



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych

ul. Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

tel.: 61 854-66-30

fax: 61 854-66-39

e-mail: syntezy@ump.edu.pl

prof. dr hab. Tomasz Gośliński

Poznań, dnia 18 lutego 2019 r.

Szanowny Pan

Prof. dr hab. Marek Potrzebowski

Dyrektor CBMiM PAN

w Łodzi

Szanowny Panie Dyrektorze

Zwracam się z uprzejmą prośbą o przedstawienie Wysokiej Radzie Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych propozycji wyróżnienia pracy doktorskiej Pani mgr inż. Justyny Śniechowskiej pt.: „Synteza i badania strukturalne modyfikowanych porfirynoidów”.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska posiada kilka płaszczyzn pozwalających ją analizować jako nowatorską: (i) podjęcie zagadnień bardzo aktualnych naukowo poprzez włączenie się w nurt badań związków kluczowych dla zachodzenia procesów biochemicznych i fizjologicznych w świecie roślin i zwierząt, (ii) zastosowany bardzo nowoczesny warsztat badawczy z interesującym połączeniem technik NMR w ciele stałym, analizy rentgenostrukturalnej oraz metod obliczeniowych, stanowiącym rozwinięcie podejścia tzw. krystalografii NMR, (iii) duży potencjał poznawczy uzyskanych wyników, który otwiera dalsze perspektywy dla badań podstawowych i aplikacyjnych w medycynie.

Pani mgr. inż. Justyna Śniechowska posiada ponadto w mojej ocenie znakomity dorobek naukowy, jest współautorką 9 publikacji o łącznym współczynniku Impact Factor 38,253 oraz 14 wystąpień konferencyjnych razy w formie prezentacji i posterów konferencyjnych.

z uprzejmymi pozdrowieniami

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu
Technologii Chemicznej Środków Leczniczych
Tomasz Gośliński
prof. dr hab. n. farm. Tomasz Gośliński



Poznań, dnia 18 lutego 2019 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Tytuł pracy: **Synteza i badania strukturalne modyfikowanych porfirynoidów**

Imię i nazwisko: **mgr inż. Justyna Śniechowska**

Miejsce realizacji pracy doktorskiej: **Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych
Polskiej Akademii Nauk w Łodzi**

Promotor: **prof. dr hab. Marek J. Potrzebowski**

Tematyka badawcza skupiona wokół badań strukturalnych porfirynoidów podjęta przez Panią mgr inż. Justynę Śniechowską jest rozwijana z bardzo interesującymi rezultatami w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk w Łodzi pod kierunkiem promotora niniejszej pracy, Pana prof. dr hab. Marka Potrzebowskiego. Zagadnienie badawcze sformułowane w temacie pracy, a dotyczące **syntezy i badań strukturalnych modyfikowanych porfirynoidów**, dotyka szeregu zagadnień szczegółowych zmierzających do poszerzenia wiedzy na temat chemii porfirynoidów z grupy koroli i chloryn, ich syntezy, analizy strukturalnej i właściwości biologicznych. Jednakże w szerszym wymiarze tematyka dysertacji porusza zagadnienia związane z lepszym poznaniem pochodnych cząsteczek pełniących kluczowe funkcje biochemiczne i fizjologiczne w obrębie całej fauny i flory, a więc życia na Ziemi. Badania podstawowe pochodnych korolu, chlorofilu i ich pochodnych posiadają z roku na rok rosnący potencjał dla zastosowań aplikacyjnych w katalizie chemicznej, nowoczesnej fotowoltaice, a także medycynie związanej z terapią i diagnostyką fotodynamiczną. Z tego względu tematyka podjęta przez Doktorantkę jest bardzo aktualna, a dokonany wybór tematu uważam za bardzo uzasadniony. Podjęte zagadnienia i wysoki poziom przeprowadzonych badań może też skłaniać do głębszej refleksji, ile jeszcze czeka na nas ciekawych odkryć w grupie porfirynoidów, skoro od izolacji chlorofilu przez dwóch wybitnych naukowców, którymi byli Joseph B. Caventou i Pierre J. Pelletier, minęło już ponad 200 lat.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr. inż. Justyny Śniechowskiej stanowi spójny tematycznie zbiór pięciu publikacji zawartych na 131 stronach, opatrzonej 54 stronicowym komentarzem. Pani mgr inż. Justyna Śniechowska zawarła w opracowaniu następujące rozdziały: (i) spis skrótów i oznaczeń, (ii) streszczenia pracy w języku polskim i angielskim, (iii) wprowadzenie, (iv) informację na temat stosowanej techniki pomiarowej, (v) cel i zakres pracy doktorskiej, (vi) omówienie wyników stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, (vii) podsumowanie, (viii) spis

