

Dr hab. Rajmund Kaźmierkiewicz, prof. UG

Gdańsk 29.08.2023

Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii

Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Ocena rozprawy doktorskiej mgra Macieja Spiegel
pod tytułem:
„Badania *in silico* aktywności antyoksydacyjnej związków fitochemicznych”
przedstawionej Radzie Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne
celem uzyskania stopnia doktora.

Zarówno tytuł, rozprawy doktorskiej Pana mgra Macieja Spiegel jak i sama rozprawa jest napisana wyjątkowo zwięźle, co jest tym bardziej godne pochwały, że treść wspomnianego tytułu, nie ogranicza tematyki doktoratu do konkretnej grupy związków organicznych pochodzenia naturalnego. Główne wątki rozprawy, przystające do biochemicznych mechanizmów aktywności tytułowych związków, to oszacowanie stałych dysocjacji, indeksów reaktywności oraz pierwszo- i drugorzędowej aktywności antyoksydacyjnej. Praca doktorska została przygotowana w formie czterech publikacji z dołączonym względnie krótkim polskojęzycznym wstępem:

A. Spiegel, M.*, Andruniów, T., & Sroka, Z. (2020). Flavones' and Flavonols' Antiradical Structure–Activity Relationship–A Quantum Chemical Study. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(6), 461. <https://doi.org/10.3390/antiox9060461> IF = 6.313 MEiN = 100

B. Spiegel, M., Kapusta, K.*, Kołodziejczyk, W., Saloni, J., Żbikowska, B., Hill, G. A., & Sroka, Z. (2020). Antioxidant Activity of Selected Phenolic Acids–Ferric Reducing Antioxidant Power Assay and QSAR Analysis of the Structural Features. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(13), 3088. <https://doi.org/10.3390/molecules25133088> IF = 4.412 MEiN = 140

C. Spiegel, M.*, & Sroka, Z. (2023). Quantum–mechanical characteristics of apigenin: Antiradical, metal chelation and inhibitory properties in physiologically relevant media. *Fitoterapia*, 164(October 2022), 105352. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2022.105352> IF = 3.204 MEiN = 100

D. Spiegel M.* (2022). Current Trends in Computational Quantum Chemistry Studies on Antioxidant Radical Scavenging Activity. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 62(11), 2639–2658. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.2c00104> IF = 6.162 MEiN = 100

Autor pracy doktorskiej poświęca, około 17 stron polskojęzycznej części pracy, która zawiera zwięźle opisy metod i wyników oraz ich dyskusję. Nie jest dla mnie jednak jasne dlaczego Autor rozprawy doktorskiej zastosował w treści formy bezosobowe czasowników zakończone na -no, -to. Układ pracy jest niemal klasyczny. Praca zawiera wprowadzenie z opisem roli oddychania tlenowego w organizmach żywych i jego konsekwencji w postaci nieuniknionego powstania (na ogół) niepożądanych produktów ubocznych: rodników oraz aktywnych form tlenu. Warto wspomnieć, że zamiast umieszczenia w doktoracie tradycyjnego opisu „części literaturowej” (lub istniejącego stanu wiedzy) Autor zdecydował się dołączyć przygotowaną przez siebie pracę przeglądową oznaczoną literą D. Kolejny rozdział stanowi Cel pracy. Autor zadeklarował w nim próbę oszacowania aktywności antyoksydacyjnej wybranych związków fitochemicznych przy użyciu metod chemii obliczeniowej. Cele szczegółowe pokrywają się natomiast z tematyką dołączonych publikacji (A-C), są to ocena wpływu fragmentów struktury wybranych flawonoli i flawonów na ich aktywność antyoksydacyjną, ocena wpływu fragmentów struktury fenolokwasów na ich właściwości antyoksydacyjne względem układu redoks Fe^{3+}/Fe^{2+} , ocenę kilku aktywności: przeciw rodnikowi

wodoronadtlenkowemu ($\bullet\text{OOH}$), kompleksowania kationów Cu^{2+} i Fe^{3+} , hamowania aktywności oksydazy ksantynowej oraz ocenę aktywności apigeniny w warunkach imitujących naturalne środowisko w komórce. Następnie Autor przechodzi do opisu materiałów i metod stosowanych w swoich badaniach. Na uwagę zasługuje szczegółowy spis programów obliczeniowych oraz dokładna specyfikacja użytych przez Autora metod kwantowo-mechanicznych z krótkim uzasadnieniem ich wyboru oraz dyskusją zakresu ich zastosowań. Moim zdaniem Autor dokonał trafnego wyboru spośród wielu dostępnych metod obliczeniowych w chemii kwantowej. Autor zdecydował się także dodać opisy metod umożliwiających policzenie wszystkich wspomnianych przez Niego w pracy aktywności i właściwości fizycznych wybranych związków. W tym miejscu mam pewną wątpliwość czy transfer protonu ma związek z aktywnością antyoksydacyjną badanych związków?

Rozdział „Wyniki i dyskusja” zawiera obszerny opis uzyskanych wyników podzielony na podrozdziały odpowiadające dołączonym publikacjom. Oceniana praca oferuje wyniki obliczeń dla raczej szerokiego wachlarza właściwości fizykochemicznych badanych związków, który, moim zdaniem, znacząco wykracza poza samą ocenę aktywności oksydacyjnej związków wspomnianej w tytule rozprawy.

