

prof. dr hab. Marzena Dzida
Instytut Chemii
Uniwersytet Śląski w Katowicach
ul. Szkolna 9
40-006 Katowice

Katowice, dnia 5 listopada 2024 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej magister Aleksandry Ciesielskiej, zatytułowanej
„Synteza, właściwości fizykochemiczne i biologiczne wybranych alkiloaminowych
pochodnych sulfonamidowych: ocena oddziaływania z trójwartościowymi jonami
metali oraz DNA, właściwości przeciwutleniające i cytotoksyczność”**

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr Aleksandry Ciesielskiej została wykonana w Katedrze Chemii Bionieorganicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Promotorem rozprawy doktorskiej jest prof. dr hab. Mariusz Makowski, a funkcję promotora pomocniczego pełni dr Sandra Brzeska.

W recenzowanej pracy, Autorka postawiła sobie za cel określenie wpływu długości podstawnika alkiloaminowego pochodnych sulfonamidowych na ich właściwości fizykochemiczne, zdolność tworzenia połączeń koordynacyjnych z jonami Ru(III) i Rh(III) oraz zdolność i sposób oddziaływania z helisą DNA, pod kątem potencjalnych zastosowań jako leków. Jako przedmiot badań Doktorantka wybrała trzy pochodne sulfonamidowe: 4-amino-*N*-(2-aminoetylo)benzenosulfonamid (NethylS), 4-amino-*N*-(2-aminopropyl)benzenosulfonamid (NpropylS) oraz 4-amino-*N*-(2-aminobutyl)benzenosulfonamid (NbutylS). Wybór nie był przypadkowy, gdyż sulfonamidy są powszechnie stosowaną w medycynie grupą związków o właściwościach przeciwbakteryjnych, a ich pochodne charakteryzują się właściwościami przeciwnowotworowymi, przeciwwirusowymi oraz przeciwzapalnymi. Obecność w cząsteczkach grup aminowych oraz grupy sulfonamidowej umożliwia tworzenie między- oraz wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych. Z kolei obecność w cząsteczkach sulfonamidów donorów pary elektronowej pozwala tworzyć związki kompleksowe z biologicznie istotnymi jonami metali, co znacząco wpływa na aktywność biologiczną leków. Wybór jonów Ru(III) oraz Rh(III) został również przemyślany. Związki rutenu ze względu na właściwości strukturalne i koordynacyjne są rozpatrywane jako obiecujące leki



przeciwnowotworowe. Duże znaczenie ma fakt, że związki koordynacyjne Ru(III) mogą być przekształcane przez środowisko komórek nowotworowych w bardziej aktywne formy Ru(II). Kompleksy Rh(III) tworzą stabilne i różnorodne struktury metal-ligand. Mogą wiązać się z biomolekułami, wywołując działanie przeciwnowotworowe.

Liczba, różnorodność oraz kompleksowość przeprowadzonych przez Doktorantkę badań budzi podziw. Autorka zsyntezowała trzy pochodne sulfonamidowe oraz określiła ich strukturę. Przeprowadziła analizę profili elektrochemicznych pochodnych sulfonamidowych w środowisku protycznym (wodnym), które występuje w organizmie człowieka, jak i aprotycznym (DMSO), ze względu na charakter lipofilowy błon komórkowych i enzymów. Opisała wpływ pH środowiska na procesy redoks, określiła właściwości kwasowo-zasadowe badanych związków oraz wyznaczyła wartości pK_a . Autorka określiła stałe trwałości kompleksów NethylS i NpropylS z jonami Ru(III) oraz Rh(III). Dokonała oceny sposobu i siły oddziaływania badanych związków z helisą DNA, analizując kinetykę procesu tworzenia i rozpadu adduktu związek–DNA. Wyznaczyła stałe asocjacji i dysocjacji oraz stałe szybkości tych procesów. Na podstawie wyników badań dokowania molekularnego, omówiła miejsca i sposób wiązania pochodnych sulfonamidowych z DNA. Niepublikowane wyniki, będące danymi uzupełniającymi, obejmują rezultaty badań właściwości przeciwutleniających związków NethylS i NpropylS oraz biobójczych i cytotoksyczności NethylS, NpropylS, NbutylS.

