

Warszawa, 18.10.2017 r.

Prof. dr hab. Dorota Maciejewska
Zakład Chemii Organicznej
Wydział Farmaceutyczny
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Banacha 1, 02 097 Warszawa

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Gut

**Submikronowe materiały hybrydowe oparte na funkcjonalizowanych tyminą
polimerach syntetycznych i naturalnych**

Projekt badawczy zrealizowany w ramach pracy doktorskiej mgr Agnieszki Gut został opisany na 115 stronach dysertacji obejmujących również 178 odnośników literaturowych, spis ważniejszych skrótów i spis rysunków. Badania składają się z dwóch niezależnych części, które łączy obecność cząsteczki tyminy jako elementu receptorowego układów polimerowych. Tematyka pracy wpisuje się w najnowsze trendy poszukiwań nowych inteligentnych materiałów mogących wychwytywać selektywnie wybrane cząsteczki. Skonstruowano materiały polimerowe zawierające na powierzchni cząsteczki tyminy, które następnie dimeryzowano w celu modulowania właściwości całego systemu. Jest to ciekawy pomysł, ponieważ jest nietypowym podejściem do idei drukowania molekularnego (choć Rysunek 4 w pracy przedstawia klasyczną ideę drukowania molekularnego, w którym ślad molekuly powstaje w wyniku tworzenia trójwymiarowego polimeru poprzez reakcję z wielofunkcyjnym czynnikiem sieciującym). Wpływ dimeryzacji tyminy na strukturę i właściwości DNA był analizowany szczegółowo i uważa się go za przyczynę uszkodzeń DNA, które zakłócają tworzenie par zasad tymina-adenina. Doktorantka zaobserwowała inny efekt w swojej pracy – tworzenie dimerów tyminy sprzyja powstawaniu oddziaływań tymina-adenina, co wydaje się ciekawym zjawiskiem.

Realizacja zadań świetnie przedstawionych w streszczeniu i założeniach wymagała dużego doświadczenia w pracy syntetycznej i osiągnięcie sukcesu końcowego mogło być zagrożone w przypadku niepowodzenia wstępnej części eksperymentalnej. Podsumowanie i wnioski, choć napisane bardzo ogólnie, stwierdzają spełnienie celów pracy. Części abstraktowe

dysertacji są napisane bardzo dobrze i dlatego oczekiwałam wielu ciekawych szczegółów w dalszych rozdziałach. Niestety nie wszystkie dane, które według mojej oceny powinny znaleźć się w treści pracy, zostały w niej umieszczone. Może to wynikać z faktu, że realizując konkretne zadania, podejmujemy decyzje niemal automatycznie i ich celowość wydaje się oczywista.

W pierwszej części pracy zaproponowano opracowanie selektywnych adsorbentów pochodnych adeniny (2'-deoxyadeniny oraz 5'-deoksy-5'-(metylotio)adenozyny), które są proponowane jako potencjalne markery różnych stanów chorobowych. W drugiej części pracy opracowano podstawy konstrukcji biosensora kationów rtęci(II). W części teoretycznej wspomniano o polimerach syntetycznych bez nawiązania do układów będących przedmiotem badań, natomiast scharakteryzowano dwa polisacharydy użyte w syntezie. Część eksperymentalna też zawiera krótkie wstępy, które raczej powinny należeć do części teoretycznej. Cennym uzupełnieniem byłoby uzasadnienie wyboru rodzaju syntezowanych polimerów. Dlaczego te, a nie inne? Jakie ważne parametry polimerów chciano otrzymać dobierając substraty? Doktorantka podaje, że kopolimery akrylowe były syntezowane w zespole prof. Shin-Ichi Yusa na Uniwersytecie Hyogo w Japonii. Czy polisacharydy i poli(alliloamina) funkcjonalizowane tyminą oraz mikrosfery żelu krzemionkowego były syntezowane przez Doktorantkę? Czy badano skład produktów polimerowych? Czy zawartość składników podano na podstawie ilości użytych substratów? Niektóre partie opisu wydają się podane w niewłaściwej kolejności. Najpierw podany jest opis syntez, a potem przedstawiono plan prac syntetycznych. Nie wyjaśniono też dlaczego wybrano konkretne warstwy do nałożenia na ziarna żelu krzemionkowego. Istniało więcej możliwości utworzenia filmów polimerowych, ponieważ dysponowano kilkoma rodzajami kationowych i anionowych polimerów. Stworzone skróty sprawiają trudność w śledzeniu przeprowadzonych prac – są zbyt długie. Opisy wykonanych eksperymentów przypominają swoją zwięzłością fragmenty publikacji, a warto byłoby dodać więcej szczegółów - chociażby parametry linii kalibracyjnych. Nadmienić, czy podczas badań napotkano problemy, które rozwiązano?

Podrozdziały przedstawiające dane o zdolności adsorpcyjnej różnych układów nie zawierają prób interpretacji. Brakuje też informacji jaka cząsteczka była szablonem? Podana jest jedynie informacja, że adsorbent był drukowany albo niedrukowany? Można tylko domyślać się, że na przykład do analizy 2'-deoxyadeniny użyto polimeru drukowanego 2'-deoxyadeniną. Czy nie należało sprawdzić "krzyżowej" adsorpcji? Rozumiem przez to sprawdzenie adsorpcji 5'-deoksy-5'-(metylotio)adenozyny na adsorbencie drukowanym 2'-deoxyadeniną i odwrotnie.

