



Politechnika Łódzka

Instytut Techniki Radiacyjnej

Profesor dr habil. Piotr Paneth

2023-05-18

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Michała Glanowskiego zatytułowanej

Modelowanie mechanizmu reakcji bakteryjnych dehydrogenaz ketosteroidowych – katalizatorów do modyfikacji leków steroidowych

Rozprawa doktorska mgr Michała Glanowskiego powstała w Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni Polskiej Akademii Nauk pod bezpośrednim kierunkiem profesora dra hab. Macieja Szałeńca. Ze względu na charakter przeprowadzonych badań i ich ukierunkowanie na rozwój farmaceutyków (jak i zapewne z powodu wymogów projektu InterDokMed), drugim patronem naukowym rozprawy jest prof. dr hab. Andrzej Bojarski z Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk. Tak doskonały tandem promotorów, oparcie rozprawy o artykuły naukowe (wybrane z dłuższej listy współautorstwa Doktoranta) opublikowane w bardzo dobrych czasopismach naukowych, oraz pozyskanie środków NCN na wsparcie opisanych badań w zasadzie stanowią gwarancję jej wysokiego poziomu naukowego co ułatwia pracę recenzenta (choć nie zwalnia jej/go z wnikliwości).

Zgodnie z tytułem, Doktorant współuczestniczył w rozległych badaniach mechanizmów procesów enzymatycznej dehydrogenacji wybranych pochodnych sterydowych. Jego rola w tym zespołowym przedsięwzięciu polegała na przeprowadzeniu badań teoretycznych za pomocą zróżnicowanych technik obliczeniowych, od symulacji MD poczynając a na obliczeniach QM/MM kończąc. Pod względem formalnym przedstawiona do recenzji rozprawa jest zorganizowana w tak zwanym formacie „spinki” czterech artykułów poprzedzonych bardzo rozległym (około 50. stronicowym) wstępem. Wstęp ten napisany jest bardzo klarownie z minimalną (przynajmniej wykrytą przeze mnie) liczbą błędów redakcyjnych. W większości są one nieistotne dla zrozumienia pracy. Jedynie niekonsekwentne wykorzystanie symboliki obliczeń hybrydowych wprowadza pewne zamieszanie u czytelnika. Rozdział Metody QM:MM lepiej było nazwać Metody QM/MM zgodnie z pierwotnym sformułowaniem. Zapis QM:MM jest tradycyjnie używany w jej odmianie ONIOM (wprowadzonej przez prof. Morokumę i zaimplementowanej np. w pakiecie Gaussian). Niestety nawet ta symbolika nie jest w pełni systematycznie stosowana w dalszej części. Pierwszy z załączonych artykułów stanowi swego rodzaju kompendium metodologii prowadzenia badań obliczeniowych, które później mgr Glanowski wykorzystuje w teoretycznych badaniach mechanistycznych. Jest to bardzo przydatny materiał, choć niestety ograniczony tylko do technik i programów wykorzystywanych przez Doktoranta.

Kończąc ocenę formalną rozprawy pragnę wyrazić mój sprzeciw względem nazywania trzydniowego pobytu w innym ośrodku stażem naukowym – mam nadzieję, że jest to wynik jednej z nielicznych w rozprawie „literówek”.



90-924 Łódź, ul. Żeromskiego 116

tel. 042 631 31 99, 042 631 31 88, fax: 042 636 50 08, www.mitr.p.lodz.pl, paneth@p.lodz.pl



Politechnika Łódzka

Instytut Techniki Radiacyjnej

Profesor dr habil. Piotr Paneth
recenzja *Modelowanie mechanizmu...*
strona 2

Moja merytoryczna ocena pracy jest bardzo wysoka. W trzech publikacjach rozpatrywane są mechanizmy dehydrogenacji katalizowane przez dwa enzymy o różnym pochodzeniu i różnej specyficzności. Badania za pomocą metod obliczeniowych, za które odpowiedzialny był Doktorant, obejmują dokowanie reagentów do enzymów, symulacje za pomocą dynamiki molekularnej, obliczenia ścieżek reakcji dla alternatywnych mechanizmów metodami kwantowymi i hybrydowymi, oraz obliczenia efektów izotopowych. Ze wszystkich tych zadań mgr Glanowski wywiązał się poprawnie w ramach ogólnie przyjętych metodologii dostarczając nie tylko **wsparcie** teoretyczne dla interpretacji obserwacji doświadczalnych, ale także wzbogacając bazę badanych teoretycznie układów enzymatycznych, co jest niezbędnym elementem oceny stosowalności różnych metodologii obliczeniowych. Ta wiedza jest niezbędna, gdyż współczesne moce obliczeniowe dalekie są od poziomu, przy którym można by przeprowadzić obliczenia nie wzbudzające żadnych wątpliwości.

