



**POLITECHNIKA
GDAŃSKA**

WYDZIAŁ FIZYKI TECHNICZNEJ
I MATEMATYKI STOSOWANEJ

Gdańsk 10.02.2021 r.

dr hab. inż. Agnieszka Witkowska, prof. PG
Instytut Nanotechnologii i Inżynierii Materiałowej
Wydział Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej
Politechnika Gdańska

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Diany Kalinowskiej
pt. *Wyznaczenie struktury molekularnej związków*
o potencjale farmakologicznym z wykorzystaniem metodologii bazującej
na rentgenowskiej spektroskopii absorpcyjnej

Recenzowana rozprawa doktorska mgr Diany Kalinowskiej pod ww. tytułem została przygotowana w Instytucie Fizyki Polskiej Akademii Nauk pod kierunkiem dra hab. Marcina Klepki. Praca poświęcona jest zagadnieniom związanym z zastosowaniem metod rentgenowskiej spektroskopii absorpcyjnej wspomaganą analizą elementarną, modelami struktur z baz danych CSD, analizą widm podczerwieni (FTIR) oraz obliczeniami teoretycznymi w oparciu o formalizm funkcyjności gęstości (DFT) do analizy struktury molekularnej czterech typów kompleksów metaloorganicznych (dwa tautomery pochodnej tetrazolu z jonami miedzi lub srebra) wykazujących obiecującą aktywność mikrobiologiczną i cytotoksyczną wobec komórek nowotworowych. Analizie poddane zostały próbki zarówno w formie proszku, jak i roztworu, co umożliwiło Dyplomantce ustalenie wpływu cząsteczek rozpuszczalnika (imitującego warunki in vivo) na otoczenie koordynacyjne metalu. Prezentowane w rozprawie wyniki wpisują się ściśle w nurt badań nad związkami kompleksowymi, które realizowane są w Zespole Spektroskopii Rentgenowskiej i Mikroanalizy Instytutu Fizyki PAN, w ramach których została opracowana kilkuetapowa metodologia analizy struktury molekularnej metaloorganicznych związków, analizy strukturalnej wykraczającej poza rozkłady dwuciałowe i najbliższe powłoki koordynacyjne.

Badania związane z analizą aktywności biologicznej związków kompleksowych prezentowane w rozprawie realizowane były w laboratoriach Zakładu Biochemii (cytotoksyczność) i Zakładu Mikrobiologii Farmaceutycznej (aktywność mikrobiologiczna) Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego pod opieką, odpowiednio, dr n. med. Magdaleny Mielczarek-Puta i dr hab. n. farm. Joanny Stefańskiej. Badania XAFS realizowane były w dwóch laboratoriach synchrotronowych:

Instytut Nanotechnologii i Inżynierii Materiałowej
Wydział Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej
Politechnika Gdańska
Narutowicza 11/12
80-233 Gdańsk, Polska

<http://ftims.pg.edu.pl/fizyki-ciala-stalego>
tel.: (48 58) 348 66 01

ELETTRA we Włoszech (w modzie transmisyjnym na krawędziach K miedzi i srebra zmierzono zarówno proszki, jak i roztwory) i SLRS w Tajlandii (zmierzono tylko widma na krawędzi K miedzi, proszki w modzie transmisyjnym, roztwory w modzie fluorescencyjnym). Oznaczenie zawartości procentowej pierwiastków budujących ligandy wykonano na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Pozostałe badania i analiza danych przeprowadzone zostały z wykorzystaniem zasobów i infrastruktury badawczej IF PAN.

Rozprawa doktorska, w której wyznaczonym przez Autorkę ogólnym celem (str. 7) było: **„zsyntetyzowanie oraz zbadanie otoczenia atomowego jonów miedzi i srebra w kompleksach w formie niekryształicznej, w tym w roztworach”**, liczy ogółem 115 stron i składa się z: pięciu rozdziałów, trzech dodatków (A: szczegóły realizacji testu MTT na cytotoksyczność kompleksów; B: ogólne parametry linii, na których przeprowadzono eksperymenty XAFS; C: uwagi na temat parametrów dopasowywanych w analizie EXAFS uwzględniającej wielokrotne rozproszenia) oraz spisu literatury (119 pozycji – znaczna część pozycji literaturowych ukazała się w ostatniej dekadzie; wśród cytowanej literatury udało mi się zidentyfikować tylko 1 pozycję współautorską Doktorantki). Wszystko poprzedzone jest dwustronicowym streszczeniem przygotowanym w języku polskim (niestety brakuje streszczenia w języku angielskim). Układ pracy jest czytelny i przejrzysty, cała struktura jest raczej zrównoważona. Niemniej jednak za duże niedopatrzenie uznaję brak wykazu skrótów, który znacznie ułatwiłby lekturę rozprawy (pomocny byłby również wykaz oznaczeń i symboli).

