić w jakim stopniu wyniki przedstawione przez Habilitanta w recenzowanym osiągnięciu korespondują z wynikami doktoratu w którym był pomocniczym promotorem.

Z zestawienia tego wynika, że Habilitant miał wiodący udział w badaniach opisanych w załączonych publikacjach o zasięgu międzynarodowym. W dokumentacji znajdują się pisemne oświadczenia współautorów wszystkich publikacji, deklarujące zakres prac wykonanych przez danego współautora potwierdzające udziały oszacowane przez Habilitanta w poszczególnych pracach.

Stwierdzam, że pod względem formalnym przedstawiony do oceny dorobek dr Henryka Myszkii zdefiniowany jako osiągnięcie naukowe, jest relatywnie niewielki i moim zdaniem nie spełnia w pełni ustawowe warunki o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

II.2. Ocena osiągnięcia pod względem merytorycznym

Glycobiologia jest przedmiotem intensywnych prac obejmujących współczesne kierunki badań nauk biologicznych. Przesłanką do intensywnych badań są dane eksperymentalne wskazujące, że glikokoniugaty połączenia węglowodanów z lipidami, białkami, steroidami są najliczniejszymi i najbardziej zróżnicowanymi molekułami w przyrodzie. Ze względu na ich wysoce specyficzne interakcje z receptorami fizjologicznymi uczestniczą w wielu kluczowych procesach biologicznych. Wraz z rozwojem wiedzy na temat roli glikokoniugatów w rozwoju wielu chorób, glikobiologia staje się coraz bardziej przedmiotem zainteresowania firm farmaceutycznych i biotechnologicznych. Przykładowo węglowodany mają ogromne znaczenie w rozpoznawaniu międzykomórkowym, procesach infekcji bakteryjnych i wirusowych procesach zapalnych. Nowotwory, angiogeneza, naprawa tkanek, rozwój szkieletu, choroby układu krążenia, zakażenia drobnoustrojami i wiele innych procesów chorobowych odbywa się z udziałem pochodnych węglowodanów. Wszystkie te procesy są potencjalnymi celami interwencji terapeutycznej, a leki oparte na węglowodanach są szybko przejmowane przez współczesną biotechnologię i przemysł farmaceutyczny. Celem przy projektowaniu i syntezie proleków o strukturze cukier- naturalny związek biologicznie aktywny jest uzyskanie molekuł o ulepszonych funkcjach biologicznych. Leki na bazie węglowodanów wydają się bezpieczne i specyficzne. Są mniejsze niż białka, po odpowiedniej funkcjonalizacji są aktywne w procesie selektywnego przeniesienia do wybranych komórek organizmu. Zgodnie z przewidywaniami, zapotrzebowanie na produkcję terapeutycznych glikokoniugatów wkrótce przekroczy obecne możliwości badawcze, więc oczekuje się, że w niedalekiej przyszłości przemysł farmaceutyczny znacznie zwiększy środki na badania podstawowe których celem jest między innymi poszerzenie wiedzy o biologicznych mechanizmach zachodzących z udziałem węglowodanów. Główną reakcją, wokół której obracają się wszystkie projekty syntetyczne na tym obszarze, i która koncentruje się na tej perspektywie, jest tworzenie wiązań glikozydowych. Kowalencyjnie łączone cząsteczki leku z nośnikami węglowodanowymi odnotowano ponad 60 lat temu. Od tego czasu pojawiły się obszerne raporty dotyczące koniugacji (lub utworzenia wiązania kowalencyjnego), głównie w celu poprawy farmakokinetyki i farmakodynamiki leków. Węglowodany zwiększają rozpuszczalność w wodzie hydrofobowego leku co ułatwia proces dostarczania leku. Po wprowadzeniu do docelowej komórki uwalnianie leku połączonego z cukrem wiązaniem glikozydowym może być zrealizowane z udziałem mechanizmów takich jak kwasowość (pH) lub hydroliza się za pomocą określonych enzymów. Koniugacja zwiększa również kontrolę uwalniania (podtrzymywaną lub ukierunkowaną) i farmakokinetyczną (biodostępność leku, okres półtrwania w osoczu, degradacja, biodystrybucja, akumulacja, metabolizm i eliminacja). Sprzężone z monosacharydami analogi wielu leków zaprojektowane w celu poprawy rozpuszczalności w wodzie, stabilności w surowicy i selektywnej dystrybucji opisano w literaturze chemicznej od wczesnych lat 90-tych. Obecnie ten kierunek badań nad nowymi lekami jest przedmiotem licznych prac realizowanych w czołowych ośrodkach w świecie. Celem tego przydługiego wstępu jest utwierdzenie Habilitanta, że tematyka przedstawiona do oceny jest ważna i mieści się w współczesnym nurcie prac w ramach glikobiologii.

