

Prof. dr hab. inż. Barbara Becker

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Joanny Drzeżdżon
zatytułowanej:

„Badania fizykochemiczne polikarboksyłanowych związków koordynacyjnych jonów metali przejściowych jako potencjalnych antyoksydantów”

Przedstawiona mi do recenzji praca powstała w Katedrze Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem dr hab. Dagmary Jacewicz, profesora U.G. i wpisuje się w ten nurt badań Katedry, który lokuje się na styku chemii nieorganicznej i biologii. Przedłożona praca dotyka bowiem tematyki tzw. reaktywnych form tlenu, a konkretnie możliwości ich usuwania przy pomocy syntetycznie konstruowanych antyoksydantów.

Rozprawa miała w zamierzeniu autorki mieć chyba układ typowy, aczkolwiek jego praktyczna realizacja nieco odbiegła od ogólnie przyjętego schematu. Praca została przygotowana w bardzo poręcznym formacie B5 i liczy 211 stron. Zasadniczy tekst został podzielony na cztery rozdziały: **1. Wprowadzenie i cel** (str. 7-8), **2. Przegląd literaturowy** (str. 8-39), **3. Część doświadczalna** (str. 39-183) i **4. Literaturę cytowaną** (str. 183-198). W rozprawie znajdziemy aż 156 rysunków i 42 tabele.

Punkt **5. Wykaz dorobku naukowego** (strony 199-211), gdzie zostały wymienione wszystkie publikacje i doniesienia konferencyjne autorki, trudno uznać za integralną część rozprawy, chociaż spełnia on niewątpliwie rolę informacyjną.

Zanim w dalszej części recenzji przejdę do komentowania poszczególnych fragmentów rozprawy chciałabym pokrótce wypowiedzieć się bardzo ogólnie na temat całości. Praca sprawia dobre początkowe wrażenie za sprawą strony wizualnej. Jest opatrzona bardzo licznymi, dobrze zaprojektowanymi rysunkami i tabelami, co zawsze znacznie ułatwia zrozumienie materiału. To, co odbieram jako pewną niedogodność przy czytaniu to brak nici przewodniej przy numeracji badanych związków oraz brak zestawienia skrótów i akronimów. Wiem z doświadczenia, że rozprawy doktorskie są często czytane przez studentów i doktorantów rozpoczynających prace badawcze w nieznanym im uprzednio temacie. Jasność sformułowań i łatwość czytania tekstu ma wtedy spore znaczenie.

Pochwalenie autora jest przywilejem recenzenta, ale najwięcej uczymy się nie na podstawie pochwał, ale krytyki. Dlatego też obecnie pozwolę sobie na zgłoszenie tych krytycznych uwag, które nasunęły mi się w trakcie czytania. Będą to uwagi różnego typu. Pominę tak zwane literówki i usterki stylistyczne. Niestety, zdarzają się i czytając, zaznaczałam je odręcznie w otrzymanym egzemplarzu rozprawy, który przekażę doktorantce. Swoje komentarze odniosę do kolejnych części rozprawy.

1. Wprowadzenie i cel rozprawy

Interesujące i kompetentne wprowadzenie oraz jasne określenie celu powinno być obowiązkowe i zachęcać nas do czytania. Niestety, autorka jest mało precyzyjna i niektóre stwierdzenia powtarza. Za przykład może służyć zajmujące aż cztery wiersze tekstu zdanie w punkcie 1.1 „Zastosowanie syntetycznych antyoksydantów (...) terapii.” Nie wiadomo dlaczego przytoczono je aż dwukrotnie, bo trudno uznać zmianę tylko jednego słowa („również” na także”) za istotną różnicę.

Mogę postawić kilka pytań, które nasunęły mi się już w trakcie pierwszego, pobieżnego czytania. Co autorka rozumie pod pojęciem np. metali przejściowych? Co chciała przekazać wzmiankując „gęstość ładunku” w odniesieniu do preparatów enzymatycznych?

W króciutkim punkcie 1.2 omawiającym zakres i cel badań dowiadujemy się, że przedmiotem tychże badań będą związki kompleksowe Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} i VO^{2+} z ligandami polikarboksylanowymi oraz „wybranymi ligandami aromatycznych zasad azotowych”. Dlaczego autorka dokonała takiego wyboru jonów? Dlaczego zostały wybrane ligandy polikarboksylanowe? Jak należy rozumieć tekst zacytowany wyżej i opatrzony cudzysłowem? Chciałabym poznać uzasadnienie dokonanych wyborów.

