



**Recenzja pracy doktorskiej mgr Emilii Niecziporowskiej  
pt. „*Synteza, kinetyka i mechanizmy reakcji in vitro kompleksów  
chromu(III) z aminokwasami stanowiących potencjalne źródło  
biochromu*”**

Wydział Chemii

**Uwagi ogólne**

Pani mgr Emilia Niecziporowska wykonała pracę doktorską pod opieką Pani profesor dr hab. Ewy Kity na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu. Tematyka recenzowanej pracy jest ściśle połączona z prowadzonymi na tym wydziale od wielu lat badaniami w zakresie chemii koordynacyjnej związków chromu i innych metali d-elektronowych. Badania prowadzone w zespole kierowanym przez Panią profesor Ewę Kita koncentrują się szczególnie na budzącej wiele kontrowersji biologicznej roli jonów chromu na różnych stopniach utlenienia. Pomimo, iż od wielu lat kwestionowany jest status chromu jako biopierwiastka niezbędnego dla życia ssaków, a terapeutyczne znaczenie związków chromu(III) budzi wiele wątpliwości, są one ciągle dostępne na rynku farmaceutycznym jako tzw. suplementy diety zalecane jako środki wspomagające leczenie otyłości, arteriosklerozy i cukrzycy typu 2. Praca doktorska pani mgr Emilii Niecziporowskiej wpisuje się w nurt badań związanych z tymi zagadnieniami i poświęcona została żmudnym ale koniecznym badaniom kinetyki i mechanizmów reakcji substytucji ligandów w stosowanych na rynku suplementów diety i nowo otrzymanych aminokwasowych kompleksach chromu(III) oraz reakcji utlenienia kompleksów chromu(III) do chromu(V) i (VI) w układach modelowych.

Wyniki uzyskane w ramach pracy doktorskiej stały się podstawą sześciu artykułów naukowych opublikowanych w *Transition Metals Chemistry*, czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

ul. Ingardena 3

PL 30-060 Kraków

tel. +48(12) 633 63 77

fax +48(12) 634 05 15

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl

### **Ocena formalna i merytoryczna pracy.**

Z formalnego punktu oceniana praca doktorska ma formę klasycznej rozprawy z podziałem na 9 części: wprowadzenie, przegląd literaturowy, cele i zakres badań, część doświadczalną, wyniki i dyskusję, podsumowanie i wnioski końcowe, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz bibliografię obejmującą 187 pozycji. Dodatkowo załączony został aneks, w którym Doktorantka zamieściła część wyników kinetycznych a także raport z oceny cytotoksyczności dwóch spośród badanych kompleksów Cr(III) względem jednej linii komórkowej. Praca kończy się spisem publikacji Doktorantki. Praca została napisana w języku polskim i obejmuje 243 strony. Jest ilustrowana wzorami, wykresami, schematami reakcji i tabelami. Na podkreślenie zasługuje duża dbałość o szczegóły w opisie przedstawianych rezultatów oraz dobra jakość opracowania wyników, w tym również pod względem edytorskim.

Rozdział *Wprowadzenie* Doktorantka poświęciła nakreśleniu historii badań nad związkami chromu, podkreśleniu ekonomicznego znaczenia tego pierwiastka ale również zagrożeniom środowiskowym i zdrowotnym związanym z jego wykorzystaniem. Na tym tle, w następnym rozdziale kompetentnie omawia wybrane aspekty chemii chromu i chemii aminokwasów stosowanych jako ligandy oraz doniesienia literaturowe z zakresu biologicznej i biomedycznej chemii chromu ściśle powiązane z tematyką pracy doktorskiej. O ile przegląd literatury dobrze wprowadza czytelnika w badane zagadnienia i jest jak najbardziej uzasadniony w rozprawie doktorskiej, o tyle umieszczenie zbyt wielu informacji dostępnych w podręcznikach i monografiach jest dyskusyjne i zdaniem recenzenta niepotrzebne. Ta uwaga nie zmienia mojej wysokiej oceny dla jakości opracowania literaturowego Doktorantki, które jednoznacznie wskazuje na brak istotnych informacji na temat biodostępności, reaktywności wykorzystywanych związków *in vitro* i *in vivo* i w związku z tym bezpieczeństwa ich stosowania.

Podsumowując, ta część pracy jest przygotowana starannie i stanowi dobre uzasadnienie i wprowadzenie do podjętych przez Doktorantkę badań.

Celem pracy doktorskiej pani mgr Emilii Nieczyporowskiej było z jednej strony otrzymanie i scharakteryzowanie nowych kompleksów chromu(III) mogących

stanowić alternatywę do obecnie stosowanych na rynku suplementów diety, a z drugiej zbadanie kinetyki i próba ustalenia mechanizmów reakcji hydrolitycznego rozpadu oraz rozkładu oksydacyjnego (pod wpływem nadtlenu wodoru) dla już stosowanych a także nowo otrzymanych aminokwasowych kompleksów chromu(III)). Dodatkowym celem było wstępne oszacowanie cytotoksyczności wybranych kompleksów.

