

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ
mgr Klaudii Stachowiak

pt. *„Reakcje kompleksowania cukrowych pochodnych urydyno-5'-difosforanu – charakterystyka spektralna oraz badania aktywności biologicznej”*

Na przestrzeni ostatnich dekad szczególne zainteresowanie środowiska naukowego budzą związki koordynacyjne jonów metali bloku *d* z wyselekcjonowanymi ligandami organicznymi. Obiekty te stanowią przedmiot wnikliwych badań obejmujących zarówno ocenę ich aktywności biologicznej, jak i pogłębione analizy zależności typu struktura–aktywność (SAR), prowadzonych w odniesieniu do układu wolny ligand *versus* jego związek koordynacyjny.

Tematyka pracy doktorskiej mgr Klaudii Stachowiak poświęcona jest badaniom procesu kompleksowania w układach zawierających sacharydowe pochodne urydyno-5'-difosforanu (UDP-cukry) z dwuwartościowymi jonami metali, tj. Cu(II), Co(II) i Ni(II). Wybrane w projekcie UDP-cukry, kwas UDP-glukuronowy (UDP-GluA), UDP-*N*-acetylglukozamina (UDP-GlcNAc) oraz UDP-glukoza (UDP-Glc), to uniwersalni dawcy reszt cukrowych w reakcjach katalizowanych przez glikozylotransferazy, stanowiący kluczowe metabolity na pograniczu szlaków energetycznych i biosyntezy glikanów. Z chemicznego punktu widzenia cząsteczki te stanowią dogodne ligandy do tworzenia bogatej chemii kompleksów z jonami metali przejściowych, z uwagi na posiadane wielocentrowe miejsca koordynacyjne: dwufunkcyjną, silnie anionową grupę difosforanową (O,O-didonor), potencjalnie koordynujące grupy hydroksylowe pierścienia cukrowego oraz heteroatomy nukleozydu (karbonylo- i *N*-donory części urydylowej).

Zrozumienie termodynamiki, kinetyki i struktury kompleksów UDP-cukrów z jonami metali bloku *d* ma znaczenie zarówno dla chemii koordynacyjnej, jak i biochemii metali. W warunkach fizjologicznych rolę kofaktorów glikozylotransferaz pełnią głównie Mg(II) i Mn(II), natomiast wprowadzenie Cu(II), Co(II) czy Ni(II), różniących się preferencjami koordynacyjnymi, może istotnie zmieniać stabilność i tryb wiązania ligandów. Skutkuje to odmienną trwałością powstających kompleksów, ich labilnością oraz potencjalną aktywnością enzymatyczną wobec wiązań fosfodiesterowych. Ma to przełożenie biomedyczne, tj.: modulacja kompleksowania UDP-cukrów wpływa na glikozylację, kluczowy proces potranslacyjnej obróbki białek, formowania glikokaliksu

i rozpoznawania immunologicznego; w mikroorganizmach może zaburzać biosyntezę składników ściany komórkowej; obecność Cu(II), aktywnego w EPR, umożliwia spektroskopowe mapowanie miejsc wiązania, co ma z kolei znaczenie diagnostyczne.

Podsumowując, badania kompleksowania cukrowych pochodnych UDP z jonami Cu(II), Co(II) i Ni(II) mają charakter podwójnie praktyczny. Po pierwsze, pogłębiają rozumienie elementarnych interakcji metal–nukleotyd, a po drugie, otwierają perspektywy dla medycyny – od chemicznych narzędzi do profilowania i kontroli glikozylacji, aż po projektowanie selektywnych układów terapeutycznych i diagnostycznych wykorzystujących właściwości spektroskopowe i redoks wybranych jonów metali. Tak szeroka i pogłębiona synteza wiedzy stanowi solidną podstawę merytoryczną do oceny wartości oraz oryginalności badań przedstawionych w dysertacji, a zarazem odzwierciedla profil naukowy zespołu badawczego, w którym praca została zrealizowana. Decyzja o podjęciu tego tematu, zapewne wypracowana wspólnie przez Panią Promotor, prof. dr hab. Renatę Jastrząb, Promotora Pomocniczego, dr. Michała Zabiszaka, oraz Doktorantkę, mgr Klaudię Stachowiak, zasługuje na wysoką ocenę. Należy również podkreślić trafność wyboru kierunku badań, który ściśle koresponduje z aktualnymi trendami rozwoju chemii koordynacyjnej oraz jej rosnącym znaczeniem w opracowywaniu innowacyjnych rozwiązań medycznych.