Zainteresowania Habilitanta połączeniami monosacharyd - związek biologicznie aktywny datują się od rozprawy doktorskiej, „Budowa i właściwości produktów reakcji chlorków O-acetylo-2-deoksy-2-nitro-D-glikopiranozyli z pirazolem i pochodnymi hydroksy aminokwasów” realizowanej pod kierunkiem prof. dr hab. Zygryda Smiatacza. Celem pracy było opracowanie metodologii uzyskania

biologicznie aktywnych koniugatów w reakcji glikozylacji. Wykorzystując zdobytą wtedy wiedzę i metodykę badań, w kolejnych pracach Habilitant rozszerzył tematykę prac i ukierunkował na określenie możliwości wytwarzania glikokoniugatów do zastosowań biomedycznych. W w serii publikacji przedstawił metody syntezy glikokoniugatów w których 2-deoksy-2-amino-D-gluko- oraz D-galaktopiranozę połączono z diosgenylem wiązaniem β -glikozydowym. Wybór związku naturalnego, saponiny, akceptora w reakcji glikozylacji nie jest przypadkowy. Popularność omawianych związków wynika przede wszystkim z ich aktywności biologicznej. Przeprowadzone na zwierzętach badania dowiodły, że saponiny hamują proces osadzania się lipidów w ścianie aorty, spowalniają produkcję cukrów, protein, lipidów i kwasów żółciowych w wątrobie, poza tym są dobrymi środkami przeciwrzybiczymi, przeciwbakteryjnymi oraz posiadają właściwości przeciwnowotworowe. Saponiny diosgeniny stanowią najliczniejszą i bardzo ważną biologicznie grupę saponin spirostanowych. Duże znaczenie ma również sam aglikon – diosgenina, wykorzystywana przede wszystkim jako podstawowy surowiec w syntezie hormonów steroidowych stosowanych jako leki, m.in. progesteronu, kortyzolu, kortyzonu. Saponiny diosgeniny są grupą ważnych biologicznie i farmakologicznie związków, których izolowanie ze źródeł naturalnych, synteza i badanie aktywności chemicznej stanowi wciąż wyzwanie dla chemików. Dlatego alternatywą dla tych metod izolacji jest synteza chemiczna. Fragment hydrofobowy tych związków stanowi diosgenina a część hydrofilowa składa się z mono- lub oligosacharydu. Monosacharyd, który najczęściej bezpośrednio połączony jest wiązaniem O-glikozydowym z diosgeniną to β -D-glukopiranoza. Do niej wiązaniem glikozydowym (1-2), (1-3) lub (1-4) dołączone są inne jednostki cukrowe. Literatura na temat właściwości leczniczych tego typu połączeń jest bardzo obszerna. W naturalnym środowisku, jak do tej pory, nie znaleziono saponin spirostanowych zawierających reszty D-glukozaminy. Habilitant założył że wymiana typowej dla saponin reszty D-glukozy na resztę D-glukozaminy może wpłynąć korzystnie na właściwości glikozydu, a poprzez funkcjonalizację grupy aminowej uzyska się ciekawe, potencjalnie aktywne pochodne. Założenie to moim zdaniem jest bardzo ogólne. Dr Myszką nie przedstawił oczekiwanych korzystnych efektów terapeutycznych jakie uzyska się syntezując proleki zawierające w swojej strukturze 2-deoksy-2-amino-D-glukopiranozę, w miejsce D-glukozy obecnej w produktach naturalnych. Habilitant nie określił jaki jest cel molekularny projektowanych glikozydów i nie przedstawił argumentów wskazujących że projektowana funkcjonalizacja grupy aminowej cukru w prowadzi do uzyskania aktywnych biologicznie pochodnych. Jak zaznaczyłem w przydługim wstępie określenie mechanizmu działania glikokoniugatów pochodnych farmakofora, jest jednocześnie punktem wyjścia do projektowania analogów naturalnych związków biologicznie aktywnych.

