



UMCS

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Instytut Nauk Chemicznych
Katedra Chemii Ogólnej, Koordynacyjnej i Krystalografii
Wydział Chemii
Plac M. Curie-Skłodowskiej, 2, 20-031 Lublin
(48) 81 537 79 98 Fax: (48) 81 533 33 48
e-mail: agata.bartyzel@mail.umcs.pl

dr hab. Agata Bartyzel, prof. UMCS

Lublin, 16.09.2025 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Klaudii Stachowiak

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

Podstawa opracowania recenzji rozprawy: Formalną podstawą przygotowania recenzji jest pismo z dnia 18 lipca 2025 r. (L.dz. WCH/162/AK/2025) podpisane przez prof. dr hab. Macieja Kubickiego, Dziekana Wydziału Chemii UAM, informujące o decyzji Rady Naukowej Dyscypliny Nauk Chemicznych UAM z dnia 11 lipca 2025 r. dotyczącej oceny rozprawy doktorskiej mgr Klaudii Stachowiak. Pod względem prawnym podstawę recenzji stanowi 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.).

Cel i zakres pracy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Klaudii Stachowiak została zrealizowana w Zakładzie Chemii Koordynacyjnej Wydziału Chemii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu, pod kierunkiem prof. dr hab. Renaty Jastrzab i dr Michała Zabiszaka. Głównym celem naukowym przedłożonej rozprawy było zbadanie procesu kompleksowania wybranych jonów metali bloku d w układach zawierających cukrowe pochodne urydyno-5'-difosforanu oraz przeprowadzenie pełnej charakterystyki termodynamicznej i spektroskopowej wyznaczonych form kompleksowych. Praca badawcza realizowana była w kilku etapach:

- 1) Dobór jonu centralnego i ligandów;



- 2) Badania potencjometryczne;
- 3) Identyfikacja i ich charakterystyka termodynamiczna;
- 4) Analiza spektroskopowa;
- 5) Określenie składu wewnętrznej sfery koordynacyjnej;
- 6) Badania biologiczne;
- 7) Analiza wyników.

Badania nad cukrowymi pochodnymi urydyno-5'-difosforanu (UDP) oraz ich kompleksami z metalami przejściowymi, takimi jak Cu(II), Ni(II) i Co(II), stanowią dynamicznie rozwijający się obszar chemii koordynacyjnej i bioanalitycznej. UDP to rybonukleotyd zbudowany z urydyny i dwóch reszt fosforanowych, pełniący kluczową rolę w metabolizmie węglowodanów, jako aktywna forma cukrów, uczestnicząca w biosyntezie polisacharydów i glikoprotein (Decker i Kleczkowski, 2019). Jony metali przejściowych wykazują wysoką zdolność do tworzenia kompleksów z ligandami nukleotydowymi. W przypadku UDP i jego pochodnych cukrowych koordynacja zachodzi głównie poprzez atomy tlenu grup fosforanowych, z możliwym udziałem grup hydroksylowych rybozy oraz grupy karbonylowej uracylu. Współczesne badania koncentrują się na syntezie i charakterystyce strukturalnej nowych kompleksów, a także na ocenie ich aktywności biologicznej, z uwzględnieniem potencjału terapeutycznego. Tematyka ta wpisuje się w nurt współczesnej chemii koordynacyjnej i bioanalitycznej, otwierając perspektywy zarówno dla projektowania nowych leków, jak i pogłębienia wiedzy na temat mechanizmów interakcji między metalami a biomolekułami. Kontynuacja tego rodzaju badań ma istotne znaczenie dla rozwoju innowacyjnych terapii w medycynie i farmacji. Przedstawione powyżej argumenty podkreślają znaczenie problematyki badawczej podjętej przez Doktorantkę – zarówno w wymiarze naukowym, jak i społecznym.