Pierwszy podrozdział zaczyna się od opisu badań aktywności flawonów i flawonoli w wodzie metodami teorii funkcjonału gęstości. Obejmują one opisy struktur flawonoidów oraz struktur rodników z wykorzystaniem analizy naturalnych orbitali wiązań, analizy gęstości spinowej i teorii orbitali molekularnych. Autor wykonał obliczenia: dla trzech możliwych specyficznych mechanizmów działania – transferu wodoru (HAT), transferu elektronów – transferu protonów (ETPT) i sekwencyjnego transferu selektywnej utraty protonów (SPLET); i jednego niespecyficznego mechanizmu – obliczenia entalpii reorganizacji (RE) i entalpii abstrakcji wodoru (HAE).

Drugi podrozdział zawiera opis wyników badań nad potencjałem przeciwutleniającym zestawu 22 kwasów fenolowych charakteryzujących się różnymi wzorcami rozmieszczenia grup: hydroksylowych, metoksyloowych i pierścieni aromatycznych. Do oceny tej właściwości Autor posłużył się testem „mocy przeciwutleniającej” redukując kationy żelaza. Stwierdził On, że kwas 2,3-dihydroksybenzoesowy jest najsilniejszym przeciwutleniaczem, podczas gdy struktury kwasów zawierające pojedyncze grupy hydroksylowe i metoksyloowe wykazywały najniższą aktywność. Autor wykonał także kompleksowe badanie zależności struktura – aktywność z wykorzystaniem teorii funkcjonału gęstości co pozwoliło Jemu na wyjaśnienie wpływu topologii związku, stabilizacji rezonansowej i wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego na badaną aktywność kwasów fenolowych.

Trzeci podrozdział zawiera opis wyników badania aktywności przeciwutleniającej apigeniny dla których uzyskania Autor wykorzystał teorię funkcjonału gęstości. Uwzględnił On przy tym wszystkie możliwe istotne stany sprotonowania badanego związku obecne w badanej populacji przy fizjologicznym pH. W podrozdziale trzecim została także oceniona zdolność związku do usuwania rodników wodoronadtlenkowych w środowisku lipidowym i wodnym. Autor oceniał także zdolność związku do zatrzymania reakcji Fentona poprzez chelatację kationów Fe^{3+} i Cu^{2+} , a także zdolność do hamowania aktywności oksydazy ksantynowej.

Czwarty podrozdział stanowi jedynie pewnego rodzaju odsyłacz do publikacji przeglądowej D zawierającej obszerną i wnikliwą dyskusję wyników dostępnych w już opublikowanej literaturze naukowej.

Na uwagę zasługuje także imponujący spis literatury cytowanej podsumowujący 17-stronicową część opisową rozprawy doktorskiej. Autor trafnie dobrał źródła literaturowe. Tuż za spisem literatury Autor umieścił opis swojego dorobku naukowego.

Uważam, że treść pracy doktorskiej jest kompletna i objętość poszczególnych rozdziałów wyważona. Autor w wystarczającym stopniu opanował technikę pisania prac naukowych. Moim zdaniem z treści dołączonych publikacji A-D wynika, że Autor osiągnął cele pracy.

Niestety Autor rozprawy doktorskiej nie ustrzegł się kilku drobnych błędów językowych polegających na niewłaściwym doborze końcówek orzeczeń w formułowanych przez siebie zdaniach. W kilku miejscach użył też (w różnych formach) słowo „bazując”, które chyba lepiej jest zastąpić słowem „opierając się”.

Po przeczytaniu rozprawy doktorskiej nasuwają mi się też pytania: Czy biorąc pod uwagę duże zróżnicowanie badanych związków fitochemicznych oraz bogactwo metod obliczeniowych zastosowanych do zbadania ich właściwości Autor jest w stanie wskazać najlepszy antyoksydant spośród tych, które zbadał ?

Czy Doktorant rozważył możliwość dokonania modyfikacji metodami *in silico* istniejących antyoksydantów np. w celu poprawienia ich rozpuszczalności w wodzie lub powinowactwa do lipidów oraz ewentualnego zmniejszenia ich toksyczności ?

Oszczędny polskojęzyczny opis dokonań doktoranta umieszczony w samej rozprawie jest w pełni uzasadniony w sytuacji, gdy jest On wiodącym Autorem 4 dołączonych publikacji w prestiżowych periodykach naukowych, których treść, będąca głównym wkładem do ocenianej rozprawy, została przed publikacją pozytywnie zweryfikowana przez niezależnych ekspertów. Warto także zwrócić uwagę na dodatkowe 15 prac wspomnianych w treści rozprawy doktorskiej, których Pan Maciej Spiegel jest współautorem. Pozostaje mi więc, w roli recenzenta powołanego do oceny tej rozprawy, zgodzić się ze wspomnianymi ekspertami o wysokiej randze naukowej przedstawionej tu pracy.

Rozprawa doktorska, autorstwa mgr Macieja Spiegel spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 ze zm.). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy mgr Macieja Spiegel do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.

Niewątpliwie źródłem sukcesów recenzowanej rozprawy jest podjęcie się przez Doktoranta próby rozwiązania bardzo aktualnych problemów w badaniach nad oceną właściwości fizykochemicznych oraz aktywności antyoksydacyjnej związków fitochemicznych. Autor rozprawy uzyskał znaczące wyniki opisane w czterech dołączonych do rozprawy publikacjach naukowych. Biorąc pod uwagę imponujący dorobek naukowy Doktoranta oraz dużą wartość ocenianej rozprawy doktorskiej wnioskuję o jej wyróżnienie.

Rajmund Kaźmierkiewicz

