

dr hab. Agnieszka Chylewska  
Profesor uczelni  
KATEDRA CHEMII BIONIEORGANICZNEJ  
Wydział Chemii  
Uniwersytet Gdański

21.04.2003r. Gdańsk

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

pt. „Oddziaływania nowych układów supramolekularnych z biocząsteczkami”  
titled: „Interactions of new supramolecular systems with biomolecules”  
autorstwa mgr Martyny Szymańskiej

Na przestrzeni ostatnich dekad zsyntezowano setki połączeń koordynacyjnych jonów metali bloku *d*, badając je następnie pod kątem aktywności farmakologicznej. Projektowanie i synteza związków wykazujących właściwości kompleksujące jony metali jest między innymi związana z otrzymywaniem kompleksów mono- i polirdzeniowych, które mogą pełnić rolę prostych modeli układów biologicznych. W tym aspekcie na szczególną uwagę zasługują ligandy typu zasady Schiffa, w których obecność aktywnego chemicznie wiązania azometinowego CH=N stwarza możliwość syntezy związków o różnej strukturze chemicznej i różnorodnej aktywności farmakologicznej (wiązanie azometinowe spotka się w szeregu leków, których przykładami niech będą *Oxphaman* i *Oxphalin* – leki przeciwzapalne, *Progabid* – lek przeciwpadaczkowy, *Oxiconazol* – lek przeciwgrzybiczy, *Pinacidil* – antagonistą kanałów potasowych czy wreszcie *Furizalon* – lek przeciwgruźliczy). Spośród licznej grupy badanych pod tym kątem związków dużą uwagę kieruje się w stronę związków makroacyklicznych i makropolicyklicznych (supramolekuł), które ze względu na różnorodność struktur pełnią ważną rolę w projektowaniu nośników leków czy katalizatorów. Mechanizm ich działania pomaga w zrozumieniu procesów obejmujących takie dziedziny nauki jak biochemia, materiałoznawstwo, kataliza, zjawiska aktywacji, transportu, rozdzielania oraz chelatowania jonów.

Zaprojektowane przez mgr Martynę Szymańską suprabiomolekuły (nazywane tak przez doktorantkę z powodu ich szczególnej dupleksowej czy kwadrupleksowej struktury sferycznej) stanowią ciekawy obiekt badawczy ze względu na udowodnione przez Autorkę dysertacji silniejsze działanie kompleksujące w porównaniu z prostymi prekursorami iminowymi. Doktorantka w pełni scharakteryzowała otrzymane związki i wykorzystywała je dodatkowo w celu określenia mechanizmu ich oddziaływania z kwasem deoksyrybonukleinowym (CT-DNA) oraz albuminą surowicy bydlęcej (BSA), które obecnie w badaniach stanowią najczęściej rozważane cele molekularne klinicznie stosowanych leków, w tym metalofarmaceutyków o wysokim indeksie terapeutycznym.

Zrozumienie oddziaływania metaloukładów z makromolekułą DNA polega na określeniu miejsca i sposobu wzajemnego wiązania/oddziaływania, jego sekwencyjną specyficzność oraz kinetykę asocjacji/dysocjacji. Te wskazane aspekty zostały również szeroko omówione w trakcie realizacji projektu i opisane w przedstawionej do recenzji dysertacji.

W tym zakresie, przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Martyny Szymańskiej wpisuje się w topową tematykę naukowo-badawczą z zakresu chemii koordynacyjnej raportowaną w ogólnoświatowym trybie interdyscyplinarnym, a której efekty są zauważane, a przede wszystkim doceniane przez środowisko nauk ścisłych i przyrodniczych charakteryzując jednocześnie profil naukowy grupy badawczej, w której zrealizowana została praca doktorska.