Podjęty przez Doktorantkę temat jest bardzo istotny, gdyż w związku rozpowszechniającym się problemem lekooporności oraz leczenia chorób nowotworowych konieczne jest poszukiwanie nowych, skutecznych leków. Zrealizowane w tej pracy badania są ważne zarówno z punktu widzenia poznawczego jak i aplikacyjnego.

Formalna ocena rozprawy

Rozprawa doktorska mgr Aleksandry Ciesielskiej, licząca 200 stron, jest napisana bardzo starannie. Opracowanie ma klasyczny układ, składa się z wprowadzenia, celów badawczych pracy, opisu stosowanych metod badawczych, przedmiotu badań z komentarzem, podsumowania i bibliografii, liczącej 183 pozycje. W pracy zamieszczono również streszczenie w języku polskim i angielskim, słowa kluczowe w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów oraz załączniki. W załącznikach znajdują się informacje o aktywności naukowej Doktorantki, pełne wersje publikacji oraz oświadczenia współautorów.

Obowiązująca ustawa o stopniach i tytule naukowym daje możliwość przedstawienia spójnego tematycznie cyklu publikacji jako podstawy pracy doktorskiej i Pani mgr Aleksandra Ciesielska, posiadająca znaczny dorobek publikacyjny, z tej możliwości skorzystała. Doktorantka przedstawiła wyniki swoich badań w postaci spójnego tematycznie cyklu pięciu artykułów [P1-P5], w tym jednego przeglądowego [P1]. Wszystkie artykuły zostały opublikowane w latach 2021-2024, w renomowanych czasopismach naukowych, o cyrkulacji międzynarodowej, tj.: *Molecules*, *Polyhedron*, *J. Phys. Chem. B*, *Spectrochim. Acta. A*, *Mol. Biomol. Spectrosc.* z tzw. listy filadelfijskiej, o sumarycznym współczynniku wpływu $IF=18,7$ (co daje wysoką wartość średnią ok. 3,74 na publikację). Prezentowane publikacje są wieloautorskie (od 3 do 6 autorów), w dwóch pracach Doktorantka jest autorką wiodącą (pierwszą). Z zamieszczonych, na końcu rozprawy, oświadczeń wynika, że wkład Doktorantki w powstanie wszystkich publikacji był znaczący. Doktorantka brała udział realizacji prac doświadczalnych, opracowaniu uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptów.

Badania będące przedmiotem rozprawy doktorskiej były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu OPUS. Niektóre zadania badawcze zostały sfinansowane z Projektu służącemu Rozwojowi Młodych Naukowców oraz Doktorantów realizowanego przez Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego oraz Projektu małych grantów – UGrants.

Z przedstawionego dorobku wynika, że Pani mgr Aleksandra Ciesielska jest aktywnym młodym naukowcem. Doktorantka jest współautorką w sumie dziewięciu artykułów naukowych, w tym w sześciu z nich jest pierwszą autorką. Ponadto jest współautorką dwóch zgłoszeń patentowych. Doktorantka brała udział w czterech konferencjach międzynarodowych i czterech krajowych. Na pięciu z nich prezentowała wyniki swoich badań w formie komunikatów ustnych, a na trzech

w formie posterów. Dodatkowo Doktorantka jest współautorką dwunastu referatów ustnych i plakatów. Pani mgr Aleksandra Ciesielska odbyła dwa kilkudniowe pobyty naukowe, na Wydziale Chemii Lwowskiego Narodowego Uniwersytetu im. Iwana Franki Ukraina (2020) oraz na Wydziale Chemii Uniwersytetu Florenckiego we Włoszech (2023). Była wykonawcą w dwóch projektach OPUS finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki. Była również kierownikiem projektu służącemu Rozwojowi Młodych Naukowców oraz Doktorantów – BMN oraz projektu małych grantów – Ugrants-start finansowanych przez Uniwersytet Gdański.