Podsumowując, ten bardzo ważny z punktu widzenia „umocowania problemu” fragment rozprawy uważam za zbyt krótki i lakoniczny. O ile nie uzyskam bliższych wyjaśnień w trakcie publicznej obrony, to z pewnością o nie zapytam.

2. Przegląd literaturowy

Przegląd literaturowy porusza kilka tematów, które niejako zostały „dotknięte” we wprowadzeniu.

Mamy więc trochę danych na temat związków kompleksowych Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} i VO^{2+} z ligandami polikarboksylanowymi. Na samym wstępie spotykamy się np. ze schematem związku kompleksowego $[\text{Cu}(\text{ida})(\text{H}_2\text{O})(\text{phen})]4\text{H}_2\text{O}$ (Rys. 1). Trzeba przyznać, że jest to technicznie najgorszy z rysunków zamieszczonych w pracy, wręcz nieczytelny. Dlaczego??? Pozostałym 155 rysunkom trudno cokolwiek zarzucić, są bowiem bardzo starannie wykonane i bardzo dobre. Od razu też zadajemy sobie pytanie co oznacza skrót *ida* użyty we wzorze związku, który w przeciwieństwie do *phen* i *bpy* nie jest powszechnie znany. Odpowiedź, że jest to anion kwasu iminodioctowego znajdziemy dopiero na kolejnej stronie, bo zestawienia często stosowanych w pracy skrótów brak. Zaraz obok wzmiankowane są aniony podobnych kwasów: diglikolowego (*oda*), tiodioctowego (*tda*) oraz N-metyloiminodioctowego (*mida*). Dopiero po przeczytaniu kolejnego rozdziału rozprawy zauważamy, że to właśnie do tych ligandów dikarboksylanowych autorka zawęziła swoje prace eksperymentalne.

Przytoczone zostały reprezentatywne przykłady znanych i interesujących autorkę związków kompleksowych oraz ich dane strukturalne. O ile wśród tych ostatnich istotna jest na przykład informacja o sposobie koordynacji ligandu dikarboksylanowego (*fac* lub *mer*) i tym samym strukturze kompleksu, to przytaczanie wartości parametrów komórek elementarnych charakteryzujących strukturę kryształów związków wydaje się zbędne, a już na pewno zbędne jest podawanie wartości α i $\gamma = 90^\circ$ dla układu jednoskośnego.

Kilka przytoczonych przykładów ma ilustrować związki kompleksowe z ligandami polidentnymi, wśród nich jeden z ligandem Tp, określonym jako „anion kwasu boranowego połączonego z trzema pierścieniami pirydazolu”. Nie jest mi znany kwas „boranowy” ani związek „pirydazol”. Myślę, że przytoczone przez doktorantkę określenie jest po prostu niezbyt udanym tłumaczeniem. Skrótem Tp oznaczany jest bowiem wielokleszczowy ligand $[\text{HB}(\text{pz})_3]^-$ czyli hydrotris(pirazol-1-ilo)boran, znany pod zwyczajową nazwą skorpionianu.

Rozdział ma też niewielki podpunkt poświęcony czynności biologicznej związków kompleksowych z grupy interesujących autorkę jonów metali. Znajdziemy też kilka zdań (punkt 2.4) na temat 1,10-fenantroliny, 2,2'-bipirydyłu oraz 1,4'-dimetoksy-2,2'-bipirydyłu, które posłużą później jako ligandy dodatkowe. Zwracam uwagę, że użyte w tekście zwyczajowe stwierdzenie: „*Bpy pełni rolę liganda kleszczowego w związkach kompleksowych...*” ma swoje wyjątki, o czym pisząca te słowa przekonała się osobiście.

Stosunkowo sporo uwagi doktorantka poświęca wprowadzeniu czytelnika w problematykę reaktywnych form tlenu (str. 15-28) – ich charakterystykę, metody detekcji, oddziaływanie na organizm człowieka i w końcu usuwanie i rolę przeciwutleniaczy. Te ostatnie pochodzą z różnych źródeł: występują w przyrodzie lub są otrzymywane na drodze syntezy, są niezbędne do życia człowieka jak np. witamina C dostarczana z pożywieniem, czy enzymy obecne w organizmach żywych i wiele różnych syntetycznych biomimetyków. Pomijam różne mało istotne drobiazgi, ale dwa detale zwróciły moją uwagę.

