

Siedlce, 3.05.2025 roku

Dr hab. Danuta Branowska prof. UwS
Instytut Nauk Chemicznych
Ul. 3 Maja 54
Uniwersytet w Siedlcach
Ul. Konarskiego 2
08-110 Siedlce

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani magister Karoliny Babiczuk „Koniugaty indolowe – synteza, analiza strukturalna i ocena aktywności biologicznej”.

Praca doktorska została zrealizowana pod kierunkiem Pani prof. UAM dr hab. Beaty Jasiewicz w Zakładzie Produktów Bioaktywnych Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu i wpisuje się w zainteresowania naukowe i tematykę badawczą z zakresu związków heterocyklicznych, którą zajmuje się Pani profesor z dużym powodzeniem.

Recenzja została przygotowana na wniosek Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu Pana prof. dr hab. Macieja Kubickiego (uchwała z dnia 28 marca 2025 roku nr 59/2024/2025).

Praca doktorska przedstawiona mi do recenzji jest napisana w formie spójnego tematycznie cyklu artykułów opublikowanych (w ilości trzech i czwartego wysłanego do redakcji nieznanego mi czasopisma, jak i braku informacji do momentu przygotowywania tej recenzji) w recenzowanych czasopismach naukowych, znajdujących się na liście JCR i wysoko punktowanych w wykazie czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych z dnia 5 stycznia 2024 roku. Doktorantka jest pierwszą autorką 3 prac z przedstawionej listy, w czwartej jest na drugim miejscu, zaraz po promotorze. Dodatkowo, z oświadczeń współautorów dołączonych do dokumentacji wynika, że Jej wkład w powstanie artykułów dotyczył przede wszystkim syntezy opisanych związków (jest to informacja zamieszczona jako pierwsza w oświadczeniach Doktorantki), ale również współudział w badaniach właściwości biologicznych syntetyzowanych struktur (hemolitycznych i antyoksydacyjnych), przeprowadzenie badań chemoinformatycznych *in silico* za pomocą ogólnie dostępnego programu SwissADME oraz współudział w opracowaniu manuskryptu i dyskusji wyników.

Na pierwszym miejscu Doktorantka występuje w następujących artykułach: P2 – *Molecules* **2023**, 28, 4132; P3 – *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, 25, 5364 i P4 – o nieznanych danych. W P1 – jest na drugiej pozycji zaraz po promotorze w czasopiśmie opublikowanym w *Molecules*, **2023**, 28, 708.

Czasopisma, w których Doktorantka opublikowała artykuły od P1 do P3 znajdują się w grupie czasopism Q2 co oznacza, że są to publikacje, które znajdują się w drugim kwartylu i plasują się w 50-75 percentylu wśród czasopism w danej kategorii tematycznej, zgodnie ze wskaźnikami cytowań w globalnych bazach danych, takich jak Scopus lub Web of Science. Kwartyl 2 to druga najbardziej prestiżowa kategoria czasopism naukowych w systemie rankingowym opartym na cytowaniach i wpływie naukowym (np. impact factor). W tym miejscu warto zwrócić uwagę, iż Doktorantka opublikowała prace P1-P3 w czasopismach o sumarycznym IF = 13,3 i liczbie punktów ministerialnych 420 pkt, co już pod względem statystycznym dla Doktorantki jest bardzo dobrym osiągnięciem naukowym.

Wszystkie przedstawione prace naukowe P1-P4 są poprzedzone opisem dotyczącym syntezy, analizy strukturalnej i badań biologicznych w języku polskim, chociaż tylko na stronie 36 Autorka konkretnie uwzględniła swoje dokonania naukowe w odniesieniu do konkretnych publikacji i zawartego tam materiału badawczego – aktywności hemolitycznej. Ubolewam nad brakiem takich informacji dotyczących innych dokonań i wniosków w odniesieniu do poszczególnych publikacji co nie zostało w taki sposób zrealizowane przez Doktorantkę.

Poniższa recenzja zawiera ocenę wartości merytorycznej całości pracy doktorskiej oraz zgodności założeń i tematu z osiągnięciami końcowymi, doboru literatury, metod badawczych, wyników pomiarów oraz ich analizy, a nie stanowi oceny merytorycznej poszczególnych publikacji w szczególności trzech pierwszych, które zostały zrecenzowane przed pojawieniem się w renomowanych czasopismach.

Recenzowana rozprawa zawiera 61 stron maszynopisu, w tym 242 pozycje literaturowe. W skład rozprawy wchodzi również publikacje, wraz z załącznikami stanowiącymi integralną część artykułów Doktorantki.

