

**Ocena pracy doktorskiej mgr inż. Wiktorii Jedwabny
pt. „Analysis of the interactions in protein binding sites
as a tool aiding inhibitory activity prediction”**

wykonana na wniosek Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej

Konkluzja

Artykuł 13 znowelizowanej ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. z późniejszymi zmianami stanowią odpowiednio:

- rozprawa doktorska powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego (...) oraz wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej (...) oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej (...)
- rozprawa doktorska może mieć formę maszynopisu książki, książki wydanej lub spójnego tematycznie zbioru rozdziałów w książkach wydanych (...)
- za zgodą rady jednostki przeprowadzającej przewód, rozprawa doktorska może być przedstawiona w języku innym niż polski
- rozprawa doktorska powinna być opatrzona streszczeniem w języku angielskim, a rozprawa doktorska przygotowana w języku obcym również streszczeniem w języku polskim.

Na podstawie analizy rozprawy mgr inż. Wiktorii Jedwabny uważam, że **spełnia ona z naddatkiem kryteria ustawowe**. Swój wniosek uzasadniam i rozwijam w dalszej części recenzji.

Cel, założenia i konstrukcja dysertacji

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska powstała w Katedrze Inżynierii i Modelowania Materiałów Zaawansowanych, pod opieką merytoryczną promotora prof. dr. hab. W. Andrzeja Sokalskiego oraz promotora pomocniczego dr Edyty Dygudy-Kazimierowicz. Rozprawa składa się z pięciu rozdziałów, przy czym jej główna część, stanowiąca wkład Doktorantki do nauki, obejmuje rozdziały trzeci i czwarty. Rozdziały te poprzedza przedstawienie celu rozprawy oraz zwięzłe wprowadzenie, które nakreśla tło podejmowanej

tematyki oraz wprowadza główne pojęcia, wykaz figur, tabel oraz stosowanych skrótów, streszczenie w języku angielskim i polskim oraz spis treści. Rozprawę zamyka podsumowanie, cztery załączniki prezentujące szczegółowe wyniki oraz spis literatury cytowanej w rozprawie obejmujący aż 369 pozycji, w tym 14 odnośników z ostatniego roku, a nawet dwa opublikowane w roku bieżącym, co przy zakończeniu redakcji rozprawy na początku kwietnia dobitnie świadczy o wnikliwości Doktorantki i zaangażowaniu w realizowane badania. Całość rozprawy zajmuje 152 strony.

Cel rozprawy doktorskiej mgr inż. Wiktorii Jedwabny lokalizuje się na styku chemii medycznej i teoretycznej i dedykowany jest opracowaniu możliwie prostego i uniwersalnego, nieempirycznego modelu prognostycznego opartego o dalekozasięgowe składowe energii oddziaływania do oszacowań aktywności inhibicyjnej ligandów, w oparciu o analizę fizycznej natury wiązania białko-ligand z użyciem metod opartych na mechanice kwantowej. Temat rozprawy niesłychanie ważny i priorytetowy – o praktycznych walorach metod komputerowego wspomaganie projektowania leków nie trzeba dziś nikogo przekonywać.

Ponieważ dysertacja jest dostępna do wglądu publicznego w uczelnianej bibliotece, pozwolę sobie pominąć zwyczajowe streszczenie poszczególnych rozdziałów rozprawy i jedynie wypowiem się bardzo ogólnie na temat jej całości. Rozprawa napisana jest językiem usytuowanym na poziomie bardzo dobrego dyskursu naukowego i stanowi przykład przejrzystego, gruntownie przemyślanego i dobrze zredagowanego studium, wolnego od zbędnego wodolejstwa. Pomocne w lekturze jest klarowne wprowadzenie i streszczenie, pełniące jednocześnie funkcję podsumowującą wnioski płynące ze zrealizowanych badań, jak również starannie wykonana szata graficzna. W szczególności rozdział 2. *Theoretical background* zasługuje na szczególne uznanie bowiem, niestety, polskie rozprawy sprawiają zbyt często wrażenie przypadkowo ustrukturyzowanych w tym zakresie. Rozprawę czyta się bardzo dobrze, w logicznej kolejności, od ogółu do szczegółu, bez wrażenia nagromadzenia wszystkich wyników w jednym miejscu. Walidację i weryfikację opracowanego modelu MED, w tym dobór systemów białko-ligand, uważam za kompletne i optymalne zarówno z punktu widzenia postawionego problemu badawczego, jak i walorów praktycznych natomiast lektura części dyskusyjnej wyników badań własnych nie pozostawia wątpliwości, że Doktorantka posiada bardzo dobrą wiedzę ogólną, znajomość podjętej tematyki, a także zdolność analitycznego myślenia. Dyskusja wyników prowadzona jest bowiem w sposób uporządkowany, a prezentowane wywody są logiczne i spójne. Powyższe sprawia, że formalną stronę rozprawy mgr inż. Wiktorii Jedwabny oceniam bardzo wysoko. Co prawda nie ustrzegła się Doktorantka drobnych błędów edytorskich, co jest rzeczą naturalną w pisemnej wypowiedzi tych rozmiarów, jednakże w moim odczuciu nie zasługiwały one na