Spośród głównych rozdziałów pracy wydzieliłabym dwie następujące części:

- Rozdziały 2-3 – ogólne wprowadzenie stanowiące około 40% całego opracowania;
- Rozdziały 4-5 – prezentacja i dyskusja wyników badań własnych Doktorantki, które pozwoliły jej na ocenę aktywności biologicznej badanych związków i doprowadziły do ustalenia przestrzennego rozkładu atomów wokół jonów Cu(II) i Ag(I) w niekryształicznych związkach kompleksowych jakie tworzą te jony z pochodnymi tetrazolu. Część tą zamyka „Podsumowanie” zawierające zwięzłe wnioski końcowe i prezentację wyznaczonych trójwymiarowych modeli struktur molekularnych badanych kompleksów.

Pierwsza z ww. części rozprawy obejmująca Rozdziały 2 i 3 poświęcona jest zagadnieniom wstępnym. Autorka rozpoczęła od przedstawienia głównych motywów, które sprawiły, że celem jej działań badawczych stały się metalokompleksy bioaktywnych związków organicznych. Krótko przedstawiła potencjał tych związków w kontekście projektowania leków nowej generacji, zwracając szczególną uwagę na kompleksy miedzi i srebra. Następnie omówiła główne etapy zastosowanej w rozprawie metodologii analizy strukturalnej bazującej na rentgenowskiej

spektroskopii absorpcyjnej (XAS), która jest unikalną metodą analizy struktury atomowej i elektronowej (oraz badania mechanizmów związanych z tworzeniem i stabilnością wiązań) w złożonych układach, w tym w układach molekularnych, które trudno uzyskać w formie krystalicznej nadającej się do badań dyfrakcyjnych. W związku z powyższym kolejne sekcje Rozdziału 3 Autorka dedykowała zagadnieniom związanym z wiodącą techniką badawczą (począwszy od kwestii dotyczących promieniowania rentgenowskiego, zasady działania synchrotronu, właściwości promieniowania synchrotronowego, poprzez teorię XAFS i skończywszy na opisie przykładowej linii eksperymentalnej i aspektów technicznych związanych z pomiarem widm XAFS), oraz z technikami wspierającymi wykorzystanymi w rozprawie, czyli analizą elementarną, spektroskopią podczerwieni (FTIR) i obliczeniami kwantowo-mechanicznymi bazującymi na teorii funkcjonału gęstości (DFT). W podrozdziałach 3.4 i 3.5 Autorka przybliży aspekty związane z syntezą metalokompleksów oraz z procedurami przeprowadzania badań cytotoxyczości i aktywności mikrobiologicznej. Tę część rozprawy czyta się bardzo przyjemnie, napisana została z wyczuciem popularyzatorsko-naukowym. Każda sekcja rozpoczyna się krótką przedmową, Autorka niekiedy dorzuca ciekawostki i cytaty, nie stroni też od odniesień do historii odkryć naukowych. Niemniej jednak muszę zwrócić uwagę na dwie kwestie, istotne z punktu widzenia realizowanego w rozprawie projektu badawczego: brak jakichkolwiek informacji o formalizmie wielokrotnych rozprośnień, który stosowany jest w modelowaniu sygnału XAFS (zwłaszcza, że Dyplomantka w swojej analizie wykorzystywała składowe sygnały XAFS związane z wielokrotnymi rozproszczeniami) oraz zbyt ogólne wprowadzenie do formalizmu teorii funkcjonału gęstości (i niepozabawione nieścisłości i „niezgrabnych” sformułowań – kilka szczegółowych uwag zamieściłam poniżej).