W akapicie 2.5.2 czytamy (cytaty):

„*Dla anionorodnika ponadtlenkowego pK_a wynosi 4,69.*” Chyba chodzi o pK_a kwasu sprzężonego z O_2^- czyli HO_2^- ?

„*W roztworze wodnym anionorodnik ponadtlenkowy pozostaje w równowadze z rodnikiem nadtlenkowym.*” Zupełnie nie rozumiem tego stwierdzenia. Czym jest ten rodnik nadtlenkowy? Czy chodzi o cząsteczkę tlenu trypletowego?

Kolejny spory fragment przeglądu danych literaturowych został poświęcony badaniom fizykochemicznym. Poziom omawianych zagadnień waha się od trywialnych (patrz p. 2.7.1.1 potencjometria) po trudne (p. 2.7.2.1.2). Wprawdzie nie jestem fachowcem od badań kinetycznych metodami spektrofotometrycznymi, ale zagadnienia związane z problemami interpretacji wyników są przedstawione w rozprawie w sposób chyba zbyt lakoniczny i w rezultacie niejasny. Tak na marginesie – czy wykresy I i II na Rys. 15 powinny być identyczne? To, co autorka zawarła jako treść punktu 2.7.2.1.3 jest słuszne w odniesieniu do każdego pomiarów mierzalnych wielkości, nie tylko w odniesieniu do pomiarów spektrofotometrycznych.

Przegląd literatury kończy krótkie omówienie metod badań właściwości antyoksydacyjnych związków kompleksowych. Jest to fragment przystępnie napisany, interesujący dla przeciętnego chemika i na pewno pouczający. Przeczytałam go z zainteresowaniem.

3. Część doświadczalna

Część określona jako „doświadczalna” odbiega swą zawartością od zwyczajowo oczekiwanych, suchych opisów prac eksperymentalnych i zwięzłej prezentacji zastosowanych technik pomiarowych. W rozdziale tym, obejmującym aż 143 strony, mamy bowiem obok

danych precyzujących np. sposób prowadzenia eksperymentów także omówienie kolejnych etapów badań doktorantki i sukcesywne przedstawianie uzyskanych wyników. Wnioski końcowe z tych badań autorka rozprawy zebrała na 3 ostatnich stronach rozdziału. Jest to, oczywiście, najważniejsza część rozprawy. Być może lepszym tytułem byłby „Badania własne – ich realizacja, wyniki i wnioski” ale i on nie odzwierciedla dobrze zawartości. Cóż, forma pracy zależy od doktoranta i nie musi on powielać utartych schematów.

W punkcie 3.1 autorka zwięźle omawia procedury syntezy związków stosowanych w dalszych badaniach, a w punkcie 3.2 koncentruje się na ich identyfikacji i charakterystyce, zwięźle omawiając podstawy metodyczne wykonywanych oznaczeń. Zainteresowały mnie bliżej badania właściwości antyoksydacyjnych, a szczególnie metoda z użyciem błękitu nitrotetrazoliowego (NBT, punkt 3.2.4.1). Niestety, próba prześledzenia procesu redukcji zgodnie z Rys.19 okazała się trudna bez szkła powiększającego, a w końcu pozwoliła zauważyć, że rysunek ma błędy. Błędny jest także tytuł punktu 3.2.4.2 rozprawy. Kolejna wątpliwość pojawia się w punkcie 3.2.4.3 gdzie na Rys. 21 mamy kationodirodnik, chociaż w podpisie i w tekście jest mowa o ABTS⁺.