Opisano szereg wariantów otrzymywania glikozydów saponin, i omówiono w licznych publikacjach przeglądowych. Współautorem jednej z nich opublikowanej w Wiadomościach Chemicznych jest Dr Myszką (praca oznaczona H-06). Na podstawie studiów literaturowych Habilitant wytypował konwencjonalne metody glikozylacji i zastosował w reakcji otrzymywania pochodnych diosgeniny. Substratem w opisanych syntezach były donory glikozydowe zawierające grupę dobrze odchodzącą przy węglu anomerycznym oraz zabezpieczoną grupę aminową. W literaturze przedmiotu omówiono szereg wariantów wprowadzania i usuwania grup zabezpieczających funkcję aminową. Współautorem jednej z nich opublikowanej w Wiadomościach Chemicznych jest Dr Myszką (praca oznaczona H-05). Na podstawie studiów literaturowych Habilitant wytypował konwencjonalne metody syntezy donorów glikozydowych zawierających zabezpieczoną grupę aminową. Adaptując znane w literaturze sekwencje reakcji polegających na założeniu osłony p-metoksybenzylidenowej na grupę aminową, acetylowaniu, usunięciu osłony benzylidenowej, wprowadzeniu osłony trifluoroacetylowej na grupę aminową i bromowaniu związku przejściowego przy użyciu $TiBr_4$ otrzymano bromek 3,4,6-tri-O-acetylo-2-deoksy-2-trifluoroacetamido- α -D-glukopiranozyliu [H-01]. W pracy [H-01] opisano kondensację bromków otrzymanych bromków glikozydowych z diosgeniną, według zmodyfikowanej metody Koenigs-Knorr wybijając jako promotor reakcji triflan srebra. Zastosowanie tej procedury gwarantowało uzyskanie glikozydu o konfiguracji β , a więc analogicznej do występującej w saponinach naturalnych. Jak można było oczekiwać prowadząc glikozylację zgodnie z sprawdzonymi procedurami dr Myszką uzyskał glikozydy z przewidywaną stereoselektywnością. Produktami reakcji donorów, bromków glikozydowych z diosgeniną są odpowiednie glikozydy otrzymane z umiarkowaną wydajnością (~65%). Kolejne etapy wieloetapowej syntezy w tym odbezpieczania grup hydroksylowych i grupy aminowej przeprowadzono zgodnie z znanymi, wydajnymi procedurami.

Konkludując dr Myszka przedstawił syntezę glikozydów diosgeniny, w których reszta D-glukozaminy połączona jest z diosgeniną (Publikacje oznaczone jako H-01, H-03, H-07, H-10). Moim zdaniem metoda Koenigsa-Knorra nie jest dobrym rozwiązaniem w syntezie potencjalnych leków, z uwagi na stosowanie jako promotora soli srebra. Normy na obecność metali ciężkich w preparatach stosowanych w badaniach biomedycznych są tak wygórowane, że spełnienie norm na obecność metali ciężkich wymaga stosowania bardzo pracochłonnych i kosztownych procedur.

Otrzymane D-glikozaminozydy diosgenyłu poddano szeregu modyfikacjom, otrzymując ich pochodne N-acylowe, 2-ureidowe, N-alkilowe oraz N,N-dialkilowe. (Publikacje oznaczone jako H-03, H-08, H-09, H-10). Prowadząc znane reakcje grupy aminowej otrzymano pochodne 2-fenylomocznika w bezpośredniej reakcji związku oznaczonego w autoreferacie jako **12** z izocyjanianem fenylu (H-03) Z kolei N-acetylową (**16**) i N-trifluoroacetylową pochodną uzyskano w reakcji acetylowania saponiny **12** odpowiednim bezwodnikiem w metanolu lub pirydynie (H-03). Habilitant nie przedstawił przesłanek dlaczego wybrał te związki do badań ich aktywności przeciwnowotworowej. Dla kilku otrzymanych związków wykonano badania aktywności przeciwnowotworowej w celu określenia ich samodzielnego wpływu oraz w terapii kombinowanej z 2-chlorodeoksyadenozyną (2-CdA, kładrybina) na indukowanie apoptozy i nekrozy w komórkach nowotworowych pochodzących od pacjentów chorych na przewlekłą białaczkę limfatyczną B-komórkową (PBL-B) (H-03). Wyniki badań wskazują na bardzo heterogeniczną populację pacjentów, nie wykazano zależności między aktywnością biologiczną i terapeutyczną skutecznością testowanych połączeń. Zdaniem autorów pracy badane saponiny prawdopodobnie ułatwiają wnikanie leku do wnętrza komórki nowotworowej. Wniosek jest czysto spekulatywny, nie poparty dowodami. Wiązanie glikozydowe jest podatne na hydrolizę enzymatyczną, i moim zdaniem błędem metodycznym jest nie podjęcie badań stabilności uzyskanych proleków. We współpracy z Uniwersytetem Politechnicznym w Ankonie (Włochy) powstała w 2011 r. praca [H-04], opisująca wyniki badań *in vitro* i *in vivo* cytotoksyczności chlorowodoru 2-amino-2-deoksy- β -D-glukopiranozydu diosgenyłu (**14**) wobec komórek nowotworowych raka płuc człowieka A549 i nie stwierdzono aktywności w odniesieniu do komórek tej linii.