wzmiankę w zasadniczej części recenzji. Zaznaczałam je odręcznie w otrzymanym egzemplarzu rozprawy, który prześlę Doktorantce. Krytyczne spostrzeżenie, jakie nasunęło mi się po wstępnej, pobieżnej lekturze dotyczyło konstrukcji tytułu rozprawy: „*Analysis of the interactions in protein binding sites as a tool aiding inhibitory activity prediction*”. W moim przekonaniu tytuł rozprawy niezbyt szczęśliwie dobrany; nieco mylący, nieco za ogólny, nieoddający istoty poruszanego zagadnienia. Mój niedosyt budzi również brak osobistego, krytycznego odniesienia Autorki do dostępnych w literaturze przedmiotu przykładów błędnych opisów analiz oddziaływań inhibitorów, w tym w szczególności halogenowych związków organicznych o udokumentowanej aktywności terapeutycznej, w centrach wiążących białek. Myślę, że lektura takiego rozdziału byłaby bardzo przydatna i pouczająca dla specjalistów z dziedziny chemii medycznej, w tym w szczególności dla kreślącej te słowa.

Merytoryczna ocena rozprawy (uwagi krytyczne)

Jako recenzent mam obowiązek zgłoszenia również uwag krytycznych. Będąc chemikiem „nieteoretykiem” mam jednak ograniczoną możliwość krytycznego ustosunkowania się do zaawansowanego aparatu obliczeniowego (metoda MED) zaproponowanego w rozprawie. Okiem niefachowca w tym zakresie aparat ten wygląda logicznie, a fakt iż rozprawa powstała w zespole Prof. Sokalskiego, niekwestionowanego światowego lidera w zakresie analizy indywidualnych komponentów energetycznych oddziaływań chemicznych wystarcza mi za gwarancję ich poprawności. Jednak jako praktyk mam kilka spostrzeżeń związanych z analizą uzyskanych wyników. Po pierwsze, Doktorantka bardzo często (co zapewne wynika z faktu, że taki argument pada w kolejnych publikacjach, na których oparta jest rozprawa) odwołuje się do nieparametrycznego charakteru swojej metody. Niewątpliwie umiejętność przewidywania bez wstępnej parametryzacji aktywności inhibicyjnej (czy szerzej biologicznej) jest ogromnym atutem. Niemniej jednak należy zwrócić uwagę, że MED zastosowany został do póź wybranych wcześniej za pomocą metod empirycznych; więc nie jest całkowicie wolny od empiryzmu. Również parametry składowej dyspersyjnej dobrane zostały parametrycznie (choć oczywiście mają one w zamierzeniu być uniwersalne). Po drugie, pomimo znaczącej oszczędności czasu w stosunku do obliczeń MP2, zaproponowana metoda jest ciągle znacznie bardziej czasochłonna niż metody parametryczne. Pozostaje do rozstrzygnięcia czy uniwersalność metody MED kompensuje czas poszukiwania adekwatnej metody parametrycznej. Biorąc pod uwagę, że komercyjne poszukiwanie związków wiodących (w przeciwieństwie do badań akademickich) opiera się często na bibliotekach zawierających miliony związków chemicznych, spowolnienie nawet o rząd czasu obliczeń wyklucza daną metodę. Oczywiście przy obecnym tempie wzrostu mocy obliczeniowych ta ułomność może, nawet w dość nieodległej przyszłości, okazać się nieaktualna i stąd rozwój takich metod jest ze wszech miar zasadny, tym bardziej, że dają one szansę zrozumienia fizycznych detali