Praca jest zasadniczo napisana w trybie bezosobowym (zrobiono, określono, itd.) co nie pozwala jednoznacznie określić autorstwa wyników. Jest mało prawdopodobne by wszystkie badania i pomiary robiła doktorantka, samodzielnie wyciągając wnioski, bo wtedy liczne wieloautorskie publikacje oparte o te wyniki miałyby jednego autora. Rozumiem, że tak jak wszędzie analizy elementarne zostały wykonane przez wyspecjalizowaną pracownię. A jak to wyglądało w przypadku rejestracji i interpretacji widm FTIR? Czy to doktorantka dokonywała pomiarów na dyfraktometrze, czy rozwiązywała struktury? Proszę mnie dobrze zrozumieć. Nie widzę niczego złego w korzystaniu z danych dostarczonych przez wyspecjalizowane pracownie, bo aparatura jest coraz droższa i coraz bardziej skomplikowana, ale oczekuję od doktoranta zrozumienia zasady pomiaru, umiejętności samodzielnej interpretacji otrzymanych wyników i ew. podania, kto za ten wynik odpowiada merytorycznie, jeżeli nie był to doktorant. Niekiedy współpraca jest zaletą, niekiedy koniecznością, ale trzeba o tym umieć napisać. W eksperymencie dyfraktometrycznym oczekuję na przykład umiejętności rozwiązania struktury na podstawie zbioru refleksów dostarczonego przez operatora przyrządu. Uzyskanie bowiem monokryształu nadającego się do badań jeszcze nie uprawnia do bycia autorem rozwiązania strukturalnego. Tego samego typu pytania dotyczą innych stosowanych technik badawczych – spektrometrii UV-vis, badań elektroanalitycznych i oczywiście badań biologicznych. Problem jest mało istotny w przypadku publikacji, gdzie odpowiedzialność za wyniki spoczywa bardzo często na grupie autorów. Rozprawa doktorska ma jednak jednego autora i to jego umiejętności kwalifikują go, bądź nie, do otrzymania stopnia doktora.

Wynikiem prac autorki jest synteza 38 związków, z których 6 nie było dotychczas opisanych w literaturze obcej. Tożsamość wszystkich potwierdziła analiza elementarna i zarejestrowane widma IR. W rozprawie znalazły się też dane strukturalne dla trzech z nich – związków kompleksowych wanadu – [VO(ida)(bpy)]2H₂O **29**, [VO(ida)(phen)]2H₂O **30** oraz [VO(mida)(dmbpy)]1,5H₂O **32**.

W podpunkcie 3.3.1.3 analiza struktury (str. 57) znajdziemy stwierdzenia, z którymi trudno się zgodzić:

„2,2'-Bipirydył posiada strukturę połączonych dwóch pierścieni pirydyny. Jego cząsteczka jest płaska.” Otóż np. w kryształach 2,2'-bipirydyłu jego cząsteczka płaska nie jest...

„Pierścienie pirydynowe posiadają strukturę płaską, natomiast grupy $-O-CH_3$ wykazują budowę przestrzenną przez hybrydyzację sp^3 atomu tlenu oraz węgla.” O co w tym stwierdzeniu chodzi?

W przekroju całej rozprawy autorka niepotrzebnie używa dwóch różnych skrótów dla określenia tego samego ligandu – bpy i bipy. Por. Tabele 13, 14 i Rys. 23, 31, 72, a nawet skróty na tym samym rysunku – np. Rys. 23, 78, 80 i w wielu innych miejscach tekstu.

Interesujące są badania potencjometryczne opisane w p. 3.3.2. Szkoda, że nie udało się uniknąć aż trzech błędów zauważonych przeze mnie na stronie 71 przy wyprowadzeniu wzoru na $[H_2XDA]$. Być może są to grube „literówki”, bo ostateczny wynik wyprowadzenia jest poprawny. Korekty wymagałyby także podpisy pod rysunkami 41-44.

Kolejnym, istotnym i ciekawym fragmentem rozprawy są badania zawarte w p. 3.3.3 i dotyczące procesu substytucji dwóch cząsteczek wody (akwa ligandy) przede wszystkim w binarnych kompleksach kobaltu(II) i niklu(II) przez ligandy phen i bpy, a dla kompleksów miedzi(II) także w DMSO jako rozpuszczalniku. Na podstawie uzyskanych wyników kinetycznych zaproponowano mechanizm reakcji substytucji.

Tekst wprowadzający czytelnika w metodykę badań kinetyki reakcji akwatacji (punkt 3.3.3.1, str. 123) staje się zrozumiały dopiero wtedy, gdy sięgniemy po artykuł na ten temat [136]. Szkoda, bo zagadnienie jest ciekawe i mimo nieprecyzyjnego wprowadzenia jednak badania doprowadzono do etapu, który pozwolił na zaproponowanie mechanizmu. Zadaniem recenzenta jest jednak ocena rozprawy, a nie wyżej wymienionego artykułu, w którym doktorantka jest tylko jednym z sześciu współautorów.