Dorobek naukowy mgr Aleksandry Ciesielskiej jest wyróżniający.

Merytoryczna ocena pracy

Przewodnik do cyklu publikacji jest obszerny i rozpoczyna się ciekawym wprowadzeniem, które nakreśla tło badań. W tym kontekście sformułowane cele badawcze są jasne i pokazują wagę podjętych badań, a dobrane metody badawcze pokazują, że droga do realizacji celów badawczych została przemyślana. Z prawdziwą przyjemnością przeczytałam cykl pięciu publikacji, będących przedmiotem rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Ciesielskiej. Praca [1] to publikacja przeglądowa dotycząca zastosowania metod elektrochemicznych w badaniach oddziaływań związków chemicznych z DNA, z którymi są związane procesy redoks. W ciekawy i przejrzysty sposób został przedstawiony związek pomiędzy budową DNA a możliwymi typami oddziaływań z innymi cząsteczkami, co ma kluczowe znaczenie w zrozumieniu mechanizmu oddziaływania leku z DNA, a dalej w projektowaniu leków. Na przykładach wyników badań nad oddziaływaniami DNA z lekami, głównie przeciwnowotworowymi oraz przeciwbakteryjnymi, przeciwcukrzycowymi, przeciwdepresyjnymi i flawonoidami, pokazano możliwości technik woltamperometrycznych, w tym, w szczególności woltamperometrii cyklicznej oraz pulsowej różnicowej. Wykazano, że techniki te dają możliwości badań w zróżnicowanym środowisku, a uzyskane wyniki dają ważne informacje o granicy wykrywalności leku, wartości współczynnika dyfuzji zarówno leku, jak i jego adduktu z DNA, stałej wiązania oraz prawdopodobnego mechanizmu oddziaływania lek-DNA. Zwrócono uwagę na możliwości zastosowania w tych badaniach biosensorów elektrochemicznych, w tym elektrod modyfikowanych nanomateriałami. W pracach [P2] i [P4] przedstawione zostały wyniki badań wpływu długości łańcucha aminoalkilowego pochodnych sulfonamidowych na ich

właściwości fizykochemiczne i kompleksotwórcze. Zsyntezowane zostały trzy pochodne NethylS i NpropylS [P2] oraz NbutylS [P4]. Wykazano, na podstawie badań porównawczych NethylS z NpropylS, że nawet niewielka różnica długości łańcucha aminoalkilowego, wpływa na wartości stałej pK_a . Zwiększenie odległości grupy aminowej od reszty cząsteczki powoduje wzrost zasadowości w obrębie tej grupy. Zatem większą wartość pK_a uzyskano dla grupy aminowej na końcu podstawnika alifatycznego, a mniejszą wartość pK_a dla grupy aminowej, bezpośrednio związanej z pierścieniem aromatycznym w cząsteczce NpropylS, w porównaniu z pochodną NethylS. Najmniejsze różnice w charakterze kwasowo-zasadowym zaobserwowano dla grupy amidowej w cząsteczkach NethylS i NpropylS. W pracy [4] pokazano, że pochodna NbutylS jest bardziej zasadowa i bardziej hydrofobowa niż NethylS i NpropylS.

Wyniki badań nad zdolnością kompleksowania NethylS oraz NpropylS przedstawione w pracy [2] wskazały na tworzenie kompleksów z jonami rodu(III) i rutenu(III) o stechiometrii M:L wynoszącej 1:2, charakteryzujących się wysokimi wartościami stałych stabilności. Jako układ charakteryzujący się optymalną stabilnością wskazano kompleks NpropylS z jonami Ru(III). Zaproponowano, że w przypadku jonu rodu(III) preferowaną formą kompleksu jest sześciocząonowy pierścień chelatowy z ligandem NpropylS, natomiast w przypadku jonów rutenu(III) preferowane jest tworzenie pięciocząonowego pierścienia jako efekt kompleksowania z NethylS.