OCENA SYLWETKI I DOROBKU NAUKOWEGO KANDYDATKI

Pani mgr Klaudia Stachowiak jest współautorką 3 artykułów naukowych (jeden z nich stanowi podstawę rozprawy doktorskiej, w której Kandydatka pełni rolę pierwszej Autorki, zaś dwa pozostałe łączą się tematycznie i badawczo z rozprawą), czego potwierdzenie stanowią dane zdeponowane w bazach *Web of Science* czy *Scopus* (dane z dn. 28.08.2025). Co istotne, Kandydatka jest również współautorką 5 polskich monografii, przy czym w każdej z nich pełni rolę pierwszej Autorki.

Aktywność naukowa mgr Klaudii Stachowiak znajduje potwierdzenie również w przytoczonym spisie jej licznych udziałów / wystąpień na konferencjach krajowych i międzynarodowych, obejmujących komunikaty ustne (4) jak i w formie posterów (6), przy czym jedną z Jej prezentacji ustnych wyróżniono.

Jest laureatką kilku nagród (2) i wyróżnień naukowych (2 stypendia). Odbyla też staże (2 krajowe, 1 zagraniczny). W okresie trwania doktoratu, z sukcesem pozyskiwała fundusze na realizację zadań badawczych (2-letni minigrant doktorancki; 2-krotne wsparcie finansowe z konkursów ID-UB).

Dodatkowo, Kandydatka wykazuje się działalnością popularno-naukową, w ramach której aktywnie (kilkukrotnie) uczestniczyła w Poznańskim Festiwalu Nauki i Sztuki, Nocy Naukowców czy Festiwalu Filmu Chemicznego. Co ważne, Pani Klaudia Stachowiak zadbała o samorozwój poprzez uczestnictwo w wielu kursach i szkoleniach, rozwijając swoją pasję i pogłębiając wiedzę w kierunku komercjalizacji

osiągnięć z zakresu chemii, np. w obszarze innowacyjnych zastosowań nieorganicznych związków chemicznych czy zarządzania produktem chemicznym.

Przytoczone osiągnięcia świadczą o wysokich kompetencjach merytorycznych mgr Klaudii Stachowiak, jej znacznej aktywności badawczej, organizacyjnej oraz posiadanej istotnej umiejętności w zakresie pozyskiwania środków finansowych na realizację własnych projektów naukowych.

W mojej opinii, wspomniany dorobek należy uznać za adekwatny, a samą Kandydatkę – za posiadaczkę własnego portfolio naukowego (h-indeks = 2; l. cyt. = 22; wg. bazy *Scopus*). W mojej opinii, sylwetka naukowa mgr Klaudii Stachowiak w pełni predestynuje ją do uzyskania stopnia doktora w dyscyplinie nauki chemiczne.

OCENA ASPEKTÓW FORMALNYCH ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Praca doktorska mgr Klaudii Stachowiak została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Renaty Jastrząb (promotor) i dr. Miachała Zabiszaka (promotor pomocniczy) w Zakładzie Chemii Koordynacyjnej, na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza (UAM) w Poznaniu. Tytuł poddawanej ocenie rozprawy doktorskiej mgr K. Stachowiak w pełni odpowiada zaprezentowanemu w pracy wynikowi 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 artykułem opublikowanym w prestiżowym czasopiśmie *Molecules* (2024, 29, 3695) ujętym w liście *JCR (Journal Citation Report)*. Praca zawiera streszczenie w języku polskim (2 strony) i angielskim (2 strony), spis treści (2 strony), wstęp (2 strony), spis stosowanych skrótów i symboli (1 strona), część teoretyczną (38 stron), cel pracy (1 strona), część eksperymentalną (13 stron), wyniki i dyskusję (35 stron), podsumowanie (2 strony), bibliografię (144 referencje, 10 stron) oraz dorobek naukowy (4 strony) wraz z załącznikami [tekst publikacji – 13 stron i oświadczenia współautorów (6)]. Komplementarność rozprawy doktorskiej nie budzi zastrzeżeń, a wszystkie wymogi formalne zostały spełnione.

W tym miejscu pragnę podkreślić, że Kandydatka umieściła szczegółowy opis swojego osiągnięcia doktorskiego na 115 stronach, w formacie tekstu bezpośrednio poświęconego wykonanym badaniom popartych uzyskanymi i opracowanymi danymi eksperymentalnymi oraz adekwatnymi referencjami. Szczególnie rozważany pod kątem recenzji rozdział “Wyniki i dyskusja” 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.