Praca zawiera: 1) stronę tytułową; 2) spis treści; 3) życiorys naukowy; 4) listę publikacji; 5) wstęp i cel pracy; 6) część literaturową, 7) wyniki badań, 8) podsumowanie, 9) porównanie numeracji związków w rozprawie doktorskiej i publikacjach; 10) schematy przeprowadzonych syntez; 11) bibliografia.

Rozprawę uzupełniają również streszczenia w języku polskim i angielskim, przedstawione w sposób zwięzły, może aż za bardzo skrótowy, jednakże bardzo komunikatywny i umożliwiają szybkie zapoznanie się z problematyką i wynikami pracy.

Ponadto w pracy są zamieszczone kopie publikacji wchodzące w skład rozprawy doktorskiej i ich materiały uzupełniające. Autorka nadała odrębną numerację stronom w dołączonych publikacjach; dla każdej z nich od początku, co moim zdaniem nie ułatwiło odszukiwania opisywanych zagadnień. Ponadto, do każdej z publikacji dołączone są oświadczenia wszystkich współautorów publikacji określające indywidualny udział każdego ze współautorów w powstanie każdej z publikacji. Zarówno cel, jak i zakres badań w powiązaniu z wynikami innych autorów, zostały w rozprawie określone jednoznacznie.

Struktura podziału treści pracy, jak również kolejność rozdziałów nie budzą wątpliwości. Tekst jest napisany poprawną polszczyzną, starannie edytowany – znalazłam parę drobnych literówek i kilka niezręczności stylistycznych (zamieszczonych poniżej), co nie wpływa na wartość naukową dysertacji.

Główny cel pracy doktorskiej został sformułowany jasno i dotyczył:

- syntezy koniugatów indolowych: indolowo-imidazolowych, indolowo-tioketonowych i indolowo-pirazolowych.
- Drugim równorzędnym zadaniem było określenie ich właściwości antyoksydacyjnych i hemolitycznej eksperymentalnie a następnie analiza zależności aktywności od ich budowy chemicznej.
- Aktywność przeciwbakteryjna i przeciwgrzybicza była testowana zarówno dla koniugatów jak i kompleksów pochodnych indolowych.
- Równie ważnym elementem pracy była synteza kompleksów indolowo-imidazolowych z $ZnCl_2$ i ich badania aktywności biologicznej, które Doktoranta w dużej części sama wykonywała.
- Innymi czynnościami, które Doktorantka uwzględniła w swojej pracy było określenie struktury rentgenograficznej syntetyzowanych związków jak i prawie wszystkich kompleksów z jonami cynku. Co do opisu której czuję niedosyt interpretacyjny przez Doktorantkę, a który zapewne wynika z badań wykonanych przez członków innego zespołu - Zakładu Krystalografii Wydziału Chemii UAM.
- Nie zabrakło w pracy doktorskiej ważnych badań - dokowania molekularnego, pozwalające na predykcję preferowanej pozycji ligandu po związaniu się z makromolekułą (enzymem) co stanowi doskonałe źródło informacji o właściwościach antyoksydacyjnych nowych układów.

Część pierwsza pracy - literaturowa zawiera ogólną wiedzę dotyczącą koniugatów i biokoniugatów oraz związków hybrydowych, a także opis właściwości heteroaromatycznych układów stanowiących podstawowy element budowy - szkielet syntetyzowanych nowych

produktów. Są to wiadomości dotyczące indoli, graminy oraz imidazolu i pirazolu z grupy azoli. Doktorantka omówiła ich charakter pod względem aktywności biologicznej co jest bardzo cennym materiałem przeglądowym z obszaru azoli i benzazoli.

Niezwykle wartościowe wydaje się być praktyczne przełożenie uzyskanych wyników przedstawione w części - wyniki badań. Ta, druga część pracy to opis szeregu eksperymentów a właściwie już ich zwięzła analiza dotycząca: syntezy połączeń heterocyklicznych jak i ich kompleksów, analizy spektroskopowej otrzymanych produktów łącznie z analizą rentgenostrukturalną. Ciekawym elementem pracy są różnorodne badania biologiczne (przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze) potwierdzane analizą biodostępności za pomocą programów chemoinformatycznych i komputerowa metoda dokowania molekularnego.

Rozprawa doktorska mgr Karoliny Babiczuk jest poświęcona wybranym aspektom zależności aktywności związków od struktury, co w ostatnich latach jest bardzo cenną informacją dla badanych układów o potencjalnej aktywności farmaceutycznej. Szczególnie interesujące są badania nad ustaleniem grupy farmakoforowej odpowiedzialnej za określony typ aktywności co chciałabym, aby bardziej szczegółowo zostało podsumowane i zinterpretowane na obronie w ujęciu do nowych struktur. I kolejna prośba związana ze zjawiskiem bioizosterii, jakie analogie w zakresie budowy, grup funkcyjnych zostały wprowadzone dla pochodnych indolu w odniesieniu do znanych aktywnych związków w celu potwierdzenia aktywności – hemokompatybilnych, cytoprotekcyjnych i chelatujących.