Bazując na doświadczalnym opisie równowag kwasowo-zasadowych i zaproponowanej sekwencji deprotonowania grup funkcyjnych uzyskanych w pracy [2], przeprowadzono obliczenia teoretyczne dla pięciu pochodnych sulfonamidowych od NethylS do NhexylS, których wyniki zaprezentowano w pracy [4]. Wyniki obliczeń oraz przeprowadzonych analiz dowiodły, że jon obojnaczy powstający w wyniku deprotonowania grupy sulfonamidowej może utworzyć wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe, w którym atom azotu grupy sulfonamidowej pełni rolę donora wiązań wodorowych, natomiast atom azotu grupy alkiloaminowej jest akceptorem. Wartości względnych entalpii swobodnych potwierdziły, że utworzenie wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego, a tym samym „zamknięcie” sulfonamidu, jest termodynamicznie korzystne. Zatem zaproponowano następującą sekwencję deprotonowania grup funkcyjnych: jako pierwsza ulega deprotonowaniu grupa aminowa przyłączona do pierścienia aromatycznego, jako druga grupa sulfonamidowa, następnie ma miejsce przeniesienie wodoru z grupy alkiloaminowej do grupy sulfonamidowej, a na końcu drugie deprotonowanie grupy sulfonamidowej. Pokazano,



że najsilniejsze wiązanie wodorowe tworzy NbutylS, tworząc siedmioczłonowy pierścień. Wykazano, że wydłużanie łańcucha alkiloaminowego oraz tworzenie wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych w cząsteczkach pochodnych sulfonamidowych powoduje wzrost ich hydrofobowości. Na podkreślenie zasługuje rzetelne przedstawienie wyników badań teoretycznych, ich krytyczna analiza, zwrócenie uwagi na niedoskonałości zastosowanych metod, takie jak np. niedostateczne uwzględnienie wpływu rozpuszczalnika czy pominięcie wpływu różnych form związków w roztworze rzeczywistym.

W pracy [3] zastosowano technikę switchSENSE do badania oddziaływań małych cząsteczek, takich jak sulfatiazol (STZ) oraz NethylS i NpropylS z helisą DNA w temperaturach 15 °C, 25°C i 37°C. Jako modelowy związek interkalujący wybrano bromek etydyny (EB). Badania dotyczące tworzenia adduktu EB –DNA z wykorzystaniem techniki switchSENSE przeprowadzono w dwóch trybach: dynamicznym i statycznym. Jednak wyniki w trybie dynamicznym były niezadowolające, co zostało szczegółowo uzasadnione. Dzięki wykonanym pomiarom w trybie statycznym dowiedziono, że addukt EB–DNA tworzy się niemalże natychmiastowo, a wszystkie helisy DNA wiążą się z analitem. Porównanie krzywych asocjacji i dysocjacji pokazało, że następuje całkowita dysocjacja adduktu.

Dzięki przeprowadzonej symulacji dokowania molekularnego dowiedziono, że najbardziej preferowany sposób wiązania EB oraz najsilniejsze oddziaływanie zachodzi w tym samym mniejszym rowku, drugim od części kotwicy, na jednej z par zasad nukleinowych, adenina–tymina. Z kolei wyniki badania oddziaływań STZ z DNA uzyskane techniką switchSENSE obarczone były istotnymi błędami. Zostało to drobiazgowo przedyskutowane, co stanowi bardzo wartościową informację. Wykazano, że przypadku STZ najkorzystniejsze miejsce dokowania znajdowało się w pierwszym mniejszym rowku od strony kotwicy. W najpopularniejszym miejscu wiązania cząsteczka STZ układa się równoległe do „podstawy” mniejszego rowka. Z kolei STZ najsilniej wiąże się z badanym DNA w obrębie drugiego mniejszego rowka, zbudowanego w przybliżonych ilościach z par adenina–tymina i cytozyna–guanina. W najsilniej związanym addukcie kąt dwuścienny CSNC w STZ jest na tyle duży, że pozwala na uzyskanie większej powierzchni oddziaływania z helisą DNA. Stwierdzono, że średnia energia wiązania STZ–DNA w była niższa niż w przypadku EB–DNA. Związki będące przedmiotem badań niniejszej rozprawy, NethylS i NpropylS, wiążą się z helisą DNA dość wolno, a stałe asocjacji są stosunkowo niskie, jednak powstający w tym procesie addukt jest