Na zakończenie analizy części wprowadzającej zwrócę uwagę na kilka nieścisłości i niepoprawności merytorycznych:

- na stronach 24 i 35 pojawia się współczynnik μ z prawa Lamberta-Beera, który jest liniowym współczynnikiem absorpcji o wymiarze [1/m], a nie – jak podaje Autorka – współczynnikiem absorpcji;
- na stronie 41 przy określeniu transmitancji i absorbancji Doktorantka używa sformułowania „ilość promieniowania”, co jest zgoła wyrażeniem bardzo nieadekwatnym. O ile w przypadku transmitancji wystarczy dodać „względna”, to przy absorbancji należałoby napisać, że jest pewną miarą promieniowania zaabsorbowanego zmieniającą się w zakresie od 0 do ∞ odpowiednio dla $T=1$ i $T=0$;
- strona 44, linie 1-4 od góry: istotą metody DFT, która wyróżnia tę metodę spośród innych metod chemii kwantowej, nie jest przybliżenie uśrednionego pola elektronów, a operowanie na funkcjonalach gęstości elektronowej;

- strona 44, linia 9 od góry: energia korelacyjno-wymienna (XC) nie opisuje efektu samo-oddziaływania; chodzi raczej o usunięcie tego niefizycznego efektu;
- strona 44, linie 11-12 od góry: celem obliczeń DFT jest rozwiązanie równania Schrödingera i wyznaczenie struktury elektronowej, zaś „przybliżenie wielkości i postaci funkcjonału” XC, jest głównym ograniczeniem/problemem metody DFT;
- strona 44, linia 13 od góry: po stwierdzeniu „Metody DFT są obecnie z powodzeniem stosowane do opisu układów metal-ligand organiczny.”, na jego poparcie należałoby zacytować przynajmniej kilka pozycji literaturowych;
- strona 44, linia 5-6 od dołu: pojawia się określenie „błędów korelacyjnych” – o jakie błędy chodzi? Błędy przeszacowania energii stanów elektronowych wynikające z zaniedbania efektu korelacji elektronicznej?
- strona 45, linia 8 od góry: „klasa funkcjonałów kombinująca energię wymiany...” – niefortunny anglicyzm, może lepiej byłoby „łącząca” lub „mieszająca”.

Rozdział 4 zatytułowany „Część eksperymentalna i metodyka analizy danych” rozpoczyna się krótkim opisem procedury syntezy elektrochemicznej metalokompleksów zbudowanych z jonów miedzi lub srebra i z bioaktywnych ligandów, czyli pochodnych tetrazolu zsyntetyzowanych w laboratorium Katedry i Zakładu Biochemii Wydziału Lekarskiego WUM. W kolejnej części (Podrozdział 4.2) zawarte zostały porównawcze wyniki badań Doktorantki nad aktywnością biologiczną kompleksów. Badania zostały przeprowadzone w laboratoriach WUM zgodnie z obowiązującymi tam standardami i z wykorzystaniem dostępnego w tych laboratoriach biologicznego materiału badawczego: badanie cytotoksyczności wykonano na pięciu liniach komórkowych (w tym wykorzystano dwie linie komórek prawidłowych i trzy linie komórek nowotworowych) w laboratorium Katedry i Zakładu Biochemii, zaś badanie aktywności mikrobiologicznej wykonano na szczepach bakterii Gram-dodatnich (pięć szczepów) i Gram-ujemnych (trzy szczepy) w laboratorium Zakładu Mikrobiologii Farmaceutycznej.

Do tego podrozdziału rozprawy mam następujące pytania i uwagi:

- przy badaniu cytotoksyczności używane były rozcieńczenia roztworu kompleksów w zakresie 20-120 μ M – czy była to skokowa zmiana stężeń (co 20 μ M na co wskazywałyby prezentacja wyników w formie histogramów), czy może ciągła zmiana (na co wskazywałyby wyniki zaprezentowane w Tabeli 2)?

- strona 49, co oznacza, że „Doświadczenie przeprowadzone było w trzech biologicznych i trzech eksperymentalnych powtórzeniach”? Proszę o wyjaśnienie, średnią z ilu powtórzeń pomiaru przeżywalności komórek są wyniki prezentowane na Rysunku 17 i w Tabeli 2.

- strona 52, Tabela 2: powinno być wyraźnie zaznaczone, że wymiarem wskaźnika IC₅₀ dla danych prezentowanych w tabeli jest μ M.