publikacji i najważniejszych osiągnięć, (ix) publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej, (x) załączniki z oświadczeniami Doktorantki i współautorów oraz (xi) literaturę. Poszczególne rozdziały zostały napisane poprawnym językiem naukowym. Kolejność przedstawiania danych, cytowane piśmiennictwo i streszczenie nie budzą zastrzeżeń recenzenta. Piśmiennictwo komentarza liczy 128 odnośników literaturowych, odpowiednio dobranych i pochodzących w większości z ostatnich 20 lat.

Doktorantka w krótkiej **Przedmowie** wyjaśniła, że wyniki badań składające się na pracę doktorską zostały opublikowane w następujących czasopismach: *CrystEngComm*, *RSC Adv.* (dwukrotnie), *Photochem. Photobiol. Sci.* oraz *Dyes Pigm.* Zasadniczy rdzeń pracy stanowią wyniki opublikowane z pierwszym autorstwem w *CrystEngComm* i dwukrotnie w *RSC Adv.* Z kolei publikacje w *Photochem. Photobiol. Sci.* i *Dyes Pigm.*, które zostały wykonane we współpracy, stanowią rozszerzenie badań. Doktorantka zaznaczyła ponadto, że przedstawione badania wykonała w ramach grantu Preludium z NCN. Przedmiotem badań stały się związki takie jak 5,10,15-tris(pentafluorofenylo)korol oraz chloryny z dobudowanymi pierścieniami N-metylopirolidynowymi oraz oksospirochloryny. Podstawowym narzędziem badawczym wykorzystanym do analizy strukturalnej była spektroskopia NMR w ciele stałym i cieczy, a ponadto rentgenografia strukturalna i spektrometria mas. Badania te zostały poszerzone o metody i techniki obejmujące fotochemię oraz badania aktywności biologicznej wykorzystane we współpracujących jednostkach: Instytut Chemii Organicznej PAN w Warszawie, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej w Łodzi, a także Katedrę i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Na kolejnych stronach Doktorantka zamieściła **Streszczenia pracy w języku polskim i angielskim**. W obszernym **Wprowadzeniu** Doktorantka przedstawiła temat porfirynoidów, omówiła ich znaczenie w naturze oraz różnych dziedzinach życia, a także zastosowania w medycynie, nanotechnologii i inżynierii materiałowej, poruszyła rolę fluoru w strukturze porfirynoidów. W dalszych podrozdziałach wprowadzenia scharakteryzowała korole i chloryny. W rozdziale **Technika badawcza – Spektroskopia NMR ciała stałego** omówiła ważne aspekty tej kluczowej dla dysertacji techniki instrumentalnej. Oba powyższe rozdziały sprawiają, że poruszone w dalszej części dysertacji zagadnienia, sformułowany cel pracy i zawarte w 5 publikacjach badania wydają się bardziej zrozumiałe i spójne z jej tematem.

Zaplanowane przez Doktorantkę w rozdziale **Cel i zakres pracy doktorskiej** badania miały dotyczyć w zamyśle Doktorantki szerokich badań wybranych porfirynoidów pod względem syntezy chemicznej, właściwości fizykochemicznych i biologicznych. Pani mgr inż. Justyna Śniechowska zaplanowała wykonanie badań z użyciem 5,10,15-tris(pentafluorofenylo)korolu oraz chloryny z dobudowanymi pierścieniami N-metylopirolidynowymi i oksospirochloryną. Związki te planowała

otrzymać i poddać wnikliwej charakterystyce fizykochemicznej, przede wszystkim z użyciem techniki NMR. W zaplanowanych modyfikacjach struktury związków wybranych do badań, rzutujących na ich właściwości optyczne, Doktorantka dostrzegła inne aspekty, nie pomijając przy tym spodziewanych właściwości farmakokinetycznych i farmakodynamicznych o znaczeniu dla zastosowań w medycynie i farmacji. Cel ten został zrealizowany w badaniach przedstawionych w publikacjach. W rozdziale **Omówienie wyników stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej** Doktorantka przedstawiła wykonane badania, ich wyniki i dyskusję, które w poddanych ocenie pracach dotyczą:

