

Prof. dr hab. Artur Michalak  
Zakład Chemii Teoretycznej  
Wydział Chemii  
Uniwersytet Jagielloński  
ul. R. Ingardena 3, 30-060 Kraków  
tel. +48-12-663-2217  
fax. +48-12-634-0515  
e-mail: [michalak@chemia.uj.edu.pl](mailto:michalak@chemia.uj.edu.pl)



UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

Kraków, 11 marca 2015

**KNO** Krajowy Naukowy  
Ośrodek Wiodący

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marcina Adama Nowosielskiego  
zatytułowanej**

**„Wykorzystanie metod obliczeniowych mechaniki klasycznej i kwantowej w  
komputerowo wspomaganym projektowaniu leków ”**

Wydział Chemii

Rozprawa doktorska mgr Marcina Adama Nowosielskiego przygotowana została w Pracowni Chemii Kwantowej, na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, pod promotorską opieką dr hab. Marcina Hoffmanna, prof. UAM. Rozprawa doktorska została przygotowana zgodnie z nowymi przepisami, zgodnie z którymi obok głównego promotora może występować także promotor pomocniczy. W przypadku przewodu doktorskiego mgr Marcina A. Nowosielskiego rolę tę pełni jest dr Krystian Eitner.

W przedłożonej dokumentacji Autor na wstępie przytacza podstawę prawną, cytując Art. 13 *Ustawy z dnia 14 marca 2003 r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki*, który dopuszcza, że rozprawa doktorska może mieć m.in. formę „(...) *spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych lub przyjętych do druku w czasopismach naukowych (...)*” (Autor cytuje Art. 13 w całości). Z kontekstu przedstawionego dokumentu wynika, że taką formę rozprawy przyjęto w tym wypadku, choć Autor nigdzie tego wprost nie określa. Podkreślam to, że również ze względu na fakt, że w złożonym, oprawionym dokumencie opisanym jako „*Rozprawa doktorska*” znajduje się, co prawda, „*Lista opublikowanych artykułów naukowych*” wraz z krótkim określeniem przez Autora jego własnego wkładu w ich powstanie, ale treść tych artykułów nie jest załączona.

Podstawę rozprawy doktorskiej mgr Marcina A. Nowosielskiego stanowią zatem cztery artykuły opublikowane w renomowanych, wysoko punktowanych, międzynarodowych czasopismach naukowych, obejmujących, w kolejności chronologicznej, *Organic & Biomolecular Chemistry* (5-letni *Impact Factor*, *IF*=3,389), *Journal of Molecular Modeling* (*IF*=1,911),

ul. Ingardena 3

PL 30-060 Kraków

tel. +48(12) 633 63 77

fax +48(12) 634 05 15

[sekretar@chemia.uj.edu.pl](mailto:sekretar@chemia.uj.edu.pl)

[www.chemia.uj.edu.pl](http://www.chemia.uj.edu.pl)

*Journal of Chemical Information and Modeling* (IF=4,013) oraz *Journal of Computational Chemistry* (IF=4,72). Są to prace wieloautorskie. Autorami dwóch pierwszych spośród wymienionych prac są Doktorant i Promotor. W przypadku pozostałych lista autorów jest dłuższa i obejmuje 8 (*J. Chem. Inf. Model.*) oraz 5 (*J. Comp. Chem.*) osób. Na liście autorów żadnej z tych prac nie ma promotora pomocniczego. Mgr M.A. Nowosielski jest pierwszym autorem w trzech późniejszych spośród wymienionych prac, a w dwóch ostatnich jest autorem korespondencyjnym. Zgodnie z wymogami prawnymi, w przedłożonej dokumentacji zamieszczone zostały oświadczenia współautorów publikacji określające indywidualny wkład każdego z nich, a także wkład Doktoranta w jej powstanie, z których treści wynika – w każdym przypadku - dominujący udział mgr M.A. Nowosielskiego. Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 września 2011 r. wymaga (§ 5.3) przedłożenia przez Kandydata oświadczeń wszystkich współautorów. Należy więc odnotować, że wśród zamieszczonych oświadczeń brakuje stosownego oświadczenia Promotora pracy, prof. Marcina Hoffmanna. Dalszej oceny pracy dokonuję zatem zakładając, że tego typu oświadczenie zostało przedłożone lub zawarte w opinii Promotora, która standardowo nie jest dostępna dla recenzentów na tym etapie przewodu doktorskiego.

