

Prof. dr hab. Jarosław Polański
Zakład Chemii Organicznej
Instytut Chemii Uniwersytetu Śląskiego
ul. Szkolna 9, 40-006 Katowice

Katowice, 4 maja 2016

Recenzja rozprawy doktorskiej Natalii Syzochenko pt. „Optimal selection of descriptors for structure-activity modeling of nanoparticles on casuality analysis”

Przedstawione w recenzowanej pracy wyniki nawiązują do tematyki badań promotora rozprawy prof. Tomasza Puzyna, który zajmuje się między innymi nowym kierunkiem, który umownie określany jest jako nano-QSAR.

W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono nanomateriałom oraz ich potencjalnym zastosowaniom w chemii i gospodarce. Potencjalne aplikacje w elektronice, medycynie, energetyce, kosmetyce czy katalizie decydują, że materiały takie pojawiają się coraz częściej w naszym otoczeniu. Ponieważ z założenia ich reaktywność ma być duża, pojawia się także problem ich toksyczności. Właśnie z problematyką toksyczności nanomateriałów związane są badania grupy prof. Puzyna oraz w dużej mierze Doktorantki.

Konstrukcja recenzowanej rozprawy znacznie odbiega od typowej pracy doktorskiej. Stanowi ona bowiem zbiór czterech artykułów:

[A] N. Sizochenko, B. Rasulev, A. Gajewicz, V. Kuz'min, T. Puzyn, J. Leszczynski, From basic physics to mechanisms of toxicity: the "liquid drop" approach applied to develop predictive classification models for toxicity of metal oxide nanoparticles, *Nanoscale*, 6 (2014) 13986-13993.

[B] N. Sizochenko, K. Jagiello, J. Leszczynski, T. Puzyn, How the "Liquid Drop" Approach Could Be Efficiently Applied for Quantitative Structure-Property Relationship Modeling of Nanofluids, *Journal of Physical Chemistry C*, 119 (2015) 25542-25547.

[C] N. Sizochenko, B. Rasulev, A. Gajewicz, E. Mokshyna, V.E. Kuz'min, J. Leszczynski, T. Puzyn, Causal inference methods to assist in mechanistic interpretation of classification nano-SAR models, *RSC Advances*, 5 (2015) 77739-77745.

[D] N. Sizochenko, A. Gajewicz, J. Leszczynski, T. Puzyn, Causation or only correlation? Application of causal inference graphs for evaluating causality in nano-QSAR models, *Nanoscale*, 8 (2016) 7203-7208,

które poprzedza komentarz, zatytułowany przez Autorkę streszczeniem przeprowadzonych badań. Warto podkreślić, że Doktorantka jest pierwszym autorem wszystkich publikacji A-D. Do pracy dołączone są oświadczenia współautorów, które potwierdzają duży udział Doktorantki szacowany przez nią na 60-80%.

Napisany w języku angielskim komentarz do pracy liczy 64 strony. Autorka cytuje 126 pozycji literaturowych. We wstępie przedstawia podstawowe fakty związane z nanotechnologią, w szczególności toksycznością takich materiałów, zwracając uwagę na stosunkowo małą dostępność tego typu danych. Podstawy metodologii modelowania QSAR - to drugi problem omawiany przez Autorkę w tej części pracy. Zgrabnie i nowocześnie definiuje przy tym QSAR jako poszukiwanie odpowiedniej zależności pomiędzy właściwościami a znaczącymi deskryptorami (significant descriptors), których wyboru dokonujemy, stosując odpowiednie metody. W kolejnym podrozdziale, na podstawie innej pracy, której jest współautorem, a której nie uwzględnia w wykazie prac serii doktorskiej (Sizochenko, Leszczynski, Review of current and emerging approaches for quantitative nanostructure-activity modeling – the case of inorganic nanoparticles, *J. Nanotoxicology Nnaomedicine*, 2016, 1, 3) omawia problematykę nano-deskryptorów. Jako istotne elementy opisu nanostruktur wymienia tutaj takie cechy fizyczne jak, stan podstawowy i zagregowany materiału, stężenie objętościowe, rozpuszczalność, zerowy potencjał zeta, liczba miejsc wiążących, kształt, powierzchnia właściwa oraz reaktywność. Podaje i omawia dostępne w literaturze badania, w których zajmowano się modelowaniem QSAR. Ta część pracy kończy się konkluzją, że wciąż istnieje konieczność adaptacji metod QSAR dla celów ewaluacji toksyczność nanocząsteczek. Jednocześnie formułuje cel pracy, którym jest zdefiniowanie nowych deskryptorów strukturalnych dla nanocząsteczek oraz badanie przydatności znanych deskryptorów jako potencjalnych narzędzi dla opisu nanocząsteczek oraz ich ewaluację modeli w kategoriach diagnostyki *kazualnej* (zwanej czasami diagnostyką genetyczną lub retrogenozą), która odpowiada na pytanie jaka jest przyczyna badanego stanu lub efektu. Warto przy tym w tym miejscu podkreślić, że analiza tego typu stanowi stosunkowo nowe pojęcie w statystyce i jest absolutną rzadkością w modelowaniu QSAR.