### OCENA SYLWETKI I DOROBKU NAUKOWEGO KANDYDATKI

Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że Pani mgr Martyna Szymańska jest współautorką 8 artykułów naukowych (4 z nich stanowią podstawę rozprawy doktorskiej), a wg bazy *Web of Science* (dane z dn. 18.04.2023) już 9 publikacji, aktywnie uczestniczyła w realizacji projektów badawczych w charakterze kierownika (2 – NCN *Preludium* oraz uczelniany minigrant doktorancki w ramach projektu "*Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza*") oraz wykonawcy (1 – NCN "*OPUS*"). Doktorantka dodatkowo brała czynny udział w konferencjach naukowych (3 wystąpienia ustne, 10 prezentacji wyników w formie posterów na konferencjach międzynarodowych oraz 2 plakaty na sympozjach ogólnopolskich). Doktorantka jest również laureatką 5 nagród, w tym stypendium Narodowego Centrum Badań i Rozwoju, Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz Rektora Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

W mojej opinii, wspomniany dorobek należy uznać za ponadprzeciętny, a samą Kandydatkę – za posiadaczkę bogatego portfolio naukowego (h-indeks = 5; I. cyt. = 31; bez autocyt. = 23 wg. bazy *Scopus*).

### OCENA ASPEKTÓW FORMALNYCH ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Praca doktorska mgr Martyny Szymańskiej została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Violetty Patroniak (promotor) i dr Marty A. Fik-Jaskółki (promotor pomocniczy) w Zakładzie Syntezy Nanostruktur Funkcjonalnych UAM w Poznaniu. Tytuł przedstawionej rozprawy doktorskiej mgr Martyny Szymanskiej odpowiada zaprezentowanym w pracy wynikom badań, których cel i zakres tematyczny zostały jasno zdefiniowane, a zastosowana metodyka badań opisana poprawnie. Praca zawiera elementy typowe dla rozpraw doktorskich, które zostały zebrane w postaci opisu osiągnięcia naukowego i poparte artykułami w recenzowanych, znaczących czasopismach z tzw. listy filadelfijskiej *JCR* (*Journal Citation Report*). Praca zawiera

streszczenie w języku polskim (3 strony) i angielskim (3 strony), ankietę dorobku naukowego z podziałem na osiągnięcie w formie rozprawy doktorskiej i określeniem udziału autorki w powstawaniu artykułów połączone z pozostałymi wyróżnieniami (9 stron), przewodnik po publikacjach stanowiących rozprawę doktorską wraz z zawartym wykazem skrótów i komplementarnymi rozdziałami, takimi jak: 1. *Wstęp teoretyczny*, 2. *Cel pracy*, 3. *Omówienie wyników badań*, 4. *Podsumowanie*, 5. *Literatura*; dołączone kopie publikacji naukowych wchodzących w zakres rozprawy doktorskiej (110 stron), a w części finalnej, wymagane, kompletne oświadczenia wszystkich współautorów publikacji (18 stron). W tym miejscu pragnę podkreślić, że Kandydatka umieściła szczegółowy opis swojego osiągnięcia doktorskiego na 46 stronach, w formacie tekstu bezpośrednio poświęconego wykonanym syntezom jak i badaniom. Ten szczególnie rozważany pod kątem recenzji opis został przygotowany bardzo zwięźle, poprawnie merytorycznie i na wysokim poziomie w zakresie naukowego stylu wypowiedzi, co również jednoznacznie dowodzi pozyskania przez Doktorantkę umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz prezentacji uzyskanych wyników. W podsumowaniu Autorka podejmuje udaną próbę zebrania i usystematyzowania najważniejszych wyników i wniosków zawartych w dysertacji, a wyróżnione efekty jej pracy jednoznacznie dowodzą pełnej realizacji i osiągnięcia założonych wstępnie celów.

Pragnę podkreślić, że praca napisana jest wyjątkowo starannie, a mimo to Autorka nie uniknęła drobnych błędów edytorskich. Pozwolę sobie na ich przytoczenie z racji powinności recenzenckich, ale uznaję je za mające niewielki wpływ na ocenę formalną całej pracy i wnioskuję o potraktowanie ich raczej jako wskazówki do rozważenia w dalszej pracy naukowo-badawczej aniżeli błędy. Oto one:

- niefortunne sformułowania pojawiające się w opisie rysunków 10 i 15, „punkty danych doświadczalnych” (str. 29) oraz „eksperymentalne punkty danych” (str. 34) odnoszą się do tego samego, ale w treści nie oznaczają dokładnie tego samego i powinny zostać ujednoczone,
- rysunki przedstawione w dysertacji zawierają angielskie opisy osi X oraz Y, przy czym dysertację napisano w języku polskim (np. Rys. 11 str. 30 czy Rys. 16, 17 str. 35),
- separatory części dziesiętnych przy wartościach kątów dwuściennych podanych na str. 33 winny zawierać przecinek („przeoczenie” osób publikujących w języku angielskim),
- wartości stężeń (c) jak i stałych wiązania ( $K_b$  lub  $K_{sv}$ ) mogłyby zamiast symbolu „x” zawierać „-”, dla przykładu str. 52 i wartość „ $7,12 \times 10^4$ ” (brak jednostki), a w nowym zapisie: „ $7,12 \cdot 10^4$ ”,
- oznaczenie  $K_b$  (str. 42) dla chemika nieorganika identyfikuje stałą zasadową związku przez co w literaturze anglojęzycznej raportuje się stałą wiązania

- poprzez symbol „ $K_{bind}$ ” lub „ $K_{bin}$ ” – jak to uczyniła później sama kandydatka do stopnia doktora (str. 46),
- wartości ujęte na skali Y (Rys. 32, str. 45) można przedstawić w bardziej przyjaznym wymiarze np. „ $l \cdot 10^6$  [a.u.]”,
  - Rysunek 33 (str. 46) i zależności liniowe przedstawione na wykresach Scatcharda mogłyby zostać uzupełnione/poparte wartością współczynników korelacji uwzględnionych np. w opisie rysunku.

### OCENA ASPEKTÓW MERYTORYCZNYCH ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Dokonując oceny recenzowanej pracy na początku należy odnieść się do dobrze zdefiniowanego celu pracy tj. opracowania nowej grupy makrocyklicznych związków kompleksowych jonów metali [Fe(II/III), Ag(I), Cu(I), Ni(II)] z ligandami zawierającymi wiązanie iminowe lub hydrazonowe oraz w kolejnym etapie wskazania ich potencjału aplikacyjnego w zakresie wykazanych właściwości biologicznych i zdolności ich oddziaływania z CT-DNA oraz BSA. Tak sformułowany cel został w pełni osiągnięty przez Kandydatkę w efekcie przeprowadzonych syntez, analizy ich wyników oraz badań nad mechanizmem wiązania się związków kompleksowych z zsyntezowanymi makromolekułami.

Recenzowana praca obejmowała kilka obszarów tematycznych. Pierwszy z nich dotyczył projektowania i syntezy nowych ligandów prostych i kolejno makrocyklicznych zawierających szkielet zasady Schiffa oraz ich połączeń koordynacyjnych z wybranymi jonami metali przejściowych. W tym zakresie, uzyskano bogatą architekturę struktur krystalicznych w formie monokryształów wybranych ligandów i kolejno ich jednordzeniowych połączeń koordynacyjnych w przypadku centrów Fe(II/III) oraz Ag(I); związków bimetalicznych – Ag(I); kratkowych dla Cu(I) oraz struktur typu trójkąta dla Ni(II) z odpowiednimi ligandami). Drugi obszar rozprawy obejmuje problematykę analizy strukturalnej wszystkich otrzymanych związków metodami instrumentalnymi takimi jak: metody spektroskopowe (MS, UV-Vis, FT-IR, NMR) i rentgenostrukturalne (X-ray). Trzeci obszar odnosi się bezpośrednio do ustalenia różnorodnymi metodami eksperymentalnymi (spektroskopia UV-Vis, fluorescencyjna i dichroizm kołowy (CD), krzywe topnienia) sposobu, mocy i miejsca oddziaływania ww. połączeń koordynacyjnych oraz dodatkowo wolnych form ligandów z makromolekułami (tj. *Calf Thymus*-DNA, BSA), dla których podjęto szczegółowe rozważania dotyczące ustalenia mechanizmu takich interakcji. Ostatni wspomniany obszar uwzględniał podjęcia różnych metod opracowywania wyników w oparciu o wybrane zależności (Scatchard, Stern-Volmer, etc.). Co istotne, wykazano kluczową rolę centrum metalicznego w procesie wiązania CT-DNA. Związki kompleksowe Fe(II/III) i Ag(I) oddziałują interkalacyjnie, ale potwierdzony został również elektrostatyczny rodzaj oddziaływania badanych związków

z Ag(I). Dla większych supramolekularnych kompleksów typu kratki z jonami Cu(I) - ustalono bisinterkalatorowe zachowanie. Spójność uzyskanych wyników stanowi wartość, którą należy dodatkowo wysoko ocenić.