stabilny, nie ulega całkowitej dysocjacji, wymuszonej przepływem buforu. Wyjaśniono to tworzeniem się wiązań wodorowych w wyniku oddziaływania z DNA. Symulacje dokowania molekularnego dla NethylS pokazały, że najsilniejsze oddziaływanie NethylS z helisą DNA występuje w drugim małym rowku, tak samo jak w przypadku EB i STZ. Tworzy się wówczas wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe w cząsteczce NethylS, co powoduje równoległe ułożenie NethylS do dwóch nici DNA. W przypadku najbardziej popularnego oddziaływania, w trzecim małym rowku, atomy wodoru grupy alkiloaminowej w cząsteczce NethylS biorą udział w tworzeniu międzycząsteczkowych wiązań wodorowych z atomami tlenu grup fosforanowych, receptora. Dla NpropylS, podobnie jak dla NethylS, miejsca oddziaływania z DNA znajdują się w drugim i trzecim małym rowku. W przypadku najważniejszego oddziaływania, wszystkie atomy wodoru przyłączone do ugrupowań aminowych cząsteczki NpropylS tworzą najsilniejsze wiązania wodorowe z receptorem poprzez atomy tlenu grupy fosforanowej lub ugrupowanie dezoksyrybozy. W przypadku drugiego ważnego miejsca dokowania cząsteczki NpropylS, utworzony kąt dwuścienny CSNC skutkuje kształtem sulfonamidu przypominającym literę L i wymusza mniej korzystne wiązanie z receptorem. W efekcie tylko część atomów wodoru w cząsteczce NpropylS bierze udział w tworzeniu wiązania wodorowego z receptorem.

Praca [5] prezentuje kontynuację powyższych badań, poszerzonych o NbutylS, pirazyno-2-tiokarboksyamid (PTCA) oraz 1-(2-hydroksyetyloamino)-antraceno-9,10-dion (AQ-NetOH), które przeprowadzono w temperaturach 25°C, 30°C i 37°C. Jako układ modelowy wybrana została netropsyna (NET) charakteryzująca się tworzeniem wiązania w obrębie mniejszego rowka helisy, bogatego w pary zasad adenina–tymina. PTCA, AQ-NetOH, NET należą do grup związków szeroko wykorzystywanych w medycynie. Wyniki badań techniką switchSENSE pokazały, że zmiany fluorescencji oraz przebieg krzywych procesów asocjacji oraz dysocjacji NET względem DNA były bardzo podobne do obserwowanych dla EB. Dla PTCA zaobserwowano powolny proces tworzenia się adduktu PTCA–DNA, który po utworzeniu jest stabilny i nie dysocjuje całkowicie mimo długiego czasu przemywania powierzchni chipu buforem. Dla NbutylS zaobserwowano bardzo podobny przebieg procesów asocjacji i dysocjacji adduktu jak dla PTCA, NethylS i NpropylS. Natomiast w przypadku AQ-NetOH kinetyka procesów asocjacji i dysocjacji była inna. Proces asocjacji zachodził bardzo szybko i następowało całkowite związanie analitu z helisą DNA, proces odwrotny zachodził również szybko i prowadził do całkowitej dysocjacji powstającego adduktu. Tworzenie adduktu



AQ-NetOH z DNA potwierdzono również spektrofotometrycznie. Zauważono również, że zmiany temperatury wpływają w różny sposób na kinetykę tworzenia i rozpadu badanych adduktów.