W kolejnych podrozdziałach omówione zostały szczegóły technik eksperymentalnych służących ustaleniu struktury kompleksów oraz obliczeń teoretycznych bazujących na formalizmie funkcjonałów gęstości. O ile w przypadku metod spektroskopowych (FTIR i XAFS) otrzymujemy wystarczającą ilość informacji pozwalającą na odtworzenie eksperymentów, o tyle w przypadku metody DFT Autorka podaje jedynie nazwę oprogramowania wykorzystanego do obliczeń i typ funkcjonału hybrydowego (bez szczegółowego uzasadnienia, co stało u podstaw wyboru tego właśnie typu funkcjonału XC). Ta znikoma ilość danych praktycznie nie daje szansy na ocenę jakości i poprawności obliczeń (i ewentualną ich weryfikację). Liczę, że Dyplomantka jako uzupełnienie rozprawy poda te informacje (czyli np. typ funkcji bazowych, rodzaj realizowanych obliczeń, użyte kryteria zbieżności, dokładność) w trakcie publicznej obrony.

W Rozdziale 5 zatytułowanym „Struktura molekularna kompleksów Cu(II) i Ag(I) – analiza wyników wg dedykowanej metodologii” Autorka prezentuje główne wyniki badań strukturalnych, dlatego – ze względu na sformułowany cel pracy – uznaję ten rozdział za najważniejszy w rozprawie. Podzielony został na część dedykowaną kompleksom miedzi (Podrozdział 5.1) i kompleksom srebra (Podrozdział 5.2). Wyniki dla obu grup kompleksów zaprezentowane zostały w jednolitej formie, zgodnie z kolejnymi etapami udokładniania struktury zastosowanej metodologii.

W przypadku kompleksów miedzi na podstawie analizy struktury przedkrawędziowej i obszaru XANES Dyplomantka ustaliła, że jony Cu we wszystkich analizowanych próbkach są na +2 stopniu utlenienia. Poza tym, zestawienie widm XAFS pozwoliło na stwierdzenie, iż typ pochodnej tetrazolu oraz stężenie rozpuszczalnika nie wpływają w zauważalny sposób na geometrię wielościanu koordynacyjnego metalu. Kolejne etapy analizy sygnału EXAFS pozwoliły na wykazanie, iż wszystkie kompleksy są jednordzeniowe i każdy jon miedzi koordynują dwa ligandy tetrazolowe i trzy cząsteczki wody, w taki sposób, że wielościan koordynacyjny ma kształt zdeformowanej piramidy tetragonalnej z cząsteczką wody w wierzchołku. Różnice, i to jedynie w zależności od rodzaju ligandu, ujawniły się dopiero w przestrzennym układzie grup fenylowych ligandów tetrazolowych względem jonu centralnego.

W przypadku kompleksów srebra samo zestawienie widm XAFS wskazało na różną geometrię lokalnego otoczenia jonów Ag(I) w zależności od rodzaju ligandu i ze względu na obecność cząsteczek rozpuszczalnika. Dokładna analiza za pomocą wspomnianej wieloetapowej metodologii doprowadziła tym razem Autorkę do następujących ustaleń: wszystkie kompleksy są dwurdzeniowe, wielościany koordynacyjne mają formę albo trójkąta (AgMD), albo kwadratu (AgMG), zaś jony srebra w próbkach proszkowych otoczone są głównie przez atomy azotu (z ligandów tetrazolowych), a w roztworze głównie przez atomy tlenu (z ligandów tetrazolowych)

i z cząsteczek wody). Największą podatność na zmiany strukturalne wywołane obecnością cząstek rozpuszczalnika wykazał kompleks AgMG.

Odnosząc się do tego rozdziału rozprawy mam następujące uwagi, pytania i komentarze:

1. Z jakiego powodu struktura widm FTIR kompleksów Cu uległa tak radykalnym zmianom względem widm zebranych dla samych pochodnych tetrazolu? Czy proces syntezy elektrochemicznej mógł doprowadzić do tak dużego wzrostu nieporządku w lokalnej strukturze poszczególnych grup funkcyjnych ligandów?

W świetle tej obserwacji wydają mi się nadinterpretacją stwierdzenia: „....Struktura ligandów się nie zmieniła” (str. 62), czy „Potwierdziłam, (...) stabilność struktury liganda podczas koordynowania do jonów miedzi (analiza widm FTIR)” (str. 74).