Ogólna charakterystyka i ocena formalna rozprawy doktorskiej

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska ma klasyczną strukturę, typową dla prac badawczych o charakterze eksperymentalnym i obejmuje 134 strony, wliczając stronę tytułową, zwyczajowe podziękowania oraz załączniki. Pracę rozpoczynają streszczenia w języku polskim i angielskim, po których następuje główna część dysertacji, składająca się z dziesięciu rozdziałów: 1. Wstęp, 2. Spis stosowanych skrótów i symboli, 3. Część teoretyczna, 4. Cel pracy, 5. Część



eksperymentalna, 6. Wyniki i dyskusja, 7. Podsumowanie, 8. Bibliografia, 9. Dorobek naukowy oraz 10. Załączniki. Struktura rozprawy jest logiczna i spójna, co ułatwia czytelnikowi śledzenie kolejnych etapów prowadzonych badań. W obu streszczeniach na początku Autorka przedstawiła cel pracy, a następnie krótko scharakteryzowała kolejne etapy przeprowadzonych badań. Rozdział „Wstęp” zawiera wprowadzenie w tematykę pracy, uzasadnienie wyboru problemu badawczego oraz informacje dotyczące zakresu prowadzonych badań, co stanowi solidną podstawę do dalszych rozważań przedstawionych w części teoretycznej i eksperymentalnej. Kolejny rozdział, „Spis stosowanych skrótów i symboli”, pełni funkcję praktycznego przewodnika dla czytelnika, ułatwiając orientację w tekście oraz interpretację prezentowanych danych. Umieszczenie tego spisu na wczesnym etapie pracy pozwala szybko zrozumieć znaczenie poszczególnych skrótów i symboli wykorzystywanych w dalszych rozdziałach, co zwiększa przejrzystość i spójność przedstawionych informacji. Rozdział trzeci, poświęcony podstawowym teoretycznym, podzielony został na cztery główne sekcje. Pierwsze dwa podrozdziały zawierają omówienie analogów nukleotydów i nukleozydów w ujęciu terapeutycznym oraz cukrowych pochodnych urydyno-5'-difosforanu, ze szczególnym uwzględnieniem ligandów użytych w badaniach. Następnie Autorka przedstawiła znaczenie biologiczne wybranych jonów metali oraz ich zastosowanie w medycynie i farmacji. Ostatni podrozdział poświęcony został skrótowej charakterystyce metod badawczych stosowanych w pracy eksperymentalnej. W mojej ocenie podrozdział ten mógłby zostać włączony do części eksperymentalnej, co zwiększyłoby spójność pracy. W kolejnym rozdziale Doktorantka przedstawiła cel pracy, jasno definiując problem badawczy i wskazując etapy jego realizacji. Zabrakło jednak sformułowania konkretnych, bardziej szczegółowych hipotez, uzasadniających dobór prac badawczych. Rozdział piąty zawiera wzory badanych ligandów, opis badanych układów, wykaz stosowanej aparatury i stosowanych odczynników oraz opis procedur badawczych. Istotną częścią rozprawy są wyniki badań i ich omówienie, przedstawione w Rozdziale 6. W czterech podrozdziałach Doktorantka prezentuje uzyskane dane w sposób przejrzysty, dzieląc je na poszczególne układy „jon metalu/ligand”, dokonuje analizy porównawczej oraz omawia wyniki dotyczące wyznaczania stałych protonacji badanych ligandów. Kolejny rozdział – „Podsumowanie” – stanowi syntetyczne zestawienie najważniejszych wniosków z przeprowadzonych eksperymentów; brakuje w nim jednak odniesienia do potencjalnych kierunków dalszych badań. Rozdział „Bibliografia” zawiera 144 pozycje



literaturowe, wśród których znajdują się zarówno publikacje o charakterze podstawowym, jak i najnowsze doniesienia naukowe. Warto podkreślić, że znacząca część cytowanych źródeł (ponad 60%) została opublikowana w ciągu ostatnich 15 lat. W pracy zamieszczono również rozdział poświęcony dorobkowi naukowemu, w którym Doktorantka przedstawiła swoje osiągnięcia w zakresie publikacji, udziału w konferencjach, odbytych staży naukowych, szkoleń oraz form aktywności naukowej i działalności popularyzatorskiej. Ostatni rozdział – „Załączniki” – zawiera opublikowany artykuł ściśle związany z badaniami przedstawionymi w dysertacji oraz oświadczenia współautorów.