Dla wszystkich badanych związków przeprowadzono obliczenia dokowania molekularnego. W przypadku PTCA wyniki wskazały, że miejscem z największą liczbą dokowań był trzeci mniejszy rowek helisy DNA, bogaty w pary adenina–tymina. Natomiast najsilniejsze oddziaływanie występowało w pierwszym mniejszym rowku, co sugeruje brak powinowactwa PTCA do poszczególnych zasad nukleinowych. W przypadku najpopularniejszego wiązania PTCA do DNA tworzyło się wiązanie wodorowe pomiędzy atomem wodoru grupy sulfonamidowej i atomem azotu adeniny. Dla AQ-NetOH, podobnie jak dla PTCA, najpopularniejsze wiązania występowały w trzecim, mniejszym rowku, a najsilniejsze oddziaływanie w pierwszym, mniejszym rowku. Wyniki dokowania molekularnego o wysokiej rozdzielczości pokazały obecność wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego pomiędzy atomem wodoru grupy hydroksylowej AQ-NetOH, a atomem tlenu deoksyrybozy. Dla cząsteczki NbutylS w obliczeniach uwzględniono zarówno strukturę z wewnątrzcząsteczkowym wiązaniem wodorowym (HB) jak i bez (no-HB). W przypadku NbutylS (no-HB) najsilniejsze oddziaływanie występowało w czwartym mniejszym rowku. W tym przypadku tworzyły się cztery wiązania wodorowe pomiędzy cząsteczką NbutylS (no-HB) a receptorem. Jedno utworzyło się pomiędzy grupą aminową przyłączoną do pierścienia aromatycznego w cząsteczce sulfonamidu i atomem tlenu grupy karbonylowej tyminy z helisy DNA, drugie pomiędzy atomem wodoru grupy sulfonamidowej i atomem tlenu grupy karbonylowej cytozyny. Ostatnie dwa wiązania wodorowe utworzyły się pomiędzy atomami wodoru grupy alkiloaminowej oraz atomami tlenu grupy fosforanowej dezoksyrybozy i grupy karbonylowej tyminy. W przypadku najpopularniejszego oddziaływania cząsteczki NbutylS (no-HB) z DNA, utworzyły się połączenia grupy aminowej przyłączonej do pierścienia aromatycznego z grupą karbonylową tyminy oraz grupy alkiloaminowej z deoksyrybozą. Podczas tworzenia najsilniejszego wiązania NbutylS (HB) z helisą DNA, występującego w drugim mniejszym rowku, utworzyły się cztery wiązania wodorowe: pomiędzy grupą alkiloaminową cząsteczki NbutylS (HB) i trzecim atomem azotu grupy purynowej adeniny, a także pomiędzy atomem wodoru grupy alkiloaminowej i grupą sulfonamidową cząsteczki NbutylS (HB), co doprowadziło do zamknięcia struktury, oraz pomiędzy grupą aminową przyłączoną do pierścienia aromatycznego NbutylS (HB) i atomem tlenu dezoksyrybozy, jak i grupą sulfonamidową i atomem tlenu dezoksyrybozy. W przypadku najbardziej popularnego miejsca oddziaływania stwierdzono obecność pojedynczego wiązania pomiędzy grupą aminową przyłączoną do pierścienia aromatycznego NbutylS (HB) i grupą



karbonylową tyminy. W obu przypadkach NbutylS (no-HB) oraz NbutylS (HB) najpopularniejsze wiązanie tworzyło się w trzecim małym rowku, bogatym w adeninę oraz tyminę. Pokazano zatem, że cechą wspólną badanych pochodnych sulfonamidowych jest oddziaływanie adeniną i tyminą.

Recenzowana praca zawiera również nieopublikowane dane dotyczące właściwości przeciwutleniających NethylS, NpropylS oraz cytotoksyczności i właściwości bakteriobójczych NethylS, NpropylS, NbutylS. Uzyskane wyniki pokazały, że NethylS ma zdolność wygaszania kationorodnika 2,2'-azynobis-(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu) (ABTS⁺). Z kolei nie pozwoliły one na określenie zdolności wygaszania rodnika 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu (DPPH[·]). W badanym zakresie stężeń, NethylS, NpropylS oraz NbutylS nie są toksyczne względem zdrowych i nowotworowych komórek nabłonka piersi. Ponadto, nie są aktywne względem bakterii *G(+)* – *Staphylococcus aureus* (gronkowca złocistego), *G(-)* – *Escherichia coli* (pałeczki okrężnicy) oraz drożdży *Candida albicans*, w badanym zakresie stężeń.