Bardzo dobre rezultaty badań *in vitro* oraz *in vivo* uzyskano dla chlorowodoru oznaczonego jako **14**. Wykazano jego hamujący wpływ na wzrost bakterii G+, w tym opornych na działanie innych antybiotyków. Zgadza się z wnioskiem Habilitanta że tego typu połączenia mogą znaleźć zastosowanie jako środki przeciwbakteryjne. Również interakcje tej saponiny z wankomycyną i daptomycyną sugerują, że saponina **14** to obiecujący kandydat do dalszych badań i do poszukiwania pochodnych bądź biokoniuugatów. Potwierdzenie tego wniosku wymaga realizacji szerokiego programu badań *in vivo*.

W kolejnej swojej pracy [H-09] składającej się na osiągnięcie habilitacyjne dr Myszka opisał aktywność chlorowodoru **14**, oraz N,N-dialkilowych pochodnych o krótkich łańcuchach alkilowych wobec szpitalnych szczepów grzybów *non-albicans Candida*. Mam kilka uwag do badań przedstawionych w publikacji oznaczonej jako H-09. Szczepy referencyjne grzybów zostały pobrane od pacjentów cierpiących na grzybicę pochwy, skóry i ust. W omówionych badaniach jako związki wzorcowe stosowano ogólnodostępne środki przeciwgrzybicze, w tym antybiotyki, m.in. amfoterycynę B, klotrimazol, flukonazol, itraconazol, natamycynę i nystatynę [H-09]. Część eksperymentalna pracy nie zawiera danych wskazujących na rodzaj chemioterapii pacjentów od których pobrano próbki szczepów, co mogło mieć wpływ na lekooporność testowanych szczepów grzybów. W części eksperymentalnej opisano badania aktywności otrzymanych saponin w odniesieniu do kilku szczepów grzybów: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus niger*. Preparaty podawano w postaci roztworu w DMSO. Nie określono jakie było stężenie preparatu w DMSO w kolejnych eksperymentach. W badaniach *in vitro* DMSO ma wpływ na transport molekuł do komórki. Nie podano rozpuszczalności preparatów w buforze fosforanowym stosowanym do rozcieńczenia próbki, nie określono pH buforu co miało wpływ na właściwości fizykochemiczne preparatów.. Moim zdaniem jako odnośnik należało zastosować diosgeninę, celowe było moim zdaniem określenie stabilności stosowanych preparatów w warunkach eksperymentów. Nie można wykluczyć hydrolizy wiązania glikozydowego prowadzącego do glukozaminy lub jej pochodnych oraz diosgeniny.

Niemniej, aktualny stan możliwości wyboru opcji terapeutycznych oraz otrzymane wyniki zachęcają do kontynuowania badań nad steroidowymi saponinami i ich ewentualnego zastosowania jako przyszłych środków antymikotycznych, szczególnie do infekcji powodowanych przez gatunek *C. glabrata*, charakteryzowany jako szczep bardzo szybko zyskujący lekooporność. Badania aktywności

biologicznej testowanych związków wymagają ich kontynuowania, zapewne z użyciem większej liczby klinicznych izolatów.