Podsumowując, rozprawa została napisana w sposób poprawny, z użyciem jasnego i spójnego języka. Poszczególne rozdziały przedstawiono w logicznej i odpowiedniej kolejności. Należy jednak zauważyć, że – jak to często bywa w przypadku tego typu prac – pojawiają się pewne uchybienia redakcyjne i merytoryczne. Najistotniejsze z nich zostały wskazane poniżej:

1) Na stronie 7 w spisie treści oraz na stronie 64 w tekście, rozdział oznaczono jako 6.1.1., podczas gdy prawidłowo powinno być 6.1.

2) Występują błędy redakcyjne typu:

- niepotrzebna lub brak spacji (np. str. - 12 „cytydyny ,”; „m. in.”, str. 105 – „Chapter7”);
- brak lub niepotrzebne znaki interpunkcyjne (np. str. 15 – „m.in.”; str. 51 – „Tabela 9. (...) potencjalne miejsce koordynacji”; str. 23 – „np.: w gruczolaku przewodów trzustkowych”; str. 39 – „rejestrujących: ,”; str. 10. „urydino-5'-difosforanu,w tym”; str. 87 „metal:ligand 1:1 . .”) itp.

3) Na stronie 55:

- Fragment „(...) z wykorzystaniem zestawu Titrand702 Methrom wyposażonego w autobiuretę szklaną kombinowaną” – zabrakło tutaj rodzaju biurety i słowa „elektrode”, ewentualnie zamiast „autobiurety” powinna być „elektroda”.

- Doktorantka podała, że do kalibracji pH-metru wykorzystwała roztwory buforowe o pH = 4,02 (ftalan) i pH = 9,22 (boraks) oraz opisała sposób ich sporządzenia. Analiza przepisów wykazuje jednak, że nie są to roztwory buforowe (brakuje pary kwas–zasada), lecz jedynie roztwory wodoroftalanu potasu i tetraboranu sodu. Dodatkowo przepisy zostały zamienione – dla roztworu ftalanu podano sposób przygotowania roztworu boraksu i odwrotnie.



- Sposób przygotowania roztworu NaOH jest nieprawidłowy; najprawdopodobniej wynika to z typowego błędu „kopiuj-wklej”, ponieważ podany przepis dotyczy przygotowania roztworu HCl przedstawionego powyżej.

4) Osie wykresów nie zostały w pełni poprawnie opisane. Często brakuje informacji o zmiennej (wielkości lub zjawisku), którą przedstawia oś, albo brak jest podanych jednostek, np.: str. 6, rys. 20 - oś x brak zmiennej; str. 70, rys. 22, - oś x brak zmiennej; str. 71, rys. 23 - oś x brak zmiennej, oś y brak jednostek.

5) Nie ma rysunku 24, natomiast dwa rysunki zostały oznaczone jako 25. Ponadto, po rysunku 42 następuje rysunek 54.

6) Występują nieprecyzyjne lub błędne sformułowania np.:

- Sformułowania typu wiąże, koordynuje, kompleksuje mogą odnosić się do jonów lub ligandów, ale nie do utworzonych związków, gdyż sugeruje to, że na ich powierzchni lub dodatkowo wiązane są jony metali np.: str. 76: „...zdominowane są przez obecność wodorotlenku miedzi(II), który wiąże około w 90 % wszystkich dostępnych jonów miedzi(II)” – bardziej poprawne sformułowanie brzmi „w którym związane jest około 90 % wszystkich dostępnych jonów miedzi(II)”; str. 77: „Kompleks $\text{Co}_2(\text{HUDP-GlcNAc})_2$ kompleksuje blisko...” bardziej merytorycznie poprawnie brzmiało by „W kompleksie $\text{Co}_2(\text{HUDP-GlcNAc})_2$ związane/skompleksowane jest blisko ...” itd.

- str. 91. „Badania spektroskopowe EPR potwierdziły...” – lepiej użyć konstrukcji: „Wyniki badań spektroskopii EPR potwierdziły...” lub „Na podstawie wyników badań spektroskopii EPR potwierdzono...”. Podobne sformułowania pojawiają się na str. 100: np. „badania spektroskopowe wykazały” czy „wstępne badania biologiczne wykazały”. W takich przypadkach zaleca się stosowanie konstrukcji bezosobowej lub odnoszącej się bezpośrednio do wyników („wyniki badań potwierdziły”), co jest standardem w pracach naukowych.