Publikacja 1 – *CrystEngComm* 18 (2016) 3561-3565 – Przedmiotem badań było tworzenie kompleksów inkluzyjnych 5,10,15-tris(pentafluorofenyl)korolu z dichlorometanem. Zamysłem Doktorantki było wykazanie możliwości uzyskania chiralnych kryształów dla związków tetrapirolowych o niskiej wartości energii recemizacji. Doktorantka w badaniach strukturalnych zastosowała różne techniki NMR, w cieple stałym i cieczy, a następnie wyselekcjonowane kryształy poddała analizie rentgenostrukturalnej. W swoich badaniach NMR potwierdziła, że technika oparta na wirowaniu próbki pod kątem magicznym z szybkością rotacji 42 kHz może znaleźć zastosowanie do selekcji kryształów odpowiednich dla dalszych badań z użyciem dyfrakcji rentgenowskiej. Istotnie z użyciem analizy rentgenostrukturalnej kryształów udowodniła, że w zależności od zastosowanego rozpuszczalnika, poddany badaniom korol krystalizuje w różnych grupach przestrzennych. Chiralne kryształy zostały scharakteryzowane, a chiralność kryształu uzyskanego z chlorku metylenu została potwierdzona z użyciem dichroizmu kołowego.

Publikacja 2 – *RSC Adv.* 7 (2017) 24795-24805 – Przedmiotem badań była synteza, charakterystyka strukturalna i analiza dynamiki molekularnej serii niesymetrycznych fluorowanych chloryn z dobudowanym pierścieniem N-metylopirolidyny, otrzymanych w reakcji cykloaddycji fluorowanych 2-nitro-5,10,15,20-tetraaryloporfiryń z ylidem azometinowym generowanym z N-metyloglicyny i paraformaldehydu. Doktorantka poczyniła szereg interesujących obserwacji związanych z wpływem modyfikacji chemicznych na procesy dynamiczne, m.in. dotyczących wpływu modyfikacji pierścieni arylowych w pozycjach mezo na ich rotację. Szczególnie interesujące były wyniki uzyskane z widm ^1H - ^{19}F HETCOR, w których Doktorantka obserwowała sygnały korelacyjne dla protonu i fluoru odległych o 7 wiązań. Z użyciem widm zmiennotemperaturowych ^1H i ^{19}F VT NMR oraz zaawansowanych eksperymentów 2D EXSY oraz obliczeń energii wykazała, że temperaturą można kontrolować dynamikę pierścieni arylowych.

Publikacja 3 – *RSC Adv.* 8 (2018) 21354-21362 - Przedmiotem badań były pochodne spirochloryn, które zostały otrzymane na drodze syntezy chemicznej, a następnie poddane charakterystyce z użyciem: spektrometrii mas, spektroskopii NMR w cieple stałym i cieczy, krystalografii rentgenowskiej. Pani mgr inż. Justyna Śniechowska przedstawiła wyniki reakcji 3,6-di-(2-pirydylo)-

1,2,4,5-tetrazyny z 5,10,15,20-tetraaryloporfirydami w reakcji Dielsa-Aldera o odwrotnych wymaganiach elektronowych. Ważną część badań stanowiło zmodyfikowanie struktury porfiryn, poprzez wprowadzenie w pozycję 2 grupy aminowej, w celu zwiększenia reaktywności względem tetrazyny. Efektem badań było uzyskanie serii oksospirochloryn w reakcji prowadzonej z 2-amino-5,10,15,20-tetraaryloporfirydam przez iminoketochloryny. Doktorantka zaproponowała mechanizm reakcji cykloaddycji zachodzącej pomiędzy porfirydam a tetrazyną, prowadzący do oksospirochloryny.