2. Str. 64, pierwszy akapit od góry: zakładam, że Autorka ma na myśli raczej niepewności pomiarowe, a nie błędy (które należałoby wyeliminować) w oznaczaniu zawartości poszczególnych pierwiastków w kompleksach.
3. Tabela 5 (i analogicznie Tabela 9):
 - a. Niezbyt jasno wynika z tekstu czy w tabelach zaprezentowane zostały wyniki uzyskane dla struktur o geometrii zoptymalizowanej w drugim czy w trzecim etapie metodologii (np. opis na str. 69 i potem na str. 71)? Ma to znaczenie w kontekście sensowności optymalizacji geometrii struktury kompleksów za pomocą metody DFT.
 - b. Nie bardzo zrozumiałe jest czym jest parametr R [A] w kontekście konfiguracji trójciałowych. Co z kątami i korelacją między parametrami rozkładów kątowych i parowych w konfiguracjach trójciałowych?
 - c. Szkoda, że w kontekście ścieżek rozproszeń wielokrotnych na modelach kompleksów Autorka nie zaznaczyła uwzględnionych w analizie konfiguracji trójciałowych, ewentualnie w tabelach można było używać opisu w indeksach symboli pierwiastków, wzorem stylu zastosowanego przy konfiguracjach dwuciałowych.
4. Należałoby doprecyzować, na czym dokładnie polegała (jak krótko napisała Autorka) „optymalizacja metodą DFT”? Jak wspominałam wcześniej, przy znikomej ilości informacji związanych z realizowanymi obliczeniami DFT przedstawionymi w Podrozdziale 4.5, to krótkie stwierdzenie w części poświęconej prezentacji wyników jest niewystarczające. Dla podkreślenia kluczowej roli tego etapu w udokładnianiu struktury kompleksów interesujące byłoby porównanie zestawień eksperymentalnego sygnału EXAFS z sygnałami teoretycznymi wyznaczonymi na strukturach przed i po optymalizacji geometrii.

5. Na Rysunku 30 cenne byłoby dodanie wykresów przedstawiających pochodne współczynnika absorpcji (*notabene* Autorka wspomina o nich w podpisie do rysunku).
6. Wnioski na stronie 91 dotyczące kompleksu AgMG-20mM moim zdaniem nie zgadzają się z danymi prezentowanymi w Tabeli 9 i z modelem związku prezentowanym na Rysunku 34(i).
7. Wyznaczone modele struktury AgMG-20mM i AgMG-10mM są bardzo różne, włącznie z najbliższym otoczeniem srebra (patrz np. Rys. 36(d) i (e)). Natomiast porównanie sygnałów EXAFS nie wskazuje na tak istotne różnice. Analiza i dyskusja uzasadniająca wybór/dopasowanie konkretnego modelu struktury powinna być zdecydowanie bardziej rozbudowana.

W Rozdziale „Podsumowanie” Autorka sformułowała zwięzłe wnioski końcowe, wynikające z przeprowadzonych badań strukturalnych i badań aktywności biologicznej dla analizowanych w rozprawie układów. Zwizualizowała również realistyczne modele struktury metalokompleksów badanych w formie proszku i roztworu, dla których uzyskała najlepsze dopasowanie wyznaczonego teoretycznie sygnału $\chi(R)$ do odpowiednio przetransformowanego eksperymentalnego sygnału z zakresu EXAFS.

Zdecydowanie w części eksperymentalnej oraz w podsumowaniu zabrakło pogłębionej analizy porównawczej i dyskusji uzyskanych wyników w świetle innych opracowań (choćby w odniesieniu do badań zrealizowanych w Zespole Spektroskopii Rentgenowskiej i Mikroanalizy dotyczących organicznych kompleksów miedzi), jak również dyskusji wzajemnej relacji pomiędzy strukturą lokalnego otoczenia metalu a właściwościami biologicznymi czy farmakologicznymi kompleksu, o czym bardzo ładnie Autorka wspomina w krótkiej przedmowie do Rozdziału 5. Nie zostały omówione np. kwestie: Czy inne wykazujące lub niewykazujące aktywności biologicznej ligandy koordynują jon miedzi podobnie jak pochodne tetrazolu? Czy i w jakim zakresie geometria wielościanu koordynacyjnego metalu determinuje aktywność biologiczną kompleksu? Czy w innych związkach kompleksowych miedzi, lokalne otoczenie jonu centralnego jest równie „niewrażliwe” na obecność cząsteczek rozpuszczalnika, jak zostało to wykazane w przypadku kompleksów prezentowanych w rozprawie?