Podczas lektury rozprawy doktorskiej nasunęły mi się pewne zagadnienia do dyskusji i ewentualnego rozważenia przez Kandydatkę, które postanowiłam zebrać poniżej:

1. Czy w ocenie autorki dysertacji widma absorpcyjne dla oddziaływań liganda L ( $C_{14}H_{16}N_4S_2$ ) i jego kompleksu  $[Ag_2L_2]^{2+}$  z CT-DNA przedstawione w zakresie wartości długości fal 200-450 nm (rysunek 27, str. 42) mogłyby lepiej zobrazować czytelnikowi opisywane bato- i hipochromowe zmiany?
2. Co stanowiło podstawę metodologii badań fluorescencyjnych warunkujących dobór stężenia początkowego roztworu BSA ( $5 \mu M$ ) – makromolekuły oddziałującej zarówno z ligandem (wolna postać L) jak i jego połączeniem koordynacyjnym  $[Ag_2L_2]^{2+}$  (zakres stężeń obydwu indywiduów to 0-110  $\mu M$ )?
3. Co może być bezpośrednią przyczyną mieszanego typu oddziaływania  $[Ag_2L_2]^{2+}$  z BSA przedstawionego na wykresie uzupełniającym na Rys. 32 (prawy), opisywanego w tekście jako „początkowa zależność liniowa i kolejna – wykładnicza” (str. 45)?
4. W jaki sposób przygotowano 10 mM roztwór buforu Tris o pH 7,5 do badań z udziałem kompleksu C2  $[Ni_3L_3]^{6+}$  i Tel22 opisanych na str. 53? Czy bufor zawierał również inne składniki stabilizujące jak w przypadku buforu opisanego na str. 52?
5. W związku z pominięciem w dysertacji jednostki przy wartości stałej Sterna-Volmera dla procesu wygaszania fluorescencji (str. 52) proszę o sprecyzowanie w jakich jednostkach wyrażona jest ta stała i jaki jest sens fizyczny tej wielkości.

### PODSUMOWANIE RECENZJI WRAZ Z OCENĄ KOŃCOWĄ

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska pani mgr Martyny Szymańskiej pod tytułem „*Oddziaływania nowych układów supramolekularnych z biocząsteczkami*” bez wątpienia spełnia wszystkie ustawowe kryteria stawiane rozprawom doktorskim, zgodnie z obowiązującą *Ustawą z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* oraz późniejszymi zmianami w tym zakresie. W związku z tym wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnoszę do Rady o **wyróżnienie** rozprawy doktorskiej. Uzasadnienie stanowi dodatkowy załącznik do recenzji.

Z poważaniem,

*Agnieszka Chylewska*

dr hab. Agnieszka Chylewska, profesor uczelni



**UZASADNIENIE WNIOSKU O WYRÓŻNIENIE DYSERTACJI**

pt. „Oddziaływania nowych układów supramolekularnych z biocząsteczkami”  
titled: „Interactions of new supramolecular systems with biomolecules”  
autorstwa mgr Martyny Szymańskiej

W efekcie zapoznania się z nadesłanym Zarządzeniem nr 3/2021 Dziekana Wydziału Chemii UAM z dnia 21 czerwca 2021 roku w sprawie procedury przyznawania wyróżnienia rozpraw doktorskich na Wydziale Chemii UAM precyzującym kryteria aplikowania o ten typ promocji, pragnę złożyć wniosek do Szanownej Komisji Doktorskiej o wyróżnienie recenzowanej przeze mnie dysertacji Kandydatki, mgr Martyny Szymańskiej.