W kolejnej pracy [H-10], składającej się na osiągnięcie habilitacyjne, przedstawiono syntezę glikokoniugatu zawierającego D-galaktozaminę połączoną wiązaniem glikozydowym z diosgeniną. Zastosowane procedury syntezy D-galaktozaminozydów diosgenyłu były zbliżone do opisanych wcześniej dla saponin z resztą D-glukozydaminy, tj. reakcja z HCl/MeOH, acetylowanie odpowiednim bezwodnikiem w metanolu lub pirydynie, reakcja z komercyjnie dostępnymi izocyjanianami etylu, 2-chloroetylu i fenyłu oraz redukcyjne aminowanie (reakcja z acetaldehydem lub propanalem i następująca po niej redukcja NaBH₃CN). Cukry te różnią się wyłącznie konfiguracją atomu węgla C-4 i celem badań biologicznych było określenie jak konfiguracja wpływa na właściwości tego rodzaju saponin. Zmiana konfiguracji atomu węgla C-4 w pierścieniu cukrowym niekorzystnie wpłynęła na aktywność chlorowodorku **53** w porównaniu z jego odpowiednikiem D-gluko.

Analiza zależności między budową a biologiczną aktywnością prezentowanych pochodnych 2-amino-2-deoksy-β-D-galaktopiranozydu diosgenyłu pokazuje, że N-alkilowanie funkcji aminowej wydaje się być najkorzystniejszym sposobem modyfikacji. Wprowadzenie etylowej dwóch etylowych lub dwóch propylowych grup alkilowych znacznie poprawia właściwości grzybobójcze saponin serii D-galakto w porównaniu z chlorowodorkiem i pozostałymi pochodnymi.

Przegląd kluczowych publikacji w których dr Myszką jest współautorem wskazuje, że przez kolejne lata Habilitant konsekwentnie dążył do poszerzenia puli związków pochodnych diosgeniny o potencjalnym działaniu biologicznym projektując i syntezując kolejne glikokoniugaty. Z sukcesem współpracował z zespołami dążąc do weryfikacji projektowanych struktur w kontekście ich aktywności biologicznej. Osiągnięcie naukowe zostało szczegółowo omówione w Autoreferacie. Uzyskane wyniki badań aktywności biologicznej to efekt współpracy z zespołami biologów, i rodzi się pytanie czy rola Habilitanta to przygotowanie preparatów do badań, czy też miał decydujący wpływ na planowane eksperymenty. Habilitant przedstawił także dalsze plany naukowe, oparte na współpracy, zarówno z krajowymi jak i zagranicznymi ośrodkami akademickimi, jak i z firmami przemysłowymi. Jej celem jest uzyskanie biblioteki pochodnych biologicznie aktywnych związków naturalnych. Pewnym ograniczeniem w proponowanym bardzo skrótowym projekcie badań jest brak definicji celów terapeutycznych dla projektowanych molekuł.

Przeprowadzone badania mają wybitnie interdyscyplinarny charakter. Poza syntezą chemiczną glikozydów diosgeniny osiągnięcie naukowe zawiera badania biologiczne pozwalające na potencjalne zastosowanie otrzymanych związków w terapii. Habilitant demonstruje umiejętność współpracy z licznymi zespołami, wspomagających dr Myszkę badaniami w obszarze nauk biologicznych i medycznych. Aby w sposób obiektywny ocenić udział Habilitanta w realizacji projektu, potrzebna jest pełna ocena wyników badań zamieszczonych w autoreferacie i dysertacjach doktorskich omawiających wyniki badań syntezy glikozydów, pochodnych saponin. Badania biologiczne zostały wykonane i opracowane przez specjalistów z wykorzystaniem molekuł syntezowanych z udziałem dr Myszki. Aby w sposób obiektywny ocenić udział Habilitanta w planowaniu i realizacji badań biomedycznych oczekuję komentarza doktora Myszki w trakcie obrad Komisji.