Jak już wspomniałem, wszystkie prace stanowiące podstawę rozprawy zostały opublikowane, przeszły zatem proces recenzji i spełniły wysokie wymagania stawiane w renomowanych czasopismach międzynarodowych, zarówno co do poziomu merytorycznego, jak i językowego oraz edytorskiego. Poziom wszystkie czterech publikacji jest zatem, oczywiście, bez zarzutu.

Pierwsza (najstarsza, [4]) z cyklu prac, opublikowana w *Organic & Biomolecular Chemistry* w r. 2008 przedstawia wyniki badań teoretycznych z zastosowaniem kwantowo-chemicznych metod DFT dotyczących możliwych molekularnych mechanizmów interkonwersji formy kwasowej i laktonowej atrovastatyny (ATV), związku stanowiącego składnik aktywny popularnego leku należącego do grupy statyn stosowanego przy zaburzeniach lipidowych. Badania te miały na celu identyfikację i porównanie możliwych mechanizmów reakcji zachodzących w środowisku kwasowym i zasadowym, a także ich porównanie z wcześniejszymi wynikami uzyskanymi w zespole Promotora dotyczącymi fluvastatyny (FLV). Znaczenie badanej reakcji związane jest z faktem, że w warunkach fizjologicznych tylko forma kwasowa odpowiedzialna jest za pożądaną aktywność, tj. obniżenie poziomu cholesterolu, natomiast obie formy mogą wchodzić w interakcje z innymi substancjami aktywnymi. Wyniki przeprowadzonych badań mają zatem potencjalne znaczenie w projektowaniu nowych leków. Badania przedstawione w omawianej publikacji stanowią przykład bardzo solidnej analizy teoretycznej mechanizmów interkonwersji, w których uwzględniono występowanie różnych alternatywnych reakcji elementarnych, w szczególności, rozważając mechanizmy jednoetapowe oraz wieloetapowe. Lektura omawianej publikacji nie dostarcza odpowiedzi na dwa następujące pytania, które wydają mi się istotne:

1) Czy biorąc pod uwagę wielość możliwych konformacji badanego związku, zarówno w formie kwasowej, jak i laktonowej, nie należałoby rozważyć mechanizmów z udziałem innych struktur? Innymi słowy, czy na pewno wyznaczone bariery aktywacji odpowiadają najniższym energetycznie ścieżkom reakcji? W publikacji dotyczącej ATV nie wspomniano o przeprowadzeniu szczegółowej analizy konformacyjnej. Wyniki takiej analizy przedstawiono we wcześniejszej publikacji na temat FLV, można zatem domyślać się, że konformacje znalezione wcześniej dla FLV, stanowiły punkt wyjścia w badaniach dla ATV. Porównanie wyników dla analogicznych konformacji dwóch związków ma bez wątpienia wartość samą w sobie. Związki

te różnią jednak się m.in. występowaniem w strukturze ATV dodatkowego ugrupowania anilidowego, dodatkowego pierścienia fenylowego oraz pojedynczego wiązania C-C w miejscu wiązania podwójnego w strukturze FLV, rozmiar przestrzeni konformacyjnej ulega zatem w przypadku ATV znacznemu zwielokrotnieniu. Wydaje się zatem, że nie można *a priori* założyć, że bariery aktywacji nie będą niższe dla innych ścieżek reakcji, wychodzących z innych struktur wyjściowych.

2) W modelu zastosowanym w badaniach mechanizmu w środowisku kwasowym uwzględniono cząsteczkę kwasu mrówkowego, co zostało uzasadnione wnioskami z wcześniejszych badań, z których wynika, że bariery reakcji badanych z uwzględnieniem obojętnych cząsteczek jako donora protonu są bardziej realistyczne, niż np. w przypadku jonów hydroniowych. Jest to argument bardzo przekonujący. Jednak zastosowanie kwasu karboksylowego może mieć konsekwencje nie tylko dla energetyki, ale dla samego mechanizmu reakcji. W tym przypadku badano mechanizmy, w których występują reakcje elementarne polegające na jednoczesnym, podwójnym przeniesieniu protonów pomiędzy ATV i grupa karboksylową, które możliwe są z jej udziałem, ale nie mogą zajść w przypadku  $H_3O^+$ . Dodatkowo, obecność dwóch atomów tlenu, dość sztywno związanych z karboksylowym atomem węgla wymusza odpowiednią konformację ATV na ścieżce reakcji, co ma implikacje dla bariery aktywacji i energetyki reakcji. Wydaje się, że zastosowanie innego partnera/ów w reakcji może prowadzić do znacznie różnych barier. Czy jest to zatem model adekwatny, aby wyciągać wnioski co do mechanizmów w warunkach fizjologicznych? Czy uzyskany mechanizm może zachodzić w warunkach fizjologicznych?