Choć przedstawione wyniki są bardzo interesujące, mam dwie wątpliwości dotyczące metodologii obliczeń:

- metoda spline wymaga założenia a priori poprawności ścieżki reakcji uzyskanej na poziomie wykorzystującym parametryzację półempiryczną i jedynie koryguje jej energetykę ale nie strukturę. Ze względu na znaczne uproszczenia teoretyczne, wynikowy mechanizm reakcji (w sensie strukturalnym) uzyskany przy wykorzystaniu różnych parametryzacji może być znacząco różny (porównaj rysunek 4 w [10.1021/cs501704f](https://doi.org/10.1021/cs501704f)). Badania opisane w rozprawie oparto na wynikach uzyskanych za pomocą AM1. Na jakiej podstawie wybrano akurat tę parametryzację?
- przy tak wysokim stopniu kompleksowania badanych związków z solubilizatorem powstaje pytanie czy dokowanie indywidualnych cząsteczek ligandów do enzymu jest poprawnym modelem, na którym można opierać dalszą analizę strukturalną i energetyczną. Dokowanie niekowalencyjnych kompleksów jest trudne, głównie ze względu na bardzo ograniczoną liczbę służących temu zagadnieniu narzędzi. Niemniej, nasze ostatnie badania ([10.3390/ijms23147705](https://doi.org/10.3390/ijms23147705)) pokazują, że taka kompleksacja może znacząco wpływać na uzyskiwane wyniki.

Czy są to wątpliwości natury polemicznej co do interpretacji wyników czy też znacząco rzutująca na końcowe konkluzje zależy od wyjaśnień, które mam nadzieję uda mi się uzyskać podczas obrony, a które być może wynikają z moich przeoczeń podczas studiowania rozprawy.

Kończąc analizę merytorycznej strony rozprawy mam również sugestię dotyczącą niewykorzystanej w przedstawionych badaniach metodologii, która być może mogłaby dostarczyć dodatkowego argumentu na korzyść któregoś z mechanizmów, a mianowicie tzw. metody Proton Inventory. Jest ona dość prosta do wykonania choć wymaga wysokiej precyzji w pomiarach kinetycznych.





Politechnika Łódzka

Instytut Techniki Radiacyjnej

Profesor dr habil. Piotr Paneth
recenzja *Modelowanie mechanizmu...*
strona 3

Ponieważ każde badania z wykorzystaniem modeli układu realnego oraz przybliżonego aparatu fizycznego i matematycznego prowadzą do rozwiązań będących jedynie oszacowaniami, ważne jest żeby zdawać sobie sprawę z charakteryzujących je niepewności. W połączeniu ze wskazanymi powyżej wątpliwościami związanymi z procedurą oceny wiązania ligandów z enzymami oraz wyznaczaniem ścieżki reakcji uważam, że należy (zarówno ogólnie jak i w szczególnym przypadku niniejszej rozprawy) unikać kategorięcznych sformułowań typu „udowodnienie na drodze symulacji komputerowych”, „weryfikacja metodami kwantowymi” itp. Powyżej przez pogrubioną czcionkę starałem się podkreślić, że uzyskana zgodność wyników obliczeniowych z doświadczalnymi stanowi argument w dyskusji naukowej ale nie dowód.

Konkludując uważam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia z nadatkiem wszelkie wymagania określone w Ustawie o tytule i stopniach naukowych i wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Katalizy i Fizykochemii Powierzchni Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie mgr Michała Głanowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zaprezentowana w rozprawie tematyka jest bardzo aktualna i ma duże znaczenie zarówno teoretyczne jak i może prowadzić do opracowania praktycznego w zakresie poszukiwania nowych leków. Doktorant wykorzystał bogatą paletę narzędzi chemii obliczeniowej umiejętnie dobierając poziomy teorii do analizowanego fragmentu badań. Wykazał się biegłością w prowadzeniu analizy uzyskanych wyników, które zostały opublikowane w bardzo dobrych czasopismach naukowych. Powyższe argumenty skłaniają mnie do zaproponowania Wysokiej Radzie wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Michała Głanowskiego.