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 niski wpływ na ocenę formalną całej pracy i wnioskuję o potraktowanie ich raczej jako wymaganej korekty redakcyjnej. Poniżej przedstawiam listę w odniesieniu do numeracji stron:

- s. 24, ostatnie zdanie przed Rys. 6 – wymieniony lek „*auranofin*” to „auranofina”
- s. 25, Tabela 3 – nazwy bakterii (*łacińskie*) winny być zapisane fontem „*Italic*” - zgodnie z konwencją użytą w reszcie pracy
- s. 31, pkt. 3 – nieujęty w skrótach „OUN” tj. Ośrodkowy Układ Nerwowy
- s. 33, opis rysunku 13 – „Witamina B₁₂” zapisana w środku zdania wielką literą
- s. 54, Tabela 11 – wzór sumaryczny w drugiej pozycji - brak indeksów dolnych
- s. 55 – opis roztworów buforowych a) Ftalan i b) Boraks - nie odpowiada podanym substancjom składowym; podobnie jest dla roztworu NaOH oznaczonego jako c) na tej stronie – zapewne pomyłono miejsca wklejania tekstu dla przypadku a) i b), natomiast w przypadku c) - zastosowano kopiowanie tekstu bez dokonania końcowej jego korekty
- s. 63, zapis „4,5x10³” warto zamienić na „4,5•10³”
- s. 65, niekonsekwentne cytowanie „Rysunek 18a”, innym razem „Rys. 18b”
- s. 69, akapit pod Tabelą 17 - nie odmieniona forma wyrazy na początku zdania „Wewnętrznej sfera koordynacyjna [...]” lub s. 71, pod Rys. 23 – użyto „miejsc donorowe”
- s. 89, Tabela 27 – opis Tabeli i reszta tekstu pracy powinna zawierać „Wartości ogólnych stałych trwałości [...]” jako, że prezentowane są dane liczbowe
- s. 91, przedostatnie zdanie przed Rys. 39 – brakuje kropki kończącej zdanie
- s. 98, pierwsze zdanie – zamiast „uridyno” winno być „urydno”.

OCENA ASPEKTÓW MERYTORYCZNYCH ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Recenzowana rozprawa doktorska charakteryzuje się wysokim poziomem merytorycznym, zarówno w zakresie zaprojektowania, jak i realizacji programu badawczego. Na szczególne podkreślenie zasługuje interdyscyplinarność przeprowadzonych badań, łączących metody klasycznej analizy chemicznej i spektroskopowej z badaniami biologicznymi, co pozwoliło na uzyskanie pełnego i wieloaspektowego obrazu badanych układów.

W pierwszej kolejności chciałabym odnieść się do właściwie i precyzyjnie sformułowanego celu badań, którym było zbadanie procesu kompleksowania

w układach zawierających cukrowe pochodne urydyno-5'-difosforanu z jonami metali przejściowych bloku *d* na drugim stopniu utlenienia, przeprowadzenie pełnej charakterystyki termodynamicznej i spektroskopowej otrzymanych form kompleksowych oraz wykonanie badań biologicznych.

Sformułowany w ten sposób cel został w pełni zrealizowany przez Autorkę dzięki przeprowadzeniu szczegółowych badań potencjometrycznych w układach o stosunku molowym jon metalu:ligand 1:1 (7 układów) oraz 1:2 (6 układów). Badania te poprzedzono analizą właściwości kwasowo-zasadowych trzech UDP-cukrów. Następnie określono skład wewnętrznej sfery koordynacyjnej powstających kompleksów przy wykorzystaniu metod spektroskopowych (UV-Vis, EPR), a także wykonano testy cytotoksyczności (MTT) wobec linii komórkowych raka płuca (A549), raka pęcherza moczowego (T2H) oraz zdrowych komórek nabłonka urotelialnego (SV HUC-1). Dodatkowe analizy NMR (^{13}C , ^{31}P) i CD pozwoliły na potwierdzenie obecności określonych chromoforów oraz wykazanie występowania tautomerii typu *laktam*–*laktim* w pierścieniu urydyny UDP-cukrów w warunkach zasadowych.

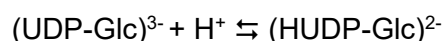
Dysertacja obejmuje szerokie spektrum tematyczne, zintegrowane w ramach poszczególnych etapów badawczych. Na szczególne podkreślenie zasługuje zakres przeprowadzonych badań, obejmujący wykorzystanie pięciu metod chemicznych (potencjometria, spektroskopia UV-Vis, NMR, CD, EPR) oraz jednej biologicznej (test MTT). W tym kontekście należy wyrazić uznanie dla ogromnego nakładu pracy Autorki, zarówno w części eksperymentalnej, jak i w opracowaniu wyników, które zostały przedstawione w sposób bardzo logiczny i spójny. Co ciekawe, wykazano różne formy jonowe badanych ligandów wiążące centra jonowe Cu(II), Co(II), Ni(II) oraz potwierdzono różne rodzaje koordynacji (np. poprzez różne miejsca donorowe; tworzenie się kompleksów jednordzeniowych i dimerycznych).

