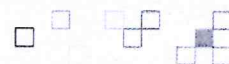


**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Martyny Nowak pt. *Preparatyka i charakterystyka nanomateriałów wykorzystywanych w detekcji związków kompleksowych***

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Zakładzie Chemii Koordynacyjnej, Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod kierunkiem Pani Prof. dr. hab. Renaty Jastrzab znanego i cenionego specjalisty z zakresu koordynacyjnej chemii bionieorganicznej i dotyczy zagadnień związanych nie tylko z preparatyką i charakterystyką nanomateriałów wykorzystywanych w detekcji związków kompleksowych, ale także reakcji kompleksowania poliamin i ich pochodnych oraz wybranych biocząsteczek takich jak fosfokreatyna, kwas glukuronowy i nukleotydy. Prezentowane rezultaty dotyczą wybranych jonów metali Cu(II), Mg(II) i obejmują badania w układach dwurdzeniowych, co jest pomocne w wykazaniu roli jonu magnezu jako czynnika ingerującego w sposób koordynacji jonów miedzi(II). Badania te pozwoliły wyjaśnić na poziomie molekularnym, konkurencyjność w/w jonów w układach biologicznych.

Dysertacja napisana jest w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opatrzonego opisem celu prowadzonych badań (w wersji polskiej i angielskiej) oraz omówieniem poszczególnych osiągnięć. Wchodzące w skład rozprawy prace zostały już opublikowane w bardzo dobrych czasopismach o obiegu międzynarodowym, w większości z tzw. listy filadelfijskiej o wysokim współczynniku oddziaływania: *Coordination Chemistry Review* (IF=13,324) – 1 praca, *Journal of Iran Chemical Society* – 2 prace (IF=1,407), *Journal of Coordination Chemistry* (IF=1.795) – 1 praca, *Physical Sciences Reviews* – 1 praca oraz *Journal of Applied Physics* (IF=2.068) – 1 praca. Zostały także zrecenzowane przez co najmniej dwóch niezależnych ekspertów, co w znacznej mierze ułatwia recenzentowi dysertacji pracę. Znajdziemy tu także objaśnienie stosowanych skrótów oraz bibliografię liczącą dobrze dobranych 81 pozycji, a także osiągnięcia Doktorantki w formie spisu prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.

Mgr Martyna Nowak opisuje również zastosowane w badaniach techniki pomiarowe – są to potencjometria, spektroskopia w świetle widzialnym, spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego, spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego, spektroskopia



w podczerwieni, spektroskopia Ramana, obliczenia za pomocą metody DFT, co wskazuje na bogaty warsztat eksperymentatorski i dużą biegłość w tym zakresie. Należy więc wyrazić uznanie dla dobrze przemyślanego, zaplanowanego i wykonanego szerokiego programu badań i zastosowania różnorodnych i nawzajem uzupełniających się technik dla weryfikacji postawionych hipotez badawczych.

Na czoło w prezentowanym przez Doktorantkę zestawie artykułów naukowych wybija się przede wszystkim, i to nie ze względu na imponujący impact factor, ale znaczenie tematyki, praca D1 dotycząca roli związków kompleksowych i ich charakterystyki spektroskopowej ze szczególnym uwzględnieniem kompleksów poliamin i ich pochodnych w układach biologicznych (R. Jastrzab, M.T. Kaczmarek, M. Nowak, A. Trojanowska, M. Zabiszak, *Complexes of polyamines and their derivatives as living system active compounds*, *Coord. Chem. Rev.*, 351, 32-44, 2017). Co prawda wg. bazy Web of Knowledge, nie była ona jeszcze cytowana, ale przecież fakt, że prace Einsteina były rzadziej cytowane nie świadczy, że ich wkład do nauki był mniejszy. Zapewne trzeba czasu by praca ta została dostrzeżona przez środowisko naukowe. Nie mam wątpliwości, że tak się stanie, bo poliaminy stanowią ważną grupę związków z uwagi na fakt, że zaliczane są do markerów nowotworowych.