Omawiając wkład Doktoranta w omawianą publikację należy podkreślić, że w tym przypadku jedynym współautorem jest Promotor. Doktorant określa swój wkład jako wykonanie większości obliczeń, analizę wyników i opracowanie manuskryptu. Należy dodać, że praca ta została już pięciokrotnie zacytowana przez innych autorów (wg. bazy Scopus).

Kolejny artykuł ([3]), opublikowany w 2010 r. w *Journal of Molecular Modeling* powstała również jedynie przy współdziałaniu Promotora. Doktorant określa w tym przypadku swój wkład jako opracowanie ogólnej koncepcji pracy, wykonanie większości obliczeń, analizę wyników i opracowanie manuskryptu. Praca ta przedstawia bardzo ciekawe wyniki badań wpływu podstawników na swobodę konformacyjną skwalenu oraz ich implikacji dla procesu cyklizacji i syntezy steroli z zastosowaniem metod kwantowo-chemicznych (MP2 oraz DFT). W pracy tej szczegółowo przebadano szereg modelowych związków stanowiących fragment skwalenu bezpośrednio uczestniczący w reakcji cyklizacji prowadzącej do lanosterolu/hopenu. Istotnym wynikiem tej pracy jest wskazanie możliwego wpływu podstawników na reakcję cyklizacji skwalenu poprzez ograniczenie swobody konformacyjnej. Nieintuicyjnym wynikiem przeprowadzonych obliczeń jest stwierdzenie, że bardziej podstawiony łańcuch może łatwiej przyjmować konformacje istotne dla procesu cyklizacji. Ważnym wynikiem pracy jest również wyjaśnienie tego efektu poprzez słabe oddziaływania  $CH\cdots\pi$  pomiędzy atomami wodoru grup metylowych a elektronami  $\pi$  z obszaru wiązań C-C w strukturze skwalenu, których rolę odkrywa się coraz częściej w związkach i reakcjach chemicznych różnego typu.

Trzecia z kolei praca ([2]) opublikowana w *Journal of Chemical Information and Modeling* w 2011 r. stanowi imponujące zastosowanie kilku różnych metod teoretycznych na różnych poziomach modelowania w badaniach mechanizmu inhibicji epoksydazy skwalenowej przez cząsteczkę terbinafiny. Enzym ten pełni istotną rolę ergosterolu u grzybów i cholesterolu u człowieka; terbinafina jest jednym z

leków przeciwgrzybiczych. W ramach omawianych badań, w przemyślany sposób połączono zastosowanie różnych metod obejmujących modelowanie struktury białka, dokowanie liganda, symulacje dynamiki molekularnej w oparciu o klasyczne pola siłowe oraz obliczenia kwantowo-chemiczne (DFT) w celu określenia nie poznanego wcześniej mechanizmu inhibicji; zastosowanie w sekwencji obliczeń metod teoretycznych na różnych poziomach modelowania pozwoliło na stopniowe zmniejszanie wielkości modelu wraz ze zwiększaniem dokładności obliczeń. Oprócz bardzo istotnych walorów poznawczych, związanych z określeniem mechanizmu inhibicji, praca ta ma zatem także istotną wartość z punktu widzenia metodologii podejścia w modelowaniu wielkich układów biochemicznych.

Zgodnie z oświadczeniami współautorów publikacji, wkład Doktoranta w polegał na przeprowadzeniu symulacji MD oraz przeprowadzeniu obliczeń DFT, a także analizę wyników oraz opracowanie manuskryptu. Trzeba dodać, że praca ta ma już w tej chwili dość dużą liczbę cytowań (10, wg. bazy Scopus), biorąc pod uwagę fakt, że została opublikowana stosunkowo niedawno.