Publikacje 4 i 5 – *Photochem. Photobiol. Sci.* 18 (2019) 213-223, *Dyes Pigm.* 160 (2019) 292-300 – Przedmiotem badań była synteza chemiczna oraz badania fotofizyczne i fotochemiczne, a także biologiczne serii fluorowanych chloryn z dobudowanym pierścieniem N-metylopirolidynowym. Związki wykazały średnie i wysokie wartości kwantowe generowania tlenu singletowego, a także wydajności kwantowej fluorescencji, oceniono ich fotostabilność (z interesującą obserwacją dotyczącą wysokiej stabilności w DMF i fotorozkładu w DMSO). Na podstawie badań fizykochemicznych związki zostały zaklasyfikowane jako potencjalne fotosensybilizatory do oceny fotocytotoksyczności mikrobiologicznej. Zaobserwowano, że wydajność kwantowa generowania tlenu singletowego rosła wraz z ilością wprowadzonych do cząsteczki atomów fluoru i nie zależała od miejsca ich lokalizacji. Badane chloryny zostały wbudowane do liposomów i poddane ocenie przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej aktywności fotodynamicznej. Dla związków poddanych we współpracy badaniom biologicznym, odnotowano interesującą aktywność względem bakterii Gram-dodatnich *Enterococcus faecalis* i *Staphylococcus aureus*, podczas gdy aktywność względem pozostałych mikroorganizmów z grupy bakterii Gram-ujemnych i grzybów była bardzo niska lub nie występowała.

Należy dodać, że w świetle załączonych oświadczeń Doktorantki i współautorów, jej wkład w powstanie publikacji jest znaczący. W szczególności **Publikacje 1-3**, to prace całkowicie powiązane z kompetencjami Doktorantki, w których przeprowadziła Ona znaczną część badań, począwszy od projektowania związków, poprzez syntezę chemiczną, a skończywszy na zaawansowanej fizykochemii i przygotowaniu publikacji do druku. Z kolei na potrzeby **Publikacji 4 i 5**, Doktorantka przygotowała związki do badań, scharakteryzowała fizykochemicznie, a następnie uczestniczyła w przygotowaniu wybranych fragmentów tekstu do publikacji.

W kolejnym rozdziale **Podsumowanie**, Doktorantka przedstawiła wnioski: (i) wykazała, że NMR w cieple stałym pozwala na dokonanie selekcji kryształów do dalszej analizy rentgenostrukturalnej, (ii) uzyskała i scharakteryzowała kompleks supramolekularny typu gość-gospodarz dla badanego korolu i rozpuszczelnika, (iii) otrzymała serię niesymetrycznych fluorowanych chloryn ze skondensowanym pierścieniem N-metylopirolidyny, którą dokładnie scharakteryzowała i poddała badaniom dynamiki molekularnej, (iv) wykonała syntezę chloryn ze skondensowanym pierścieniem N-metylopirolidynowym i podstawnikami trifluorometylowymi w pierścieniach

arylowych, które we współpracy poddała badaniom fotochemicznym i fotofizycznym oraz biologicznym w zakresie terapii fotodynamicznej ukierunkowanej przeciw mikroorganizmom, (v) opracowała metodę syntezy oksospirochloryn z wykorzystaniem reakcji Dielsa-Aldera o odwróconych wymaganiach elektronowych, które poddała dokładnej charakterystyce.