Wszystkie publikacje P1 - P4 mogły powstać dzięki uzyskaniu szeregu nowych układów, jak podaje Autorka, ponad 35 nowych struktur. Każda z publikacji dotyczy innych układów heteroaromatycznych. Są to: pochodne indolu jako koniugaty w P1- indolowo-imidazolowe i indolowo-tioketonowe i w P4 - pochodne indolowo-pirazolowe. Chciałabym zwrócić uwagę, iż opis preparatywny otrzymywanych produktów jest bardzo skrupulatny i pełny, co świadczy o doskonałym warsztacie syntetycznym Doktorantki. W materiałach dodatkowych przesłanych do redakcji czasopism widma spektroskopowe wykonane metodami magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H i ^{13}C wszystkich produktów są bardzo czyste, a opis profesjonalny. W związku z powyższym chciałam w tym miejscu jeszcze raz zwrócić uwagę na profesjonalizm Doktorantki w zakresie syntezy. Nie budzi wątpliwości moja pozytywna opinia o nabytej wiedzy, jak i umiejętności Doktorantki w obszarze zainteresowań układami pięcioczłonowymi heterocyklicznymi zawierającymi atomy azotu i siarki. Na pewno zdobyta wiedza przy syntezie związków indolowo-imidazolowych zaowocowała umiejętnością jej wykorzystania przy projektowaniu nowych układów nieznanych w literaturze indolowo-pirazolowych (P4). Mam w tym miejscu pewien niedosyt i trudność w analizowaniu struktur dla publikacji P1 i P2 dla

których widm spektroskopowych nie zostały narysowane struktury chemiczne związków, jak to ma miejsce dla publikacji P3 czy P4.

Publikacja P2 jest również w dużej mierze wkładem syntetycznym pracy Doktorantki ze względu na opracowaną procedurę syntezy związków kompleksowych, przeprowadzenie ich analizy spektroskopowej i analizy elementarnej potwierdzającej czystość jak i zamierzony kierunek reakcji chemicznych. Spośród siedmiu układów indolowo-imidazolowych, Doktorantka wykorzystała sześć ligandów w reakcji kompleksowania z $ZnCl_2$ jak była tego przyczyna, dlaczego nie zastosowano wszystkich ligandów do tworzenia kompleksów?

Opis metodologii i przedstawione wyniki są odpowiednio wykonane i umożliwiają innym badaczom powtórzenie prac w celu weryfikacji wyników na innym materiale. Sposób opisu wyników oraz dalsza ich interpretacja wskazuje, że Doktorantka swobodnie porusza się w tej dziedzinie wiedzy, wykazując swoje kompetencje laboratoryjne i naukowe.

W rozdziale „Podsumowanie” omówiono i uzasadniono aspekt naukowy opublikowanych prac. Interpretując wyniki, Doktorantka wykazała się dużą znajomością literatury w omawianej dziedzinie. Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowała wnioski, które stanowią logiczne podsumowanie uzyskanych wyników. Doktorantka potwierdziła, że: otrzymała 39 związków indolowo-azolowych – 35 nowych i 6 kompleksów z ligandami indolowo-imidazolowymi. Potwierdziła ich struktury, które urzeczywistniły poprawność zaprojektowanych reakcji. Wykonane badania biologiczne udowodniły dobre właściwości antyoksydacyjne większości nowych pochodnych. I mimo iż aktywności przeciwbakteryjnej koniugaty nie posiadały, okazało się, iż niektóre pochodne indolowo-imidazolowe inhibują wzrost grzybów odpowiedzialnych za choroby drewna, co może przynieść ciekawe właściwości aplikacyjne w przyszłości.

Cytowane piśmiennictwo zawiera wybrane dane dotyczące przedmiotu badań, w tym również najnowsze pozycje literaturowe angielskie.

Rolą recenzenta jest również wykazanie pewnych nieścisłości, braku wyjaśnień czy niepełnych informacji, a które mogą przyczynić się do uporządkowania wiedzy i polepszyć jakość nowych publikacji. I tak:

- str. 5 „w jakim stopniu reakcje kompleksowania mogą zmieniać właściwości biologiczne ligandów” – chyba raczej „związki kompleksowe mogą zmieniać”
- str. 5 nie uwzględniła Pani w swoim opisie wykonanych badań spektroskopowych analizy elementarnej, która jest potwierdzeniem Pani doskonałego kunsztu pracy laboratoryjnej i umiejętności jako pracy chemika syntetyka.