W kolejnym podrozdziale formułuje podstawowe hipotezy pracy. To także nowoczesny sposób stawiania zagadnień badawczych. W skrócie hipotezami tymi są:

1. Obecnie deskryptory kształtu generuje się z danych eksperymentalnych lub skomplikowanych obliczeń kwantowych. Potrzebne są nowe proste deskryptory kształtu.
2. Efektywny opis właściwości i mechanizmów działania możliwy jest przy zastosowaniu kombinacji deskryptorów hierarchicznych, przez co Autorka rozumie równoczesne zastosowanie wielu deskryptorów opisujących organizację nanostruktur na różnych poziomach złożoności.
3. Procedura kazualnego wnioskowania może być ważnym narzędzia walidacji modeli nano-QSAR.

Uważam, że cel pracy sformułowany został szeroko, przy tym bardzo zgrabnie, pod względem redakcyjno-technicznym nowoczesnie lub wręcz bardzo innowacyjnie.

W pracy A wykorzystano model *ciekłej kropli* do prognozowania wzmocnienia przewodnictwa cieplnego (property), wykorzystując jako deskryptory średni rozmiar nanocząsteczek, udział objętościowy nanocząsteczek, gęstość, promień Wegnera-Seitza, stosunek powierzchni do objętości, liczbę nanocząsteczek obecnych na powierzchni.

Warto tutaj zatrzymać się, by przyjrzeć się pojęciu deskryptora. W klasycznych badaniach QSAR (QSPR) deskryptorem określamy dowolną postać numeryczną, którą otrzymujemy poprzez przetworzenie informacji chemicznej zakodowanej w cząsteczce chemicznej (Todeschini). W odróżnieniu od tego, właściwości związane są z pomiarami eksperymentalnymi. Pomiar jest pojęciem definiowanym przez IUPAC. Inaczej, najczęściej deskryptory związane są z molekułami a właściwości z substancjami, czyli zbiorami molekuł *in vitro*. Powstaje problem, w jaki sposób można precyzyjnie przenieść taką filozofię nazewnictwa do nano-QSAR, gdzie nanocząsteczki (klastry atomów metali) są odpowiednikiem substancji. Wiele omawianych przez Doktorantkę deskryptorów to po prostu wyniki pomiarów eksperymentalnych. Formalnie wiele opisanych modeli należałoby zaliczyć do metody QPPR (property-property). Z takimi modelami spotykamy się coraz częściej, ponieważ wbrew powszechnemu przekonaniu populacja zmierzonych właściwości jest w chemii niewielka, istnieje wobec tego konieczność ich prognozowania w oparciu o inne zmierzone właściwości (Polanski,

Gasteiger, Computer Representation of Chemical Compounds, in J. Leszczynski et al. (eds.), *Handbook of Computational Chemistry* (2016).

Praca B to próba predykcji toksyczności nanocząsteczek tlenków metali w oparciu o teorię ciekłej kropli. Przykładem interesującego opisu struktury pojedynczej cząsteczki jest tutaj deskryptor SIRMS (simplex representation of molecular structure) oparty na grafie molekularnym pojedynczej cząsteczki tlenku, przy czym pojedyncze atomy *anotowane* są np. wartościami elektroujemności. Autorka stosuje przy tym interesującą metodę przetwarzania SIRMSów, by można było je użyć do modelowania QSAR oraz próbę mechanistycznej interpretacji uzyskanych modeli. Dla przykładu wpływ SIRMS określa na 3 lub 15%, w zależności od rodzaj badanych organizmów.