Praca D2 omawia reakcje kompleksowania fosfokreatyny z jonami Cu(II) i Mg(II). Fosfokreatyna odgrywa kluczową rolę i jest najważniejszym źródłem energii w początkowej fazie wysiłku fizycznego o maksymalnej intensywności. Jest więc ważnym związkiem z punktu widzenia fizjologii człowieka, a także profilaktyki chorób naczyniowo-sercowych jako kluczowa substancja dostarczająca energii do resyntezy ATP w mięśniach poprzecznie prążkowanych typu sercowego. Niedobory fosfokreatyny wiążą się z osłabieniem siły skurczu serca i zmniejszeniem jego zdolności do regeneracji czynnościowej. Stąd duże znaczenie zaproponowanych badań i wykazanie, odmiennego sposobu koordynacji fosfokreatyny z jonami miedzi i magnezu przy pH fizjologicznym. Z kolei badania w układach heterordzeniowych mające na celu określenie konkurencyjności w/w jonów metali w stosunku do grup donorowych liganda połączone z komputerową analizą danych wykazały, że w tych warunkach w układzie Cu(II)/Mg(II)/PCr powstają kompleksy CuMg(HPCr) oraz CuMg(PCr). Dla kompleksów protonowanych jon Mg(II) łączy się z ligandem analogicznie jak w kompleksie Mg(PCr) tj. przez grupą fosforanową. Ponadto

obecność jonów $Mg(II)$ skutkuje usunięciem jonu $Cu(II)$ z grupy fosforanowej, co wpływa na zmianę jej otoczenia koordynacyjnego, czyli koordynacja zachodzi tylko przez grupę karboksylową. Udział atomu azotu guanidyny w kompleksowaniu został w tym przypadku wykluczony. Z kolei jak wynika z wykresu dystrybucji form kompleksowych w układzie $Cu/Mg/PCr$ dla dominującej formy dwurdzeniowej $CuMg(PCr)$ jon $Cu(II)$ tworzy wiązanie koordynacyjne z atomem azotu ugrupowania guanidynowego fosfokreatyny, zaś grupa fosforanowa zostaje zablokowana przez jon $Mg(II)$.

W pracy D3 mgr Martyna Nowak przedstawiła wyniki badań nad kompleksowaniem jonów $Cu(II)$ i $Mg(II)$ z kwasem D-glukuronowym (GluA). Tworzenie się kompleksów typu $M(GluA)$ (gdzie M to jon metalu) oraz $Cu(GluA)(OH)$ i $Cu(GluA)(OH)_2$ i sposób koordynacji jonów $Cu(II)$ i $Mg(II)$ oparła na analizie danych potencjometrycznych, widm Vis i EPR , ^{13}C NMR . Pomimo, iż widm Vis i EPR dla kompleksów $Cu(II)$ z GluA zabrakło w przedstawionym streszczeniu zbioru artykułów naukowych, zostały one zamieszczone w pracy D2 (Fig.3, str. 2178). Na ich podstawie wykazano, że głównym centrum koordynacji jest grupa karboksylowa. Potwierdzona została także dla kompleksów $Cu(II)$ z GluA dychotomia koordynacyjna, czyli występowanie kompleksu w dwóch formach izomerycznych, analogicznych jak dla znanego układu $Hg(II)$ -GluA. Analogiczne wyniki, co do wskazania centrum koordynacji uzyskano dla hydroksokompleksów typu $Cu(GluA)(OH)$ i $Cu(GluA)(OH)_2$. Biorąc pod uwagę wyniki obliczeń teoretycznych DFT potwierdzono, że w koordynacji uczestniczy w/w grupa karboksylowa oraz dodatkowo grupa hydroksylowa nie pochodząca od kwasu D-glukuronowego. Dla kompleksów $Mg(GluA)$ zasugerowano podobny sposób koordynacji, jak w przypadku kompleksów $Cu(GluA)$.

Cykl prac D4-D6 poświęcony został omówieniu preparatyki struktur nanometalicznych srebra na powierzchniach mogących znaleźć zastosowanie w powierzchniowo wzmocnionej spektroskopii Ramana (SERS). Jak podkreśla Autorka nanocząstki metali ze względu na nanometryczny rozmiar wykazują unikatowe właściwości fizyczne, chemiczne oraz biologiczne przy jednoczesnym zachowaniu właściwości charakterystycznych dla skali makro. Wielkość i kształt nanostruktur oraz homogeniczności pokrycia powierzchni podłoży kompatybilnych z wieloma związkami organicznymi jest niezwykle istotne ze względu na ich potencjalne zastosowanie w metodzie SERS. Przekłada się to bezpośrednio na wielkość współczynnika

wzmocnienia rozpraszania ramanowskiego i silnie zależy nie tylko od zastosowanego metalu, ale i długości fali wzbudzającej. Uzyskanie takiego uniwersalnego SERS-aktywnego podłoża jest dużym wyzwaniem.

