

Rezumat

Teza de Abilitare

Dezvoltări de metode bioanalitice și aplicarea lor în analiza de probe complexe

Prezenta Teză de Abilitare trece în revistă cele mai importante rezultate științifice obținute de autor, Augustin C. Moț, după obținerea titlului de doctor în 2012. Focusul științific al autorului este centrat pe dezvoltarea de metode bioanalitice. Acest subdomeniu specializat al chimiei analitice implică aplicarea sau stabilirea de tehnici analitice pentru a detecta sau evalua cantitativ molecule de origine biologică, cum ar fi proteinele, metaboliții primari sau secundari, care sunt importanți pentru înțelegerea proceselor biologice și a mecanismelor funcționale în organismele vii. Teza este compusă din două părți principale, prima și cea mai extinsă fiind organizată în cinci capitole care include raportul de progres al autorului în ultimii zece ani, adică perioada 2014 – 2024, iar ultima parte prezintă proiectele științifice viitoare și direcțiile de cercetare ale autorului.

Partea I. Contribuția în dezvoltarea de metode bioanalitice, progresul științific în perioada 2014 – 2024. Această parte constă în cele mai importante rezultate ale autorului acestei teze, exclusiv bazate pe articole științifice pe care le-a publicat ca prim autor și/sau autor corespondent, în ultimii zece ani și care au rezultat din conceptualizarea proprie a autorului.

Capitolul 1. Dezvoltarea de metode analitice pentru evaluarea capacității anti- și pro-oxidante, amprentare fitochimică și chemo-mapare chimică a probelor cu matrice complexă. Ca urmare a temei de doctorat a autorului, care a inclus purificarea și caracterizarea lacazei din *Sclerotinia sclerotiorum* și aplicarea acesteia în evaluarea activității antioxidante și prooxidante a extractelor de plante, autorul a continuat pentru câțiva ani să dezvolte noi metode în acest scop. Noutatea și originalitatea rezultatelor din acest capitol constau în proceduri noi pentru calculul testelor clasice precum inhibarea peroxidării induse a liposomilor și a degradării β -carotenului, activitatea antiplachetară și dezvoltarea unor teste noi și mai relevante fiziologic, care implică enzime precum peroxidaze și lacaze pentru determinarea activității anti- și prooxidante. Aceste tipuri de metode analitice nu vizează analiți specifici, ci evaluează caracteristici sau reactivități mai generale ale probelor complexe pe bază de plante, datorate prezenței unor clase largi de analiți, cum ar fi metaboliții secundari ai plantelor, precum polifenolii și subclasele acestora. În plus, urmărind caracterizarea generală cromatografică și spectroscopică a acestor tipuri de probe, autorul prezintă în acest capitol proceduri analitice

inovative pentru clasificarea și amprentarea anumitor fitocompuși folosind metode multivariate dedicate, cum ar fi analiza componentelor principale și analiza fuzzy discriminantă.

Capitolul 2. Dezvoltarea de metode analitice pentru analize cromatografice de probe ce conțin ingrediente de origine vegetală. În al doilea capitol, sunt prezentate trei metode analitice bazate pe cromatografie, dezvoltate în ultimii trei ani și aplicate pentru determinarea unor analiți specifici. Acestea includ optimizarea, validarea și aplicarea cu succes a acestor metode pentru determinarea seleniului total în materiale vegetale biofortificate, a alicinei și aliinei din *Allium sp.* și a unor capsaicinoide din creme topice. Fiecare dintre aceste metode prezintă diferențe în ce privește noutatea și originalitatea acestora. Prima metodă utilizează noi reactivi care îmbunătățesc selectivitatea și reduc interferențele pentru determinarea seleniului, precum și creșterea vitezei de determinare printr-un pas rapid de micro-extracție în fază solidă. A doua metodă se concentrează pe un pas nou de pre-derivatizare care permite determinarea simultană a doi analiți complet diferiți—alicina și aliina—într-o singură analiză HPTLC. A treia metodă prezintă un nou tip de procedură de regresie care permite îmbunătățirea semnificativă a preciziei în metodele standardului de adiție, astfel autorul a numit-o metoda extinsă a standardului de adiție.