III. Ocena dorobku naukowego dr inż. Henryka Myszki

Całkowity dorobek publikacyjny Habilitanta to sumaryczna liczba publikacji 32 (ΣIF = 48,448) w tym z listy JCR 24 (ΣIF = 48,448), sumaryczna liczba cytowań 204. bez autocytowań 163. średnia liczba cytowań 8,514 w tym prac z listy JCR, o łącznym IF 31,821 punktu oraz 3 prace (2 o charakterze przeglądowym i 1 oryginalna) w czasopismach spoza listy JCR. Najbardziej wartościowe z tych prac, to opublikowane w Carbohydrate Research (3 prace) Beilstein J. Org. Chem. (2 prace), Magn. Reson. Chem., Journal of Medical Microbiology, oraz Medical Chemistry. Pozostałe dwie prace opublikowane zostały w czasopiśmie Wiadomości Chemiczne (brak IF). Niestety, Habilitant nie zamieścił liczby cytowań prac stanowiących osiągnięcie naukowe. Uzupełnieniem dorobku dr Myszki są 2 polskie patenty z znaczącym udziałem Habilitanta: patent 323801. H. Myszką, Z. Smiatacz, W. Kaca i A. Zaborowski Nowa syntetyczna pochodna O-glikozydu diosgeniny. patent 323802 [H.

Myszka, Z. Smiatacz, W. Kaca i A. Zaborowski, Nowy syntetyczny O-glikozyd diosgeniny. W patentach chronione są wyniki badań opublikowanych w czasopismach. Dorobek patentowy wskazuje na podjęcie starań w celu komercjalizacji materiałów wytworzonych przy udziale Habilitanta, nie przedstawiono efektów tych działań. W dorobku Habilitanta znajduje się także wykład i kilka komunikatów ustnych oraz szereg plakatów przedstawionych na konferencjach zagranicznych i krajowych. Nie znalazłem informacji, o prezentacji wyników w postaci wykładów na konferencjach międzynarodowych, co jest istotną miarą osiągnięć na drodze do samodzielnej kariery naukowej.

IV. Ocena dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego i współpracy międzynarodowej dr Henryka Myszk

Dr inż. Henryk Myszka jako pracownik dydaktyczno-naukowy Politechniki Gdańskiej ma znaczący dorobek dydaktyczny obejmujący uczestnictwo w programach europejskich oraz krajowych:

1. MNiSW POKL 4.1.2. (2009-2012) PRO-GOS – Uniwersytet Gdański promotorem zasobów nowoczesnej gospodarki - zwiększanie liczby absolwentów kierunków przyrodniczych i ścisłych. Kierownik zadania nr 7 (wsparcie kierunku Ochrona Środowiska).
2. NCBiR POKL (2012-2015) – Zwiększenie aktywności studentów MWB UG i GUMed w działaniach poprawiających atrakcyjność absolwentów na rynku pracy. Nauczyciel akademicki prowadzący zajęcia w projekcie.
3. Regionalny Program Operacyjny Województwa Pomorskiego na lata 2014-2020 – „Zdolni z Pomorza - Uniwersytet Gdański” – Koordynator programu na Wydziale Chemii UG.

Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki.

Skrypty akademickie:

1. L. Chmurzyński, E. Gleich, H. Myszka, M. Nesterowicz, K. Smiatacz, T. Widernik - Obliczenia z chemii ogólnej - Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2007.
2. L. Chmurzyński, A. Chylewska, M. Czaja, E. Gleich, D. Jacewicz, J. Makowska, M. Makowski, H. Myszka, M. Nesterowicz, E. Styczeń, G. Wawrzyniak, D. Wyrzykowski - Ćwiczenia laboratoryjne z chemii ogólnej. I Część teoretyczna - Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2011.
3. L. Chmurzyński, A. Chylewska, M. Czaja, E. Gleich, Jacewicz, J. Makowska, M. Makowski, H. Myszka, M. Nesterowicz, E. Styczeń, G. Wawrzyniak, D. Wyrzykowski - Ćwiczenia laboratoryjne z chemii ogólnej. I Część doświadczalna - Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2011.
4. L. Chmurzyński, A. Dąbrowska, M. Makowski, H. Myszka, M. Nesterowicz, D. Wyrzykowski - Ćwiczenia laboratoryjne z chemii nieorganicznej - Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2011.
5. A. Dąbrowska, H. Myszka - Ćwiczenia audytoryjne z chemii ogólnej i nieorganicznej - skrypt elektroniczny, Gdańsk 2014, ISBN 978-83-941194-3-0.