W nawiązaniu do treści zawartych w paragrafie 1, pkt. 2 ww. Zarządzenia, a dotyczących wymogu przedstawienia przez Recenzenta uzasadnienia ubiegania się o wyróżnienie pracy, pragnę przedstawić swoje stanowisko w ww. zakresie. Kandydatka jest pierwszym Autorem w aż trzech pracach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, w których wykazała swój dominujący wkład w ich powstanie. Co istotne, trzy z czterech artykułów, niebędących pracami przeglądowymi, a stanowiących podstawę dysertacji, ukazały się w czasopiśmie umieszczonych na wysokich pozycjach w rankingu *Scopus* (Molecules 83%; J. Mol. Liq. 90%; Dalton Trans. 88%). Powyższe dane stanowią podstawę mojej argumentacji o wyróżnienie. Niestety, z powodu nie umieszczenia w dysertacji typowego życiorysu Kandydatki (brak daty ukończenia studiów magisterskich bądź daty urodzenia Kandydatki), a więc z uwagi na moją niepełną wiedzę co do spełniania warunków ukończenia pracy doktorskiej w ciągu 5 lat od momentu rozpoczęcia studiów doktoranckich, tego wymogu nie jestem w stanie rozpoznać, przez co zwracam się z prośbą o jego potwierdzenie na posiedzeniu / obradach Komisji Doktorskiej.

Osiągnięcia chemii koordynacyjnej w projektowaniu nowych związków o potencjalnym działaniu farmakologicznym stanowią istotny wkład w rozwój skuteczniejszych metod walki z czynnikami chorobotwórczymi. Struktura metalofarmaceutyku, jego trwałość wobec czynników chemicznych, wielkość cząsteczki czy powinowactwo do oddziaływania (reaktywność) określają rolę farmakokinetyki w projektowaniu leków oraz wskazują jak ważne są badania *in vitro* nowych związków

aktywnych biologicznie. Naukowe treści zawarte w dysertacji mgr Martyny Szymańskiej, bez wątpienia mogą stanowić istotny wkład do znaczącego rozwoju tego obszaru chemii nawiązujący do projektowania i otrzymywania metalofarmaceutyków czy metaloterapeutyków. W mojej opinii rozprawa doktorska w sposób kompletny przedstawia analizy porównawcze w obrębie układów: makrocykloligand-kompleks w zakresie poszukiwania różnic i podobieństw strukturalnych, właściwości czy powinowactwa względem wybranego celu molekularnego (*Calf Thymus* DNA oraz *Serum Bovine Albumine* BSA). Tak opisane zależności poparte zostały wynikami z szerokiej gamy metod eksperymentalnych, różnorodnych i odpowiednio dobranych zależności matematycznych wykorzystanych przy opracowaniach zarejestrowanych danych. Wnioski sformułowane w finalnej części rozprawy nawiązujące bezpośrednio do wprowadzenia drugiego centrum metalicznego do połączenia koordynacyjnego (np. w przypadku  $[Ag_2L_2]^{2+}$ ), które stymulowało cały układ do tworzenia silniejszego wiązania/oddziaływania z makrobiomolekułą (DNA), stanowią w mojej opinii istotne dokonanie. Wszystkie prezentowane w dysertacji wyniki otrzymano kilkoma, niezależnymi technikami (np. dane spektroskopowe w zakresie UV-Vis w zestawieniu z danymi z fluorymetrii), dla których optymalizowano warunki prowadzenia badań w sposób indywidualny.

W uzasadnieniu mojego wniosku pragnę dodać, że recenzowana dysertacja została przygotowana niezwykle starannie, a na szczególną uwagę zasługuje również jej oprawa graficzna. Duże wrażenie wywarł na mnie graficzny abstrakt (strona 26) prezentujący idee naukowe, techniki badawcze i kolejne kroki prowadzące do uzyskania celu realizowanego projektu naukowego. Taki sposób przedstawienia głównych celów pracy doktorskiej świadczy o dojrzałości naukowej Kandydatki, jej samodzielności i posiadanych umiejętnościach. Dodatkowo, precyzyjnie przygotowany tekst dysertacji można uznać za wysoce satysfakcjonujący w odczuciu zobowiązań recenzenckich, których się podjęłam.

Mając powyższe na uwadze, uprzejmie proszę Komisję Doktorską Wydziału Chemii UAM w Poznaniu o pozytywne rozpatrzenie mojego wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pani mgr Martyńny Szymańskiej.

Z poważaniem,

Agnieszka Chylewska

dr hab. Agnieszka Chylewska, profesor uczelni