Prace C i D to studium diagnostyki kazualnej modeli nano-QSAR. Problem występowania korelacji nie jest tożsamy z występowaniem związku przyczynowo-skutkowego. W ostatnich latach opracowano metody diagnostyki kazualnej, których celem jest odróżnienie tych dwóch relacji. Właśnie takie metody stosuje Doktorantka dla walidacji modeli nano-QSAR toksyczności, stwierdzając, że np. relacja przyczynowo-skutkowa występuje pomiędzy entalpią tworzenia i toksycznością nanocząsteczkowych tlenków metali względem *E. coli*. Diagnostyka tego rodzaju jest wciąż rzadkością w badaniach QSAR i zgadzam się, że mogą przynieść istotny postęp w badaniach jakości modeli szacowania ryzyka.

W tym miejscu nasuwa mi się kilka uwag o charakterze bardziej ogólnym. Fizyka i chemia formułuje uniwersalne prawa dotyczące wszystkich molekuł, np. prawo zachowania masy. W przeciwieństwie do tego QSAR rozpoczął się od modelowania równań, których domena obejmowała niewielkie szeregi związków o dużym podobieństwie chemotypów. W zasadzie modele te mają charakter fenomenologiczny. Model Hanscha, w przypadku kiedy limitującym efektem jest transport leku wskazuje wyraźny, w miarę uniwersalny mechanizm działania, którym jest transport molekuł przez błony biologiczne. Z kolei metody określane jako chemometryczne (analiza PCA, PLS) skupiają się bardziej na prognozowaniu niż zrozumieniu mechanizmu molekularnego. Prezentowane w niniejszej pracy modele nano-QPPR, QSPR, QSAR obejmują niewielkie szeregi związków, ale stosowane metody pozwalają na tworzenie i weryfikację hipotez dotyczących mechanizmów toksyczności nanomateriałów. Powstaje pytanie na ile może to być droga do praw bardziej uniwersalnych.

Pewna uwaga krytyczna dotyczy stosowanej nomenklatury, o czym pisałem już wcześniej. Doktorantka nie odróżnia deskryptorów od właściwości. Muszę jednak przyznać, że jest to bardzo częste w tego typu badaniach. Czy takie odróżnienie jest ważne. Moim zdaniem, tak, ponieważ znacznie ułatwia szybie i dokładne sprecyzowanie problemu oraz jego zrozumienie. Często zapobiega nieporozumieniom.

Podsumowując, przedstawiłem powyżej bardzo skrótowo treści recenzowanej pracy. Zakres wykonanych prac budzić musi duży szacunek. Na podkreślenie zasługuje niezwykle dojrzały sposób opisu wyników. Warto tu dodać, że wyniki pracy pani Natalii Syzochenko zostały opublikowane w znaczących artykułach naukowych w czasopiśmie z listy filadelfijskiej. Pracę oceniam bardzo wysoko. To nowoczesne i aktualne studium otwierające drogę do interesujących dalszych badań w zakresie modelowania toksyczności nanostruktur.

Na podkreślenie zasługuje niesłychana dbałość o treść i szatę graficzną pracy. Trudno jednak, żeby było inaczej, kiedy praca w zasadzie w całości została wydrukowana w wiodących czasopiśmie zajmujących się nanotechnologią. Biorąc zaś pod uwagę merytoryczną wartość pracy, sądzę, że warto rozważyć wyróżnienie przygotowanej przez Doktorantkę rozprawy. Wniosek o wyróżnienie uzasadniania wysoki poziom merytoryczny pracy, która wnosi istotny wkład w modelowanie toksyczności nanomateriałów. Zarówno zakres przeprowadzonych badań, ich dojrzałość wskazują, że Doktorantka znacznie przekroczyła wymagany poziom pracy doktorskiej. Także sposób przygotowania rozprawy zasługuje na docenienie. Praca napisana jest bardzo poprawnym językiem. Czyta się ją z przyjemnością i zainteresowaniem. Doktorantka jest w sumie współautorką 11 prac. Z przekonaniem wnoszę więc o wyróżnienia pracy pani mgr Natalii Syzochenko.

Podsumowując, uważam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim przez ustawę o stopniach i tytułach naukowych, w związku z czym wnoszę o dopuszczenie pani Natalii Syzochenko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jarosław Polański