- str. 12 różnie zapisywana grupa cyjanowa we wzorach: jako CN dla związku 6C i $C\equiv N$ dla związku 6B
- str. 13 „powstrzymywanie proliferazy” może zahamowanie lub inhibicja skoro uwzględniła Pani słownictwo indukcja
- str. 17 rysunek 12, B nad strzałką „eliminacja/ addycja” powinno być eliminacja/addycja, ale na schemacie mamy jako pierwszy etap addycja, a następnie eliminacja czyli powinno to wyglądać tak: addycja/eliminacja i poniżej formy witamy E – formy witaminy E
- tamże Trolox po polsku to Troloks (ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 2016, 5 (108), 116 – 126, DOI: 10.15193/zntj/2016/108/154)
- str. 27 wszechobecny reflux
- str. 28 „beznimidazolem” zamiast benzimidazolem
- str. 28, Schemat 12 jeszcze więcej reflux
- str. 31 imidazolino-2-tionowego dotyczy związków 10 i 11 a nie 11 i 12 jak zostało zapisane 12 to już pochodne imidazolo-2-tionowe
- str. 33 „wynosi 1,685(7) Å” to chyba 1,685(7) Å
- str. 33 „grupa tiokarbonylowa” to tionowa, bo karbonylowa to $C=O$
- str. 34 pojęcie „płaszczyzna ślizgowa” nie jest przez Doktorantkę wyjaśnione, mimo iż na rysunku 27 zostały wprowadzone oznaczenia płaszczyzn
- str. 35 obecność „of” w podpisie rysunku 28
- str. 35 ostatni akapit czemu Doktorantka nie uwzględniła rysunków kompleksów z jonami Zn^{2+}
- str. 37 na rysunku 30 zróżnicowana skala aktywności hemolitycznej [%] koniugatów A), B) i C)
- str. 39 na rysunku AAPH brakuje przeciw jonów - $2Cl^-$, poza tym nazwa powinna brzmieć następująco: dichlorowodorek 2,2'-azobis(2-amidynopropan)
- str. 40 „analiza struktury krystalograficznej związku została opisana w rozdziale 7. *Struktura w kryształach*”, w pracy jest to rozdział 6.
- str. 41 rys. 32 i str. 42 rys. 33 „and” czyli i po polsku
- str. 43 Tabela 1. zaznaczenia aktywności związków są inne niż podane w opisie na stronie i tak np. 24 wykazuje aktywność, ale zaznaczenie dotyczy związku 25, analogicznie dla

związków 33 i 34 gdzie zaznaczono 34 i 35, poza tym związki 26, 27, 36 i 37 inhibitowały wzrost *Escherichia coli*, a nie *Pseudomonas fluorescens* co jest podane w treści str. 43.

W przypadku rozpraw doktorskich mających formę cyklu publikacji, jednym z najtrudniejszych zadań recenzenta jest ocena czy rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668, z późn. zm.), tzn. czy rozprawa prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydatki w dyscyplinie oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej (ust. 1) oraz czy przedmiotem rozprawy jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego (ust. 2). W przypadku bowiem takich rozpraw zasadniczą część ich treści stanowią publikacje naukowe, które mają wielu autorów. W przypadku rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Babijczuk nie ulega jednak żadnej wątpliwości, że obie przesłanki ustawowe są ewidentnie spełnione, i to w zakresie znacznie przekraczającym zwyczajowo przyjmowane progi. Szczegółowość oświadczeń jest wystarczająca, aby jednoznacznie wskazać nietrywialne i oryginalne problemy badawcze, które Doktorantka pod nadzorem swojej Promotorki oraz innych autorów rozwiązała samodzielnie. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki wnoszą istotny wkład w rozwój syntetycznej chemii organicznej a w szczególności chemii indolu. Przeprowadzona przez Doktorantkę synteza, analiza spektroskopowa i częściowo wykonane badania biologiczne prowadziły za każdym razem do przygotowania doskonałych publikacji naukowych. Wykonanie tych elementów nie byłoby możliwe, gdyby mgr Babijczuk nie posiadała dobrze ugruntowanej i szerokiej wiedzy w zakresie chemii a szczególnie w obszarze związków heteroaromatycznych. **Podsumowując swoją recenzję, z przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Karoliny Babijczuk spełnia wszelkie warunki (zarówno formalne jak i zwyczajowe), jakie stawiane są przed kandydatami do pierwszego stopnia naukowego w zakresie nauk chemicznych. Dlatego bez żadnych wątpliwości wnioskuję o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Babijczuk do dalszych etapów postępowania prowadzonego w Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu w celu uzyskania przez nią stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.**

Daude Bracovito