Przedstawione badania tworzą konsekwentny ciąg analityczny – od ustalenia liczby i charakteru miejsc protonacji ligandów (UDP-Glu, UDP-GlcNAc, UDP-Glc), poprzez analizę procesów kompleksotwórczych z udziałem jonów Co(II), Cu(II) i Ni(II) wraz z ich charakterystyką strukturalną i fizykochemiczną, aż po określenie właściwości biologicznych nowo otrzymanych kompleksów Cu(II) z HUDP-Glc, UDP-GluA oraz HUDP-GlcNAc. Autorka trafnie porównała aktywność kompleksów z aktywnością wolnych ligandów, wykazując, iż cytotoksyczność badanych związków jest silnie zależna od czasu inkubacji. Co istotne, wyniki badań biologicznych wskazały na brak istotnych zmian w aktywności metabolicznej zarówno ligandów, jak i ich kompleksów Cu(II) po 24-godzinnej inkubacji w zdrowych komórkach, które stanowiły punkt odniesienia.

Całość otrzymanych rezultatów cechuje się wysokim stopniem spójności i stanowi istotny wkład w poszerzenie istniejących baz danych fizykochemicznych.

Podczas lektury rozprawy doktorskiej nasunęły mi się pewne zagadnienia do dyskusji z Kandydatką, które postanowiłam zebrać poniżej:

1. W zapisach reakcji przedstawionych w Tabeli 15 (s. 64) dla kwasu urydyno-5'-difosfoglukuronowego nie zostały uwzględnione formy $H_3UDP-GluA$ oraz $H_2UDP-GluA$, pomimo, że Autorka zastosowała poprawny zapis w artykule *Molecules*, 2024, 29, 3695, p. 3 of 13. Uprzejmie proszę o wyjaśnienie przyczyny tej rozbieżności.
2. „Podsumowanie”, trzeci akapit (s. 99): „*Dla ligandów UDP-GluA i UDP-GlcNAc zidentyfikowano trzy formy, natomiast dla UDP-Glc – jedną formę.*”. Z kolei, już reakcja protonowania UDP-Glc (Tabela 15, s. 64) prezentuje dwie formy jonowe liganda:



Uprzejmie proszę o doprecyzowanie, czy różnica w podanej liczbie form wynika z przyjętej definicji form, zastosowanej metodologii oznaczania jonów czy z innego kryterium?

3. Co może być przyczyną tworzenia się form dimerycznych potwierdzonych jako produkty tylko dla jonów $Co(II)$ oddziaływujących z formą HUDP-GlcNAc?
4. Dlaczego wartości stałych $[log\beta]$ dla $Cu(OH)_2$, $Ni(OH)_2$ oraz $Co(OH)_2$ oraz iloczynu jonowego wody (pK_w) podane na s. 57 mają ujemny znak?
5. Jakie plany zawodowe ma niezwykle pracowita Kandydatka i czy wiąże je z pracą na Uczelni?

PODSUMOWANIE RECENZJI WRAZ Z OCENĄ KOŃCOWĄ

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska pani mgr Klaudii Stachowiak pod tytułem „*Reakcje kompleksowania cukrowych pochodnych urydyno-5'-difosforanu – charakterystyka spektralna oraz badania aktywności biologicznej*” **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 Wysokiej Rady o **wyróżnienie** rozprawy doktorskiej, przy czym uzasadnienie stanowi poniższy paragraf.

UZASADNIENIE WNIOSKU O WYRÓŻNIENIE

Wysoka jakość uzyskanych wyników, ich spójność oraz szczegółowe opracowanie świadczą o dojrzałości naukowej Autorki i jej umiejętności prowadzenia kompleksowych badań na pograniczu chemii nieorganicznej, bioanalitycznej oraz bionieorganicznej. Należy także zwrócić uwagę na imponującą skalę eksperymentalną pracy, obejmującą wieloetapowe miareczkowania potencjometryczne, analizy spektroskopowe oraz testy biologiczne, których wyniki zostały poddane wnikliwej analizie i rzetelnej interpretacji. Rozprawa cechuje się ponadto wzorową konstrukcją logiczną – od jasno postawionych celów badawczych, poprzez ich metodyczną realizację, aż po spójne i trafne wnioski. Wartością dodaną dysertacji jest również jej potencjał aplikacyjny. Wyniki badań nad nowymi kompleksami metali(II) z UDP-cukrami, w tym ich aktywnością cytotoksyczną, mogą stanowić podstawę do dalszych prac w kierunku projektowania nowych związków o znaczeniu biologicznym i medycznym.

W efekcie zapoznania się z Zarządzeniem nr 3/2021 Dziekana Wydziału Chemii UAM dotyczącym procedury wyróżniania rozpraw doktorskich oraz biorąc pod uwagę bardzo wysoki poziom naukowy rozprawy, jej interdyscyplinarność, znaczenie uzyskanych wyników i ogromny wkład pracy Autorki, wnioskuję o **wyróżnienie** tej rozprawy.

Z poważaniem,

dr hab. Agnieszka Chylewska, profesor uczelni