Po zarysowaniu celu pracy Doktorantka przystępuje do opisu przeprowadzonych eksperymentów. Pierwszym etapem prac było otrzymanie aminokwasowych kompleksów chromu(III) i to zarówno tych już obecnych na rynku suplementów diety, np.  $mer-[Cr(pic)_3]^0$ , jak i nowych połączeń takich jak  $[Cr(Asn)_3]^0$ ,  $[Cr(Asp)_2]^-$ ,  $[Cr(Ala)_3]^0$ ,  $[Cr(ox)_2(Gln)]^{2-}$ ,  $[Cr(ox)_2(Glu)]^{2-}$ ,  $[Cr(Cys)_2]^-$ . Do celów preparatywnych Doktorantka wykorzystwała kolumnową chromatografię jonowymienną a do charakterystyki spektroskopię elektronową UV-Vis oraz spektroskopię EPR. Obie metody spektroskopowe wykorzystwała również do śledzenia przebiegu badanych reakcji substytucji i utleniania. Uzyskane dane kinetyczne opracowywała przy wykorzystaniu programów ENZFITTER i SPECFIT. Główna część pracy poświęcona jest badaniom kinetyczno-mechanistycznym reakcji hydrolitycznego rozpadu otrzymanych kompleksów w środowisku kwasowym oraz zasadowym, reakcji utleniania badanych związków przez nadtlenek wodoru w środowisku zasadowym a także reakcji utleniania nadtlentem wodoru kompleksów  $mer-[Cr(pic)_3]^0$  i  $trans(SS)-[Cr(Cys)_2]^-$  w buforze węglanowym (dla roztworów o pH ok. 8). Ta część pracy wyróżnia się dużą dbałością i wysoką jakością opracowania co dowodzi umiejętności i kompetencji Doktorantki i jest wynikiem wysokiej jakości szkoły kinetycznych metod badania mechanizmów reakcji utworzonej przez zespoły Pani profesor Ewy Kity i Pana profesora Przemysława Kity.

Do najważniejszych osiągnięć recenzowanej pracy, wnoszących nowe elementy do chemii koordynacyjnej i bionieorganicznej chromu zaliczam:

- wykazanie na bazie badań spektroskopowych i kinetycznych, że w badanych modelowych układach aktywacja aminokwasowych kompleksów Cr(III) związana jest z procesami otwierania pierścieni chelatowych tworzonych przez ligandy aminokwasowe a kinetyka dalszych przekształceń, zarówno

hydrolitycznych jak i redokсовых, determinowana jest przez czynniki hamujące szybkość ponownego zamykania pierścienia chelatowego,

- określenie warunków, w jakich w badanych układach modelowych dochodzi do utlenienia jonów Cr(III) do związków Cr(VI) i Cr(V)
- wykazanie możliwości przekształcenia uważanych za nietoksyczne farmaceutyków w mutagenne i kancerogenne połączenia Cr(V) i Cr(VI) pod wpływem nadtlenu wodoru, w obecności jonów wodorowęglanowych już przy pH ok.8.
- otrzymanie i scharakteryzowanie nowych związków koordynacyjnych chromu(III)

Z obowiązku recenzenta chciałam zwrócić uwagę Doktorantki na kilka problemów, których wyjaśnienie zapewne będzie możliwe w trakcie obrony. W zakresie metodologii i wybranych układów modelowych zastanawia mnie :

- brak wykorzystania takich metod spektroskopowych jak NMR, ATR/FTIR czy metod rentgenostrukturalnych co niewątpliwie znacząco mogłoby poszerzyć zakres dostępnych informacji zarówno o samych kompleksach jak i badanych reakcjach,
- zastosowane w układach modelowych warunki ( pH, obecność innych jonów i związków, temperatura) chyba są zbyt odległe żeby uzasadnić użycie sformułowania „*in vitro*” w tytule pracy. Zdaniem recenzenta bardziej adekwatne byłoby użycie sformułowania „ w układach modelowych”,
- brak komentarza Doktorantki w stosunku do załączonego w aneksie raportu z badań nad cytotoxycnością wybranych kompleksów
- chyba jednak zbyt jednoznaczny (a niepoparty wystarczającymi dowodami doświadczalnymi i doniesieniami literaturowymi) podział na nieszkodliwe związki chromu(III) i szkodliwe związki chromu(V) i chromu(VI); i w tym kontekście niewystarczająco pogłębiona dyskusja szkodliwości związków chromu na różnych stopniach utlenienia ze względu na specyficzną biodostępność, transport, farmakokinetykę, typy oddziaływań z biomolekułami oraz rodzaj i reaktywność form występujących *in vivo* w miejscu działania.

Przy tak dużym opracowaniu trudno było Doktorantce ustrzec się drobnych potknięć edytorskich w postaci nielicznych pomyłek literowych, gramatycznych

czy stylistycznych co w żadnym stopniu nie umniejsza dobrej jakości przygotowanej rozprawy.

Pomimo wspomnianych powyżej zastrzeżeń, których większość ma charakter całkowicie dyskusyjny, uważam, że pani mgr Emilia Nieczyporowska przygotowała ciekawą i aktualną pracę doktorską na dobrym poziomie.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska została przygotowana w sposób staranny od strony merytorycznej i edytorskiej. Zawiera pełną dokumentację przeprowadzonych badań, ciekawą i rzetelną dyskusję uzyskanych wyników, poprawnie sformułowane wnioski. Przedstawione w pracy doktorskiej wyniki zostały opublikowane w ramach sześciu artykułów naukowych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska w pełni spełnia kryteria stawiane rozprawom doktorskim zawarte w art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003r. (Dz.U. 2003r. numer 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) o tytułach i stopniach naukowych i stawiam wniosek do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu im Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie Pani mgr Emilii Nieczyporowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