oddziaływać. W tym zakresie mam jeszcze wątpliwość związaną z wyborem metod parametrycznych, do których porównane zostały wyniki uzyskane za pomocą metody MED. Jakkolwiek porównywanie metod parametrycznych, ze względu na mnogość ich odmian i ograniczony zakres opublikowanych badań porównawczych, jest możliwe praktycznie jedynie jakościowo, to wśród wykorzystanych w rozprawie zabrakło mi jednej z bardziej skutecznych, a mianowicie FlexX. Zestawienie podane przez Dawida Younga (Computational Drug Design, Wiley 2009) pokazuje, że dokowanie przy użyciu tej metody było jak do tej pory znacząco skuteczniejsze niż użyte w rozprawie dokowania z wykorzystaniem PMF, LUDI, ChemScore czy Glide. Mam również pytanie ogólne związane zarówno z metodami parametrycznymi, jak i nieparametrycznymi, które w większości ograniczają model receptora (białka) do najbliższego sąsiedztwa liganda (inhibitora), zwykle aminokwasów wyścielających wnękę wiążącą. Wiadomo, że wiązania elektrostatyczne są oddziaływaniami dalekozasięgowymi. Zaproponowana metoda wydaje się idealnie nadawać do zbadania wpływu (nieco) odleglejszych części enzymu na energię wiązania. Czy takie badania były przez Doktorantkę przeprowadzone na którymś z badanych lub innym układzie modelowym? W końcu, w moim przekonaniu nie dość stanowczo zostało wyartykułowane ograniczenie proponowanej metody w stosunku do wiązania we wnękę allosterycznej, w której składowa entropowa stanowi znaczący wkład w mechanizm inhibicji.

W dysertacji zabrakło mi również odpowiedzi na dwa nurtujące pytania podsumowujące sformułowane powyżej uwagi, mianowicie: (i) czy model MED pozwolił rzucić światło na dotychczas nierozpoznane efekty w molekularnych mechanizmach oddziaływań inhibitorów z białkami pozostającymi w kręgu zainteresowań Autorki? (ii) czy w oparciu o model MED zostały opracowane nowe inhibitory o obiecującym potencjale leczniczym? (iii) czy model MED może zostać uznany za przydatny do rutynowych badań przesiewowych *in silico*? O odniesienie się do tych pytań poproszę Doktorantkę podczas publicznej obrony.

Wskazane powyżej zastrzeżenia i przemyślenia mają charakter czysto polemiczny i nieumniejszający osiągnięć Doktorantki. Niewątpliwie poszukiwanie metod racjonalizujących oddziaływanie międzycząsteczkowe w ujęciu ligand-receptor są przyszłością projektowania leków. Możliwość bezpośredniego zastosowania proponowanej metody w odniesieniu do inhibitorów oddziaływań białko-białko, czy związków zawierających brom lub jod stanowi już teraz znaczącą przewagę nad dostępnymi metodami wykorzystywanymi w empirycznym dokowaniu. Prawdopodobnie zachowa ją również w odniesieniu do racjonalnego projektowania inhibitorów będących analogami stanów przejściowych, gdy biblioteka tych ostatnich dla reakcji katalizowanych enzymatycznie stanie się dostatecznie bogata, co również wiąże się z rozwojem szybkich metod obliczeniowych.

Wnioski końcowe

W podsumowaniu, bardzo wysoko oceniam przedstawioną do recenzji pracę doktorską. Wkład rozprawy do nauki obejmuje trzy obszary: naukowo-poznawczy, metodologiczny i praktyczny. Z punktu widzenia teorii rozprawa wnosi przede wszystkim zrozumienie istoty funkcji oceniających do prawidłowego opisu oddziaływań inhibitorów w centrach wiążących białek. Z punktu widzenia metodologii, rozprawa jest przykładem prawidłowego zastosowania i rozwinięcia metod obliczeniowych. Z kolei wkład praktyczny jest nie do przecenienia – rozprawa proponuje model MED jako nowe, użyteczne narzędzie nieempiryczne do poszukiwań skutecznych inhibitorów, w tym o potencjalnym znaczeniu terapeutycznym. Powyższe sprawia, że rozprawa z nadatkiem zaspokaja wszelkie wymogi formalne i merytoryczne stawiane tego rodzaju opracowaniom przez stosowne akty prawne. Tym samym, z pełnym przekonaniem **wniosuję do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie Pani mgr inż. Wiktorii Jedwabny do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Uważam, że całość wywodu naukowego, samodzielność i dojrzałość warsztatowa Kandydatki oraz poziom opracowania jednoznacznie dowodzą profesjonalizmu z preferencjami podejścia naukowego. Dzięki dyscyplinie, fundamentalnej spójności i konsekwencji, czytelnik bez problemu śledzi wywód i podąża za przyjętą linią argumentacją, następnie konkluzjami i wnioskami. Na pochwałę zasługuje również dbałość o poprawność gramatyczną, a także zgodność z zasadami i regułami pisania tekstów naukowych w języku angielskim, co sprawia, że rozprawę czyta się z prawdziwą przyjemnością. Nie bez znaczenia jest też fakt opublikowania wyników badań w szeregu artykułów naukowych w czasopismach o uznanej renomie międzynarodowej. Tym samym **wniosuję, by przedłożona do oceny rozprawa doktorska została wyróżniona stosowną nagrodą.**

panek ogoto