Ostatnia praca w omawianym cyklu publikacji ([1]), opublikowana w *Journal of Computational Chemistry* w 2013 r., przedstawia kolejne spektakularne zastosowanie zaproponowanego poprzednio protokołu obliczeniowego, łączącego dokowanie liganda, klasyczną dynamikę molekularną, mechanikę molekularną oraz obliczenia kwantowochemiczne. Tym razem przedmiotem badań była syntetaza pantotenowa *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) oraz trzy cząsteczki inhibitorów sulfonamidowych. W pracy tej jednak główny nacisk położony jest na zastosowane nowe narzędzie, autorstwa mgr M. A. Nowosielskiego, program MM2QM stanowiący interfejs graficzny pozwalający na automatyzację procesu przygotowania danych, sekwencyjnego uruchomienia poszczególnych programów oraz analizy wyników, a tym samym pozwalający znacznie usprawnić prowadzenie badań zgodnie z zaproponowanym protokołem obliczeniowych. Jakkolwiek tego typu narzędzia nie niosą za sobą nowości naukowej, tym niemniej mają wielkie znaczenie praktyczne w każdym obszarze chemii teoretycznej w którym wymagane jest łączenie różnych podejść teoretycznych, a zwłaszcza w dziedzinie reprezentowanej przez Doktoranta, w której mamy do czynienia z obiektami złożonymi z tysięcy atomów i ręczne przygotowanie danych praktycznie nie wchodzi w grę. Opracowane narzędzie może także przyczynić się do popularyzacji zaproponowanego protokołu obliczeniowego oraz ułatwić jego stosowanie w innych grupach badawczych na świecie.

Zgodnie z oświadczeniami współautorów, wkład mgr M. A. Nowosielskiego w omawianą publikację był dominujący i polegał na zaproponowaniu ogólnej koncepcji, zakodowanie narzędzia, przeprowadzenia dokowań, symulacji MD oraz obliczeń kwantowo-chemicznych, analizę wyników oraz opracowanie manuskryptu. Dodam, że praca ta, opublikowana w 2013 r., była dwukrotnie cytowana w r. 2014 przez innych autorów.

Przejdę teraz do omówienia przewodnika przedłożonego przez Doktoranta. Całość obejmuje 49 stron tekstu oraz oświadczenia współautorów publikacji. W rozdziale wstępnym (*Zarys zagadnienia*, 2 strony) Autor w bardzo ciekawie napisanym, popularno-naukowym ujęciu przybliży dziedzinę komputerowo wspomaganego projektowania leków (CADD). W kolejnych trzech rozdziałach (*Mechanika kwantowa*, *Mechanika klasyczna*, *Wirtualne badania przesiewowe*, łącznie 30 stron) przedstawione są podstawy teoretyczne metod stosowanych w komputerowo-wspomaganiu projektowaniu leków. Należy podkreślić, że szerokie spektrum metod teoretycznych stosowanych w tym obszarze chemii teoretycznej powoduje, że Autor stoi przed niezwykle trudnym zadaniem. Dobór przedstawianych zagadnień świadczy o tym, że

Autor wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną w reprezentowanej dziedzinie. Doktorant skupia się na zagadnieniach najistotniejszych. W rozdziale dotyczącym mechaniki kwantowej (Rozdział 3, *Mechanika kwantowa*, 16 stron) omówione są postulaty mechaniki kwantowej, podstawy teoretyczne metod wariacyjnych i perturbacyjnych, przybliżenie Borna-Oppenheimera, metoda Hartree-Focka, teoria DFT oraz podstawowe zagadnienia związane z bazami funkcyjnymi stosowanymi w obliczeniach kwantowo-chemicznych. W rozdziale opisującym metody oparte na mechanice klasycznej (Rozdział 4, *Mechanika klasyczna*, 9 stron) omówione są zagadnienia związane z klasycznymi polami siłowymi stosowanymi w mechanice molekularnej oraz podstawy dynamiki molekularnej, z uwzględnieniem kontroli temperatury i ciśnienia w symulacjach MD. Część teoretyczną kończy krótki rozdział poświęcony metodologii związanej z dokowaniem ligandów (Rozdział 5, *Wirtualne badania przesiewowe*, 4 strony), w którym omówiono zagadnienia związane z przeszukiwaniem przestrzeni konformacyjnej oraz doborem tzw. funkcji oceniającej przybliżającej energię oddziaływania białko-ligand.