Ocena merytoryczna pracy doktorskiej

Uważam, że temat podjęty przez Doktorantkę jest zarówno aktualny, jak i istotny z naukowego punktu widzenia. Wszystkie zaproponowane i przeprowadzone badania zostały starannie zaplanowane i tworzą spójną całość, a ich zakres i charakter wyraźnie wpisują się w ogólnoswiatowy trend badań prowadzonych w tej dziedzinie. Najważniejsze i najbardziej oryginalne



kwestie, stanowiące nowość naukową rozprawy doktorskiej mgr Stachowiak, można sformułować następująco:

- 1) Wyznaczenie stałych protonacji ligandów: kwasu urydno-5'-difosfoglukuronowego, urydno-5'-difosfo-N-acetyloglukozaminy, urydno-5'-difosfoglukozy oraz opracowanie ich wykresów dystrybucji.
- 2) Przeprowadzenie szczegółowych badań kompleksowania cukrowych pochodnych urydno-5'-difosforanu z jonami metali przejściowych: Cu(II), Co(II) oraz Ni(II), w różnych stosunkach molowych (1:1, 1:2), z wykorzystaniem różnych technik spektroskopowych (UV-Vis, EPR, NMR, CD).
- 3) Zidentyfikowanie różnych formy kompleksowych dla badanych układów w zależności od badanego układu oraz pH roztworu.
- 4) Potwierdzenie obecności tautomerii laktam-laktim w pierścieniu urydyny w warunkach zasadowych dla układu Cu(II)/UDP-GluA.
- 5) Zbadanie aktywności cytotoksycznej analizowanych kompleksów metodą MTT, które dostarczyło cennych informacji na temat ich potencjalnych zastosowań biomedycznych oraz stanowi istotny punkt wyjścia do dalszych, pogłębionych badań w tym kierunku.

Biorąc pod uwagę powyższe aspekty, uważam, że podjęte przez mgr Klaudię Stachowiak wyzwanie badawcze miało złożony charakter. Przeprowadzono kompleksową serię eksperymentów, a sposób ich zaplanowania i wykonania odzwierciedla dobrze przemyślaną oraz konsekwentnie realizowaną strategię badawczą. Prace eksperymentalne przedstawione w dysertacji potwierdzają dobre przygotowanie teoretyczne Doktorantki w zakresie chemii koordynacyjnej, a także jej umiejętność skutecznego wykorzystania szerokiego wachlarza technik spektroskopowych. Niestety wyniki badań zostały przedstawione dość ogólnikowo, co sprawia, że często brak jest głębszej analizy oraz wyciągniętych na tej podstawie wniosków. W pracy nie zamieszczono również wyników badań NMR (widm) ani ich interpretacji. Ponadto, podczas lektury rozprawy nasunęło mi się kilka pytań i uwag, na które chciałabym uzyskać odpowiedź podczas publicznej obrony. Pragnę podkreślić, że większość z nich ma charakter dyskusyjny lub wyjaśniający i nie wpływa na moją pozytywną ocenę recenzowanej pracy doktorskiej:

- 1) Jednym z celów pracy była pełna charakterystyka termodynamiczna, która obejmuje nie tylko zespół parametrów opisujących równowagi (tj. stopnie protonacji i stałe protonacji ligandów, stałe



trwałości, wykresy dystrybucji form, identyfikację typów powstających kompleksów), ale i energetykę procesów ich tworzenia. Czy wyznaczane były parametry energetyczne, takie jak: zmiana entalpii (ΔH), zmiana entropii (ΔS), zmiana energii swobodnej (ΔG)?