Po raz pierwszy zjawisko SERS zostało zaobserwowane w 1974 roku przez Fleishmana, Hendre oraz McQuillana i wyjaśnione 3 lata później dla widm SERS pirydyny zaadsorbowanej na elektrodzie srebrowej. SERS jest techniką badawczą wywodzącą się z klasycznej spektroskopii Ramana. Charakteryzuje się znacznym wzmocnieniem natężenia rozproszonego sygnału Ramana przez cząsteczki zaabsorbowane na powierzchni metali, dzięki czemu możliwe jest rejestrowanie widm oscylacyjnych nawet przy bardzo niskich stężeniach analitu rzędu 10^{-16} M (tj. praktycznie dla pojedynczych cząsteczek). Wzmocnienie elektromagnetyczne jest związane z powstawaniem plazmonów powierzchniowych w nanocząstkach metalicznych. Warunkiem koniecznym jest jednak by średnica ziaren naniesionych na powierzchnię SERS-aktywną metali takich jak srebro, złoto czy miedź była znacznie mniejsza od długości promieniowania wzbudzającego. Ponadto w metodzie tej obserwuje się znaczną redukcję tła fluorescencyjnego (typowego dla związków biologicznych), zwiększoną selektywność informacji molekularnej, z uwagi na fakt, że tylko te cząsteczki bardzo blisko powierzchni metalu dają wkład do rejestrowanych widm. Efekt wzmocnienia chemicznego jest związany z chemisorpcją molekuł na powierzchni metalicznej. Istotną rolę w tym procesie odgrywa transfer ładunku między podłożem a molekułą, zatem efekt wzmocnienia chemicznego jest ograniczony jedynie do pierwszej warstwy adsorbatu. Z uwagi na chropowatość powierzchni może również dochodzić do koncentracji ładunku na ostrych krawędziach. Wykazano także istnienie tzw. *hot spots*, miejsc które dają wyjątkowo duże wzmocnienia. Metoda wykorzystywana jest na potrzeby wyznaczania molekularnej tożsamości i strukturalnej charakterystyki pojedynczych molekuł, zmian fizycznych i chemicznych zachodzących w tkankach i komórkach, co ma swe odbicie w możliwościach diagnostycznych i późniejszej terapii medycznej. Ponadto znajduje zastosowanie w inżynierii materiałowej, biochemii, medycynie, toksykologii, ochronie środowiska, katalizie oraz elektrochemii. Nic więc dziwnego, że dziedzina ta charakteryzuje się dużą dynamiką rozwoju i jest interesująca z poznawczego i aplikacyjnego punktu widzenia.

Godne pochwały jest niesztampowe podejście Doktorantki tj. wykorzystanie jeszcze komercyjnie dostępnych srebrnych płyt kompaktowych CD-R jako alternatywnego źródła nanosrebra do pokryć SERS-aktywnych powierzchni, w odróżnieniu od tych tradycyjnych (koloidy, materiały uzyskiwane na drodze redukcji elektrochemicznej) (praca D5). W celu określenia właściwości otrzymanych podłoży na bazie płyty CD-R zastosowano barwnik ksantenowy. Jak wykazano, Rodamina 6G okazała się bardzo dobrym związkiem referencyjnym, a zmierzone wzmocnienie sygnału było skorelowane z występowaniem i wielkością nanostruktur srebra.

W pracy D6 omówione zostały zagadnienia związane z preparatyką podłoży SERS-aktywnych tj. sposób trawienia blaszek miedzianych i osadzania warstw nanosrebra w zależności od czasu i stężenia roztworu AgNO_3 . Zastosowanie metody skaningowej mikroskopii elektronowej SEM z modułem EDXS pozwoliło na kontrolowanie tego procesu i określenie składu pierwiastkowego badanych powierzchni. Zaobserwowano znaczący wpływ zarówno czasu osadzania jak i stężenia azotanu(V) srebra(I) na efektywność procesu osadzania elektrolitycznego. Moim zdaniem warto byłoby się pokusić o analizę chropowatości powierzchni otrzymanych powierzchni i znalezienie korelacji pomiędzy wzmocnieniem sygnału, a tym parametrem.

Warto podkreślić, że uzyskane materiały SERS-aktywne zostały wykorzystane w badaniach kompleksów adenozy-5'-trifosforanu (ATP) z jonami Co(II) i Ni(II) typu $\text{M(H}_2\text{ATP)}$, M(HATP) i M(ATP) . Na ich podstawie udało się określić koordynację jonu Co(II) z cząsteczką ATP przez atom azotu N(1). Z kolei w przypadku jonu Ni(II) koordynacja następuje poprzez donorowy atom azotu N(7), co jednoznacznie wskazuje na tworzenie się dwóch form izomerycznych, w których w jednej w koordynacji uczestniczy donorowy atom azotu N(1), a w drugiej donorowy atom azotu N(7).