Niestety, o ile dobór zagadnień nie budzi większych zastrzeżeń, to sposób ich przedstawienia pozostawia wiele do życzenia. W wielu miejscach Autor niepotrzebnie wchodzi w pewne rozważania szczegółowe (np. omawiając przybliżenie Borna Opeenheimera, czy metodę Hartree-Focka), gubiąc podstawowe idee, sens fizyczny oraz implikacje przedstawianych równań matematycznych (przykładowo, sens fizyczny równania 3.57 nie jest w ogóle skomentowany, ani nie zostało omówione pojęcie elektronowej powierzchni energii potencjalnej). Dodatkowo, w przedstawionym formalizmie nie udało się uniknąć błędów, nieścisłości, braku precyzji w stosowanej notacji. Wydaje się, że dla osoby nieorientowanej w przedstawionych zagadnieniach, prezentowany tekst byłby w znacznej mierze niezrozumiały. Nie będę w tym miejscu omawiał wszystkich potknięć Autora. Wspomnę tylko, że część teoretyczna rozpoczyna się od dość rażącego błędu – stwierdzenia, że kwadrat modułu funkcji falowej „określa prawdopodobieństwo tego, że dana cząstka w chwili  $t$  znajduje się położeniu  $x$ ” (podkr. moje). Jako przykład braku dbałości Autora o precyzję (i poprawność) przedstawianych zagadnień przytoczę rozdział ostatni (5.3 *Funkcje oceniające*, str 32,33), w którym m.in. (i) podstawa podziału metod przybliżania funkcji oceniających na trzy kategorie jest całkowicie niezrozumiała (w każdym przypadku podawane jest odniesienie do bliżej nieokreślonych wartości eksperymentalnych i danych krystalograficznych), (ii) znaczenie symboli stosowanych w równaniu 5.5 nie jest wystarczająco wyjaśnione, trudno zrozumieć co oznacza np.  $V_{zw}^{L-L}$ ,  $V_{zw}^{B-B}$ , itd.), (iii) w równaniach 5.5 i 5.6 zmiana energii swobodnej przedstawiana jest jako suma członu potencjalnego i zmiany entropii (bez temperatury), (iv) przechodząc od równania 5.5 do 5.6 Autor zakłada, że  $V_{wol}^{B-L} = 0$ , ale w równaniu 5.6 człon ten przepisuje. Niestety, w pozostałych rozdziałach takich przykładów można znaleźć więcej.

Część poświęcona własnym wynikom Autora (Rozdz. 6, *Praktyka*, 5 stron) jest krótka, ale napisana bardzo ciekawie, z dużą lekkością. Autor na pięciu stronach omawia swoje badania w szerokim kontekście zagadnień związanych z rozwojem uprawianej dziedziny. Za istotny mankament przedstawionej dokumentacji uważam jednak brak wyraźnego określenia celów pracy (traktowanej jako całości).

Zaskoczeniem jest ostatni rozdział (Rozdz. 7, *Dokąd teraz?*), po którym spodziewałbym się nakreślenia możliwych kierunków dalszych badań w kontekście wyników badań Doktoranta. Tymczasem, Autor omawia tutaj możliwe (jego zdaniem) drogi rozwoju całej dziedziny, bez związku z prezentowanymi wynikami. Ogólnikowy i mało precyzyjny sposób przedstawienia treści w tym przypadku trudno nawet

nazwać popularno-naukowym. Bez wątpienia nie jest to tekst naukowy i nie widzę uzasadnienia dla jego zamieszczenia w rozprawie naukowej. Ponieważ nie udało mi się zrozumieć, co konkretnie Autor chciał przekazać, nie mam podstaw do szczegółowej krytyki (w szczególności dotyczy to „funkcjonałów łączących opis kwantowo-mechaniczny z opisem klasycznym” – o jakich funkcjonalach jest tu w ogóle mowa? Czy chodzi może o DFT?). Spodziewam się bardziej szczegółowego i precyzyjnego rozwinięcia na obronie pracy doktorskiej.

Całość kończy lista bibliograficzna oraz oświadczenia współautorów. W przewodniku cytowanych jest 128 pozycji literaturowych obejmujących prace oryginalne, przeglądowne i podręczniki. Dobór cytowanej literatury świadczy o dobrej orientacji Autora w reprezentowanej dziedzinie wiedzy.

Podsumowując, pomimo krytycznych uwag na temat tekstu „przewodnika”, **moja ocena badań naukowych** przeprowadzonych w ramach przewodu doktorskiego **mgr Marcina A. Nowosielskiego przedstawionych w czterech publikacjach stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej jest zdecydowanie pozytywna**. Doktorant podjął aktualną tematykę badawczą, wykazał kompetencję w prowadzeniu zaawansowanych obliczeń teoretycznych z zastosowaniem wielu zaawansowanych metodologii, obejmujących metody kwantowo-chemiczne oraz metody oparte na mechanice klasycznej, dla dużych, złożonych układów molekularnych. Wyniki pracy uważam za bardzo wartościowe, ciekawe i wnoszące wkład do nauki. **Przedstawiony w publikacjach materiał badawczy spełnia przyjęte wymagania stawiane zwyczajowo pracom doktorskim, jak i wymagania ustawowe określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Dlatego, wnioskuję o dopuszczenie pana mgr Marcina A. Nowosielskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**



Prof. dr hab. Artur Michalak