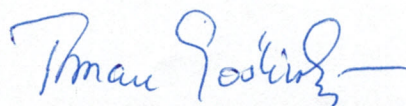
Treść rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Justyny Śniechowskiej zawarta w cyklu pięciu artykułów naukowych jest zgodna z tezą postawioną w tytule. Praca była realizowana według dobrze przemyślanego schematu, co pozwoliło na zweryfikowanie wielu hipotez. Hipoteza zawarta na początku badań dotycząca w szerokiej perspektywie syntezy i badań strukturalnych modyfikowanych porfirynoidów, wydawała się bardzo racjonalna. W miarę postępu badań, została pozytywnie zweryfikowana i doprowadziła do bardzo interesujących wniosków. Uzyskane dane eksperymentalne posiadają wysoką wartość merytoryczną, a ponadto zostały w przedstawionych do oceny pracach krytycznie omówione w kontekście światowego piśmiennictwa i bezpośrednich doświadczeń Zespołu. Mają więc tym samym duże znaczenie poznawcze i stanowią istotny wkład do chemii porfirynoidów. Opracowane syntezy nowych związków i przeprowadzone badania fizykochemiczne dostarczają wielu ważnych danych dla osób zajmujących się chemią leków z grupy potencjalnych fotosensybilizatorów dla potrzeb terapii fotodynamicznej przeciwnowotworowej, ale także ukierunkowanej przeciw mikroorganizmom. Do mocnych stron przedstawionej mojej ocenie pracy doktorskiej zaliczam: (i) podjęcie zagadnień bardzo aktualnych naukowo poprzez włączenie się w nurt badań związków kluczowych dla zachodzenia procesów biochemicznych i fizjologicznych w świecie roślin i zwierząt, (ii) zastosowany nowoczesny warsztat badawczy, bardzo ciekawe połączenie technik NMR w ciele stałym, analizy rentgenostrukturalnej i metod obliczeniowych, stanowiące rozwinięcie podejścia tzw. krystalografii NMR, (iii) duży potencjał poznawczy uzyskanych wyników, który otwiera dalsze perspektywy dla badań podstawowych i aplikacyjnych w medycynie. Pani mgr inż. Justyna Śniechowska posiada ponadto w mojej ocenie znakomity dorobek naukowy, jest współautorką 9 publikacji o łącznym współczynniku Impact Factor 38,253 w czasopismach takich jak Chem. Europ. J., Angew. Chem. Int. Ed., Dyes Pigm., Photochem. Photobiol. Sci., RSC Adv., CrystEngComm., Magn. Res. Chem., J. Phys. Chem. B. Warto dodać, że wyniki badań z Jej współautorstwem były prezentowane 14 razy w formie prezentacji i posterów konferencyjnych.

Wszystkie rozdziały i prace eksperymentalne zawarte w dysertacji zostały napisane bardzo poprawnym językiem naukowym. Zwracam uwagę na drobne kwestie, które pojawiły się podczas czytania pracy i poproszę o ustosunkowanie się do nich podczas publicznej obrony: (i) Proszę o doprecyzowanie terminów fotofizyka i fotochemia w odniesieniu do konkretnych badań wykonanych w pracy; (ii) Pęcherzyki lipidowe, czy liposomy lub nanocząstki lipidowe – który z tych terminów jest najbardziej stosowny w odniesieniu do struktur stosowanych jako nośniki w pracach?; (iii) Oczekiwałbym

ujęcia zagadnień przedstawionych w rozdziale 5 „Cel i zakres pracy doktorskiej” w formie planu zadań do wykonania, a nie już zrealizowanych; (iv) Czy w świetle uzyskanych wyników badań fotostabilności przeprowadzonych w pracy *Photochem. Photobiol. Sci.* (2018) dla chloryn 1-4 i przeanalizowanego piśmiennictwa można zaproponować produkty fototransformacji?

Reasumując uważam, że Pani mgr inż. Justyna Śniechowska doskonale zmierzyła się z postawionym w temacie pracy problemem, wykazała się znajomością zagadnień teoretycznych i przygotowaniem warsztatowym. Moja bardzo wysoka ocena wartości merytorycznej przedstawionej dysertacji wynika z umiejętnego połączenia przez Doktorantkę wiedzy z zakresu chemii fizycznej, syntezy chemicznej i chemii medycznej. Przekazana do recenzji rozprawa doktorska w pełni spełnia wymogi stawiane tego typu pracom, zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 - O stopniach naukowych oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki - Dz.U. RP nr 65, poz. 595 z 2003 r. wraz z późniejszymi zmianami, w tym Ustawą z dnia 28 kwietnia 2017 r. – O zmianie ustawy o stopniach naukowych oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki – Dz.U. RP poz. 859 z 2017 r., zwracam się zatem do Wysokiej Rady Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk w Łodzi o dopuszczenie Pani mgr inż. Justyny Śniechowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na wysoką merytoryczną wartość przedłożonej do recenzji dysertacji, zwracam się także z wnioskiem o wyróżnienie.



prof. dr hab. Tomasz Gośliński