2) Czy przeprowadzono pomiary dla próbek kontrolnych zawierających roztwór MTT, kompleks oraz podłoże, ale bez komórek? Jony metali, takie jak Co(II), Ni(II) i Cu(II), mogą wchodzić w reakcje redoks z barwnikiem, co może zakłócać odczyt testu MTT i prowadzić do zawyżonych wyników „żywności” komórek. Ponadto, kompleksy metali mogą hamować enzymy mitochondrialne lub wpływać na transport elektronów, co również może powodować mylne wyniki. Czy były lub są planowane dodatkowe testy uzupełniające w celu potwierdzenia wyników analizy MTT i uzyskania pełniejszego obrazu działania badanych układów?

3) W przypadku techniki CD stosowanej do badania kompleksów, w celu określenia geometrii i struktury elektronowej zazwyczaj wykorzystuje się zakres widzialny lub bliskiej podczerwieni (VCD). Czy takie badania były wykonywane?

4) Jak wspomniałam wcześniej, wyniki badań oraz ich dyskusja są dość lakoniczne. Dlatego podczas obrony chciałabym uzyskać więcej informacji na temat wyników badań UV-Vis, tj. przejść elektronowych w badanych kompleksach, w odniesieniu do geometrii wokół jonów centralnych.

5) W części „Wyniki i dyskusja”, jak również w podsumowaniu, mgr Stachowiak omawia sposób koordynacji jonów metali przez badane ligandy w zależności od pH. Podczas obrony prosiłabym o graficzne przedstawienie sposobu koordynacji jonów metali w otrzymanych formach kompleksów.

6) Czy były podjęte próby otrzymania kompleksy w fazie stałej?

Ocena dorobku naukowego

W rozdziale 9 rozprawy doktorskiej Doktorantka przedstawiła swoją aktywność naukową. Pani mgr Klaudia Stachowiak jest współautorką trzech artykułów z listy JCR, opublikowanych w czasopismach *Molecules* (2 artykuły) oraz *Materials* (1 artykuł). Łączna wartość współczynników oddziaływania (IF) tych prac wynosi 12,76, co daje średni IF 4,25 na publikację. Liczba cytowań wynosi 22 w bazie Scopus i 20 w Web of Science (stan na 16 września 2025 r.), a indeks Hirscha wynosi 2. Ponadto, Doktorantka jest współautorką pięciu rozdziałów w cyklicznej monografii „*Nauka i przemysł – lubelskie spotkania studenckie*” (w latach 2021, 2022, 2023, 2024 i 2025). Pani mgr



Klaudia Stachowiak prezentowała również wyniki swoich badań w formie komunikatów ustnych (4) oraz posterów (6) na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Na szczególną uwagę zasługuje odbycie przez Doktorantkę dwóch staży naukowych: w dniach 01.09.–30.09.2019 r. w Browarze rzemieślniczym „Nepomucen” (Szkaradowo, Polska) oraz 20.02.–04.03.2024 r. w Centro Tecnológico de la Química de Cataluña (Tarragona, Hiszpania), a także wyjazdu studyjnego w okresie 18.02.–21.02.2019 r. do Dow Chemical Ibérica (Tarragona, Hiszpania). Doktorantka uzyskała finansowanie swoich badań naukowych w ramach minigrantu doktoranckiego: „*Badania reakcji kompleksowania cukrowych pochodnych urydyno-5'-difosforanu – charakterystyka spektralna oraz badanie aktywności biologicznej*” (054/13/SNŚ/0034). Pani mgr Stachowiak brała także udział w działalności popularno-naukowej promującej Uniwersytet Adama Mickiewicza w Poznaniu oraz uczestniczyła w kursach i szkoleniach podnoszących jej kompetencje zawodowe.

Wnioski końcowe

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Klaudii Stachowiak zawiera istotne elementy nowości naukowej i stanowi cenny wkład w rozwój badań dotyczących cukrowych pochodnych urydyno-5'-difosforanu oraz ich kompleksów z jonami metali. Wyniki badań przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej mają znaczącą wartość poznawczą i mogą znaleźć praktyczne zastosowanie w projektowaniu nowych związków o potencjalnym wykorzystaniu w przemyśle farmaceutycznym. Wobec powyższych przesłanek stwierdzam, że dysertacja złożona przez Panią Klaudię Stachowiak spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. z 2018 r. poz. 1688, z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie mgr Klaudii Stachowiak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Agata Bartoziel