W kolejnym etapie badań autorka zajęła się określeniem właściwości antyoksydacyjnych otrzymanych 38 związków kompleksowych względem anionorodnika ponadtlenkowego. Wykorzystała w tym celu cykliczną woltamperometrię i testy z użyciem błękitu nitrotetrazoliowego (NBT). Wykazała, że do usuwania ze środowiska reakcji stabilnych rodników organicznych – 2,2'-difenylo-1-pikrylohydrazylu (DPPH•) i kationorodnika ABTS•⁺ zdolne są tylko związki wanadu(IV).

Rozprawę uzupełniają badania biologiczne (punkt 3.3.5). Toksyczność i właściwości cytoprotekcyjne ośmiu wybranych związków kompleksowych zostały zbadane przy pomocy testów LDH i MTT na linii HT22 komórek neuronowych hipokampa myszy (3.3.5.1) i ludzkich fibroblastach (3.3.5.2), tych ostatnich także w warunkach stresu oksydacyjnego wywołwanego dodatkiem nadtlenu wodoru. Dla kilku związków został też określony potencjał antyoksydacyjny. Podrozdziały te są napisane dość trudnym językiem. Chcąc zrozumieć przekazywane informacje niejednokrotnie musiałam szukać wyjaśnień w źródłach zewnętrznych. Co więcej, chyba nawet autorka nie zauważyła wkradającego się do jej wywodów chaosu. Po co, na przykład, wprowadzać nowe numery dla związków, którym numery przypisano już na początku rozprawy – patrz str. 53 (Tabela 2) i strony 158, 166, 176? Jak wytłumaczyć powtarzanie się tych samych tekstów na stronach 161 i 170 – „Potencjał antyoksydacyjny (...) mierzono fluorescencją.”?

Część doświadczalną rozprawy kończą interesujące, choć eksperymentalnie proste badania wpływu siedmiu wybranych związków kompleksowych oraz $M(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ($M=Co, Ni$) na hodowle sześciu różnych gatunków bakterii.

Rozdział zamykają trzy strony wniosków (punkt 3.4), w których jednak autorkę trochę ponosi hurra optymizm. Możemy uważać, że wiemy już sporo, ale to ciągle jeszcze kropla w morzu, nawet w zakresie tak pozornie wąskiego tematu jak polikarboksylany metali.

Zestawienie wykorzystanych źródeł – **4. Literatura cytowana** obejmuje 139 pozycji, z tego wiele z ostatniego dziesięciolecia. Dobór źródeł i cytowanie ich jest poprawne, więc nie mam uwag.

Podsumowując, za największą zaletę tej rozprawy uważam nie tyle jej poszczególne wyniki, co interdyscyplinarność. Z całą pewnością zakres badań wymagał od doktorantki szerokiego, nietypowego przygotowania merytorycznego i z pewnością dużo ją nauczył. Mając na względzie poszukiwania skutecznych i nietoksycznych syntetycznych antyoksydantów należy tę rozprawę uznać za krok w dobrą stronę. Co więcej, realizacja pracy bardzo różnorodnej pod względem naukowym pokazuje, że autorka ma odwagę nie tylko podejmować tematy trudne i wymagające, ale także ma umiejętność realizowania ich i doprowadzania do stanu, w którym możliwe staje się wyciąganie wniosków i tym samym modyfikacja postępowania w dalszych etapach. Innymi słowy, mimo krytycznych uwag jakie zawarłam w tej recenzji uważam, że Pani mgr Drzeżdżon wykazała się bardzo dobrą ogólną wiedzą teoretyczną w uprawianej dyscyplinie naukowej jaką jest chemia oraz umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Pogląd ten znajduje mocne uzasadnienie w liczbie aż 11 współautorskich publikacji, które przytaczają zawarte w rozprawie wyniki, lub dotyczą rozwiązywanych w niej problemów.

Doktorantka jest bardzo aktywna naukowo, o czym świadczy załączony do tekstu rozprawy punkt **5. Wykaz dorobku**. Na tym etapie kariery naukowej jest to wykaz imponujący.

Biorąc pod uwagę wszystko, co napisałam powyżej, uważam, że **przedstawiona mi do oceny rozprawa spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65/03, poz. 595 z późn. zm.)**. Wnoszę zatem o dopuszczenie Pani mgr Joanny Drzeżdżon do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