Udział w popularyzacji nauki:

- przygotowywanie, koordynowanie i prowadzenie warsztatów chemicznych dla uczniów gimnazjów i liceów (2015 r. →
- wykłady i warsztaty chemiczne podczas dorocznych Bałtyckich Festiwali Nauki (2011÷2015 i 2017 r.);
- prowadzenie warsztatów chemicznych w Uniwersalnej Strefie Nauki - Galeria Bałtycka (Gdańsk, II 2016 r.);
- warsztaty chemiczne, Kociewski Festiwal Nauki (Starogard Gd., X 2016 r.);
- prowadzenie warsztatów chemicznych Akademia Młodych Odkrywców - Chemia od kuchni - Galeria Auchan (Rumia 2016, 2017 i 2018 r.);
- prowadzenie warsztatów chemicznych w projekcie Uniwersytet Lubię To ! Zespół Szkół Technicznych (Grudziądz, 25.10.2018 r.).

Prowadzone wykłady: Chemia ogólna (kierunek chemia); Chemia ogólna i nieorganiczna kierunek bioinformatyka); Podstawy chemii (kierunek biologia medyczna); Podstawy chemii (kierunek przyroda); Chemia nieorganiczna (kierunek przyroda); Chemia ogólna i analityczna (kierunek biologia); Chemia ogólna (kierunek agrochemia); Chemia ogólna i nieorganiczna (kierunek ochrona środowiska).

Inne prowadzone zajęcia dydaktyczne:

Ćwiczenia audytoryjne i laboratoryjne na różnych kierunkach studiów; pracownia dyplomowa; pracownia specjalizacyjna i pracownia magisterska.

Dr Myszkowski sprawował opiekę naukową jako promotor 14 prac licencjackich na kierunku CHEMIA (w latach 2014-2018), był promotorem 26 prac magisterskich na kierunku CHEMIA (w latach 1993-2018). Dr inż. Henryk Myszkowski był promotorem pomocniczym w pracy doktorskiej mgr Darii Grzywacz - opieka naukowa od roku 2013 Tytuł rozprawy doktorskiej – „Synteza i właściwości N-acylowych pochodnych 2-amino-2-deoksy-β-D- glukopiranozydu diosgenyłu”.

Aktywnie uczestniczy w działalności organizacyjnej Uczelni:

- Prodziekan ds. Studenckich na Wydziale Chemii (2002-2008) –
- członek Rady Wydziału Chemii (1993-2016) –
- przedstawiciel adiunktów w Senacie UG (2008-2016)
- członek Uczelnianej Komisji Rekrutacyjnej (2002-2012)
- członek Zespołu Auditorów Wewnętrznych Wydziału Chemii (2013-2016)
- członek Rady Programowej Kierunku Chemia (2012 +
- opiekun Naukowego Koła Chemików (2008 -
- koordynator wydziałowy systemu plagiat.pl (2013 +

V. Wniosek końcowy

Jestem pełen uznania dla wkładu pracy doktora Henryka Myszkowskiego w działalność organizacyjną na rzecz Wydziału i Uniwersytetu Gdańskiego. Wysoko oceniam jego zaangażowanie w realizację obowiązków dydaktycznych oraz popularyzację wyników badań z zakresu nauk chemicznych.

Jak przedstawiłem powyżej badania zawarte w ocenianym osiągnięciu naukowym prezentują aktualną i nowoczesną tematykę naukową. Niemniej dorobek naukowy Habilitanta pod względem ilościowym, jest moim zdaniem nieadekwatny do wymagań stawianym kandydatom do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego. Analizując publikacje stanowiące jądro osiągnięcia naukowego mam wątpliwości w jakim stopniu są samodzielnym wynikiem Habilitanta. Moje wątpliwości pojawiły się po zapoznaniu z tematami prac doktorskich Doroty Bednarczyk „Synteza, budowa i właściwości biologiczne wybranych pochodnych diosgeniny” oraz Darii Grzywacz „Synteza i właściwości N-acylowych pochodnych 2-amino-2-deoksy-β-D-glukopiranozydu diosgenyłu”.

Omówione w autoreferacie wyniki badań biologicznych nie wskazują na kierowniczą rolę dr Myszkowskiego w realizacji tych eksperymentów. Przedstawiona w autoreferacie planowana tematyka badawcza jest omówiona bardzo skrótowo i nie mogę dokonać oceny tego projektu. Popierając wniosek dr inż. Henryka Myszkowskiego o dopuszczenie do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego końcową opinię dołączę do protokołu posiedzenia Komisji po uzyskaniu wyjaśnień.

Gliwice, dnia 30 kwiecień 2019 r.

Wiesław Szeja