Czy sama obecność cząsteczek tyminy nie powinna dać efektu adsorpcji? Jak można tłumaczyć jej bardzo niski stopień w niektórych przypadkach (Rysunek 16)?

W badaniach selektywności adsorbentów nie podano definicji selektywności – jaki parametr liczbowy ją wyznaczał? Czy pomiarów adsorpcji różnych analitów dokonywano niezależnie czy w mieszaninie (tak, aby mogły konkurować o miejsca wiążące)?

W pracy podkreślano potencjał aplikacyjny zsyntezowanych adsorbentów. Dlaczego nie analizowano ich działania w złożonych matrycach, zbliżonych do układów biologicznych takich, jak na przykład sztuczny mocz? Brakuje mi również opracowania i walidacji metody analitycznej, chociażby dla najlepszego układu. Takie opracowanie mogłoby być wspaniałym zwieńczeniem pierwszej części dysertacji.

Zadałam wiele pytań dotyczących przeprowadzonych analiz, ale zdaję sobie sprawę, że nie wszystko może być zrobione w jednej pracy i dlatego doceniam szeroki zakres zaplanowanych badań i jestem świadoma faktu, że każda uzyskana odpowiedź rodzi nowe pytanie.

Druga część pracy doktorskiej stanowi odrębną całość opartą na tworzeniu kompleksów kationów rtęci(II) z tyminą połączoną wiązaniem chemicznym z łańcuchem polimerowym. W tym celu zaszczepiono na poli(alliloaminie) ($M=17000$ Da) cząsteczki tyminy. W opisie syntezy nie podano ile syntez wykonano i jak określono ilość wprowadzonej tyminy. Stwierdzono tylko, że wydajność reakcji wynosiła 41 %. Tak otrzymany polimer wiązał jony Hg^{2+} , a ich obecność wpływała na zdolność dimeryzacji tyminy, którą przeanalizowano szczegółowo. Nie jest jasne dlaczego użyto światła o długości 300 nm (a nie dokładnie odpowiadającego pasmu absorpcji) i dlaczego próbki naświetlano tak długo. Uważa się, że reakcja dimeryzacji tyminy zachodzi szybko. Przy badaniu rozmiarów cząsteczek polimerowych, Doktorantka użyła terminu „sieciovanie fizyczne”. Jakie zjawisko miała na myśli?

Następnie poli(alliloaminę) z przyłączonymi cząsteczkami tyminy wykorzystano do konstrukcji sensora jonów Hg^{2+} . W tym celu polimer nakładano na kropki kwantowe QD_{CdTe} , które traciły znacząco zdolność do fluorescencji. Po związaniu jonów rtęci fluorescencja ponownie wzrastała, sugerując możliwość konstrukcji czujnika. Doktorantka określiła wpływ wybranych parametrów układu sensorowego na czułość końcowego produktu. O ile dobór stężeń roztworów, czasu trwania procesów wydaje się zrozumiały, to nie do końca jest jasny wybór konkretnych wartości pH do analizy.

Wartość opisu tego fragmentu (jak zresztą i pozostałych) podniosłoby bardzo uzasadnienie czego spodziewano się po wynikach? Skąd wiadomo, że dany parametr jest

istotny? Napisanie, że zbadano konkretną korelację i jak ona się przedstawiała ma wartość informacyjną. Natomiast w pracy doktorskiej powinna być dodana próba interpretacji, której nie wszędzie dokonano.

Domyślam się, że druga część pracy została objęta zgłoszeniem patentowym, więc jej walor jest niezaprzeczalny, a brak niektórych danych być może jest przypadkowy.

W całej pracy brakuje informacji o zakresach błędu, powtarzalności wykonanych oznaczeń, precyzji oznaczeń. Czy procedury były wykonane tylko raz? Tylko w części 3.1.5, związanej z badaniem adsorpcji analitów podano, że próby powtarzano czterokrotnie. Dlaczego nie wyznaczono błędu?

Na koniec kilka uwag edytorskich. Na Rysunku 9 niezręcznie użyto nazwy pirymidyna podpisując wzór tyminy. W podpisie Rysunku 44 pomyłono oznaczenia linii korelacji (kółko i kwadrat). Na Rysunkach 19-22 myląco opisano oś odciętych. Zauważyłam też drobne nieścisłości w nazwach (używanie wymiennie nazw adenina-adenozyna), różnice w zapisie piśmiennictwa i drobne niezręczności językowe.

Wniosek końcowy

Ze względu na opracowanie nowoczesnych, adsorpcyjnych materiałów polimerowych o potencjalnych zastosowaniach w analizie medycznej i konstrukcję nowego typu sensorów do analizy zanieczyszczeń środowiska uważam, że przedstawiona dysertacja jest opracowaniem oryginalnym i spełnia wymagania art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311) i przedkładam Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego wniosek o dopuszczenie Pani mgr Agnieszki Gut do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