Capitolul 3. Dezvoltarea de proceduri analitice pentru caracterizarea proprietăților chimice sau a reactivității compușilor chimici cu potențială activitate biologică. Acest capitol conține rezultate interesante legate de dezvoltarea procedurilor bioanalitice care permit caracterizarea proprietăților sau reactivității pentru diferite clase de analiți. Capitolul începe cu determinarea cromatografică a lipofilicității prin mijloace chemometrice pentru compuși de tip carbonil-tiosemicarbazide nou sintetizați și continuă cu alte metode multivariate avansate aplicate în evaluarea capacității de stingere a radicalilor, a caracterului reducător și a capacității de chelare a unei serii de aminoacizi proteinogeni. A treia secțiune a acestui capitol se concentrează din nou pe o abordare chemometrică pentru evaluarea puterii de reducere a unor compuși fenolici folosind profilele lor cinetice pentru reducerea fitohemoglobinei de tip feril. Ultimele două părți constau în utilizarea spectroscopiei RES și spectro-electrochimiei în caracterizarea reactivității redox, a unei serii de compuși fenolici. Procedurile analitice dezvoltate permit o discriminare foarte fină și subtilă a puterii reducătoare, capacității de stingere a radicalilor liberi, reactivității prooxidante, generării de superoxid și inhibării reacției Briggs-Rauscher, a compușilor fenolici investigați.

Capitolul 4. Tehnici spectroscopice ca instrumente bioanalitice aplicate în studiul proteinelor. În acest capitol, autorul își îndreaptă atenția asupra uneia dintre cele mai delicate și importante clase de analiți în chimia bioanalitică—proteinele. Prin intermediul unei serii de

tehnici spectroscopice, cum ar fi spectroscopia RES, spectro-electrochimia, spectrofotometria *stopped-flow* UV-vis, spectroscopia Raman și spectrometria de masă, diferite tipuri de hemoglobine au fost caracterizate și investigate analitic în ceea ce privește reactivitatea lor redox, cinetica de legare și disociere pentru diferiți liganzi, constantele de afinitate, modificări structurale și detectarea unor intermediari de reacție. Autorul acestei teze a reușit pentru prima dată să detecteze specia Fe(IV)=S și o specie radicalică de tip sulfanil, în timpul interacțiunii specifice a unor hemoglobine cu sulfura, în anumite condiții. Aceste specii chimice sunt foarte importante în explicarea reactivității globinelor investigate.

Capitolul 5. Dezvoltarea unei metode de detecție în timp real aplicată pentru ubiquitinarea mediată de PRT1, folosind spectroscopia de fluorescență polarizată. În ultimul capitol al acestei părți, este prezentată o metodă analitică remarcabilă dezvoltată și aplicată cu succes de autorul acestei teze pentru detecția în timp real a procesului de ubiquitinare prin intermediul spectroscopiei de fluorescență polarizată. Această metodă a fost dezvoltată în timpul stagiului postdoctoral al autorului și a fost validată prin testele de scanare a fluorescenței în gel de tip SDS-PAGE. Metoda a permis obținerea unor rezultate extrem de importante referitoare la comportamentul și preferințele ligazei E3 PRT1 în timpul procesului său catalitic de poliubiquitinare.

Partea a II-a. Proiecte și direcții de cercetare viitoare. În primul rând, este prezentată o scurtă descriere a carierei de cercetare a autorului. Aceasta a început în chimia analitică și s-a specializat în chimia bioanalitică, autorul a produs publicații semnificative și rezultate științifice notabile, a demonstrat leadership și independență în numeroase proiecte și a dezvoltat abilități necesare în mentoratul științific și de colaborare. În al doilea rând, autorul propune câteva direcții inovative de cercetare. Acestea includ dezvoltarea unor metode de calibrare unice pentru analiții dificili, cum ar fi radicalii liberi și metaboliții în urme, care sunt abordate insuficient de metodele tradiționale. Autorul își propune să îmbunătățească acuratețea unor metode aplicate în monitorizarea mediului, diagnosticarea clinică și a controlului calității farmaceutice prin aceste tehnici noi. În plus, autorul intenționează să dezvolte metode analitice bazate pe spectroscopia RES, în special pentru monitorizarea securității alimentare, și să utilizeze tehnici instrumentale cuplate, cum ar fi HPLC-ICP-MS, pentru analiza de speciere. Alte planuri viitoare implică aplicarea mecanochimiei în chimia analitică pentru a promova practici sustenabile și eficiente, și investigarea biochimică și criminalistică a otrăvurilor de origine vegetală, cu accent pe toxinele precum orellanina. Aceste direcții de cercetare subliniază angajamentul autorului față de inovația științifică și potențialul său de a continua să contribuie semnificativ în domeniu.