Podsumowując, wyniki badań przedstawione w niniejszej dysertacji stanowią solidną podstawę oraz dostarczają wielu informacji, które można wykorzystać przy projektowaniu nowych leków. Zastosowano technikę switchSENSE, dzięki której możliwa była analiza kinetyki procesu tworzenia i rozpadu adduktu związek–DNA. Warta podkreślenia jest krytyczna analiza wyników uzyskiwanych z wykorzystaniem różnych metod badawczych. W recenzji zwróciłam uwagę tylko na nieliczne przykłady takiej analizy. Tak rzetelne podejście do badań należy stawiać za wzór, gdyż cytując Feynmana: „*Należy ujawnić szczegóły, które mogłyby podważyć waszą interpretację, o ile je znacie. ... Na przykład, jeśli tworzycie teorię i przygotowujecie ją do publikacji, musicie podać wszystkie fakty, które są z nią niezgodne, nie tylko te zgodne*”.

Lektura niniejszego opracowania oraz dołączonych do niego publikacji nasunęła kilka pytań. Czy rozważano sprawdzenie zdolności kompleksowania NbutylS z jonami rodu(III) i rutenu(III)? Czy rozważano przeprowadzenie symulacji dokowania molekularnego dla NethylS (no-HB) i NpropylS (no-HB) oraz NethylS (HB) i NpropylS (HB) podobnie jak dla NbutylS? Dlaczego do badań mikrobiologicznych wybrane zostały drożdże *Candida albicans*?

Praca jest napisana starannie, z dużą dbałością o stronę edytorską, a bardzo dobrze zaprojektowane ilustracje oraz wykresy zarówno w opracowaniu jak i w publikacjach znacznie ułatwiają percepcję przedstawionych treści. Wiadomo jednak, że w tak obszernym tekście nie można uniknąć błędów, a jednym z obowiązków recenzenta jest je wskazać. Pozwolę sobie zwrócić

uwagę na pewne nieścisłości dotyczące opisu zagadnień związanych z kinetyką. Dla przykładu na stronie str. 20 można przeczytać: „Nie umożliwiają one określenia szybkości reakcji wiązania oraz ...”. Symbole k_a oraz k_d opisywane są w pracy w sposób niespójny, dla przykładu: „ k_a i k_d – szybkości asocjacji i dysocjacji” (str. 44), „wartości szybkości k_a i k_d ” (str. 61), „wartości współczynników szybkości asocjacji (k_a)” (str. 61), „wartości współczynników szybkości wiązania (k_a)” (str. 66), „wartości stałych współczynników szybkości k_a i k_d ” (str. 66), „Wartości ustalonych szybkości asocjacji (k_a), szybkości dysocjacji (k_d)” (Tabele 5, 6, 10-12). W pracy można znaleźć kilka „literówek” oraz nieco niefortunne sformułowanie: „krótszych długości” (str. 54).

Powyższe uwagi nie mają żadnego wpływu na bardzo wysoką wartość merytoryczną ocenianej rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Ciesielskiej.

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską Pani mgr Aleksandry Ciesielskiej stwierdzam, że postawiony cel pracy został zrealizowany. Podjęty temat jest bardzo ciekawy i ważny, a jego rozwiązanie systematyczne i eleganckie. Podziw budzi ogromny materiał doświadczalny oraz szczegółowa jego analiza z wykorzystaniem metod teoretycznych. Uzyskane wyniki mają wartość zarówno poznawczą jak i użyteczną. Oceniana praca stanowi zatem „...oryginalne rozwiązanie problemu naukowego...”, spełniając ustawowy wymóg stawiany pracom doktorskim.

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca doktorska mgr Aleksandry Ciesielskiej spełnia wymogi określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018, poz. 1668 ze zmianami). Wnoszę więc o dopuszczenie mgr Aleksandry Ciesielskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.

Małgorzata Duda