Biorąc powyższe pod uwagę, najważniejsze cele jakie postawiła przed sobą Doktorantka: wyznaczenie stałych trwałości związków kompleksowych - jon metalu/bioligand (poliaminy, fosfokreatyna, kwas D-glukuronowy lub nukleotyd); ustalenie sposobu koordynacji w/w kompleksach; wykazanie konkurencyjności jonów magnezu i miedzi w układach modelowych; zaproponowanie sposobu preparatyki nanomateriałów wykazujących aktywność wzmacniającą sygnały w spektroskopii Ramana; przedstawienie charakterystyki materiałów wykorzystanych jako

podłoża do wzmocnienia sygnałów w spektroskopii Ramana oraz przeprowadzenie identyfikacji izomerów kompleksowych powstających w układach jon Ni(II) lub Co(II)/adenozyno-5'-trifosforan przy zastosowaniu powierzchniowo wzmocnionej spektroskopii Ramana zostały osiągnięte.

Temat rozprawy uważam za ważny zarówno z poznawczego jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Jak wykazano, uzyskane wyniki z powodzeniem mogą być zastosowane na potrzeby powierzchniowo wzmocnionej spektroskopii Ramana, a w przyszłości poprzez detekcję związków kompleksowych, w diagnostyce medycznej m.in. w leczeniu chorób nowotworowych, cywilizacyjnych oraz detoksyfikacji.

Część doświadczalna, uzyskane rezultaty i wyciągnięte na ich podstawie wnioski wszystkich omawianych artykułów naukowych i sam dobór czasopism wskazuje, że główny nacisk został położony na aspekt aplikacyjny. Badania przedstawione w recenzowanej pracy doktorskiej są bardzo dobrze zaplanowane i starannie wykonane, a analiza i opis otrzymanych wyników pokazuje, że Doktorantka dobrze orientuje się w literaturze przedmiotu i potrafi poprawnie analizować otrzymane wyniki. Za spostrzeżeniem tym, oprócz oceny samych prac, przemawia także analiza oświadczeń współautorów. Zgodnie z obowiązującymi standardami do rozprawy dołączony został bowiem stosowny wykaz. Wynika z niego, że udział Doktorantki w realizowanych pracach był znaczny i wynosił 25% w przypadku pracy D1, 45% w przypadku prac D2 i D6, wiodący 80% w pracy D3 oraz 40% w pracach D4 i D5, co przy liczbie współautorów od 3 do 6 gwarantuje rzetelną współpracę.

Zwyczajowym elementem recenzji rozpraw doktorskich, jest wskazanie drobnych uchybień, czy potknięć językowych związanych z żargonem, interpunkcją itp. W przypadku streszczenia jest to raczej trudne, chociaż zauważyłam drobne potknięcia edytorskie i interpunkcyjne oraz niezbyt trafne sformułowania, które w żaden sposób nie umniejszają wartości pracy. Dla zasady przytaczam przykładowe: pojęcie 'hydrokompleks' zamiast 'hydroksokompleks', sformułowanie 'badania spektroskopowe dla tego kompleksu były przeprowadzone przy pH jego dominacji', a raczej 'badania spektroskopowe dla tego kompleksu zostały przeprowadzone dla wartości pH, przy których dominuje forma Cu(GluA)(OH)', czy 'wielkość srebrnych nanostruktur srebra' zamiast 'wielkość nanostruktur srebra'. Generalnie, jednak należy podkreślić, że streszczenie zostało przygotowane bardzo starannie. Szata graficzna jest estetyczna i czytelna.

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Martynty Nowak w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 4 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. Ustaw nr 65 poz. 595 z późn. zm.) i wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoki poziom prezentowanych prac i dużą aktywność naukową Doktorantki zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o jej wyróżnienie stosowaną nagrodą. Rozprawa jest spójna, przemyślana pod względem eksperymentatorskim, zawiera wiele nowych interesujących wyników mających znamiona nowości naukowej. Charakter podjętej przez mgr Martynę Nowak tematyki badawczej ma także duże znaczenie praktyczne, a wypracowany dorobek badawczy jest znaczny. Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki zaliczyć można: 1) optymalizację procesu preparatyki koordynacyjnych materiałów SERS aktywnych wzmacniających sygnały Ramana, 2) bogatą charakterystykę morfologii otrzymanych materiałów, 3) wyjaśnienie sposobu koordynacji wybranych jonów metali z bioligandami z uwzględnieniem układów heterordzeniowych

Lublin, 20.12.2017