Na zakończenie analizy rozprawy muszę zaznaczyć, że w pracy Dyplomantka nie ustrzegła się również kilku niedociągnięć edytorskich. W tym:

- wspominany wcześniej brak wykazu skrótów, oznaczeń i symboli;
- prezentacja rysunków i tabel bez ich cytowania w opracowaniu (np. rys. 4, rys. 8, rys. 9, tab. 6);
- umieszczanie podpisów tabel pod tabelą, a nie – jak to się robi zwyczajowo – nad tabelą;

- niekonsekwentne oznaczanie poszczególnych kompleksów (np. CuD zamiast CuMD, czy AgG zamiast AgMG: w tabeli 1, na rys. 30, rys. 32a, b, na str. 91 w przedostatnim akapicie);
- dość częste błędne cytowanie rysunków (np. str. 36 linia 12 od góry; str. 54 linia 4 od dołu; str. 55 linia 3 od dołu; str. 64 linia 5 od dołu; str. 76 linie 6 i 7 od góry; str. 80 linia 3 od góry i linia 1 od dołu);
- błędna numeracja rysunku na str. 81 (powinien to być rysunek 31).

W mojej opinii, zawarte w rozprawie wyniki badań własnych, analiza danych pomiarowych oraz sformułowane wnioski pozwalają jednak stwierdzić, że Doktorantka **zrealizowała założony i sformułowany na początku rozprawy cel pracy, ujawniając wystarczający poziom wiedzy i praktycznych umiejętności związanych ze stosowanymi zaawansowanymi technikami badawczymi zarówno z zakresu badań biologicznych jak i strukturalnych oraz z metodami analizy uzyskanych za ich pomocą danych.**

Analiza ogólnej aktywności badawczo-naukowej Pani Diany Kalinowskiej niestety ograniczy się do danych, które udało mi się ustalić na podstawie oficjalnie dostępnych źródeł internetowych. Dyplomantka nie dołączyła do rozprawy spisu publikacji własnych, spisu konferencji naukowych (wraz z rodzajem prezentacji), szkół/warsztatów, w których brała czynny udział, czy też projektów badawczych i grantów pomiarowych, którymi kierowała lub w których była wykonawcą. Dlatego jedynie zakładam, że Pani Diana Kalinowska brała udział w co najmniej dwóch opisywanych w rozprawie eksperymentach na synchrotronowych liniach XAFS, poza tym – według baz naukowych – jest współautorką dwóch publikacji w: *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Sec. B* **411** 116-120 (IF=1.416) z 2017 roku jako pierwszy autor i autor korespondencyjny oraz *Radiation Physics and Chemistry* **175** 108047 (IF=2.226) z 2020 roku (dostępna w sieci od 2018 roku) jako drugi autor. Prace poświęcone są zagadnieniom z zakresu analizy struktury molekularnej metaloorganicznych kompleksów Cu(II) realizowanej za pomocą tej samej metodologii jak ta stosowana w rozprawie doktorskiej, ale nie są to związki, którym poświęcona jest recenzowana rozprawa (inny typ ligandów organicznych).

Pomimo przedstawionych w recenzji krytycznych uwag i szeregu pytań, ogólna ocena pracy jest pozytywna, jednak podszyta pewnym poczuciem niedosytu. Wyniki badań Doktorantki stanowią ważny wkład do ogólnej wiedzy na temat możliwości zastosowania techniki rentgenowskiej spektroskopii absorpcyjnej do analizy struktury układów biologicznych, poszerzając w tej dziedzinie spektrum dostępnych metod badawczych o technikę atomowo-selektywną, idealną dla układów niekryształicznych i wykazujących wysoki poziom złożoności strukturalnej. Jednak

ograniczony zakres analizy porównawczej i dyskusji sprawił, że moim zdaniem nie został w pełni wykorzystany ich potencjał.

Podsumowując, do najważniejszych osiągnięć naukowych zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej mgr Diany Kalinowskiej zaliczam:

- skuteczną syntezę metaloorganicznych kompleksów z jonami miedzi i srebra w pozycji centralnej i pochodnymi tetrazolu jako ligandami, które w analizie aktywności biologicznej wykazały obiecujące właściwości cytotoksyczne (selektywność kompleksu CuMG wobec komórek raka prostaty) i przeciwbakteryjne (kompleksy AgMD i AgMG);
- skuteczne zastosowanie metodologii bazującej na rentgenowskiej spektroskopii absorpcyjnej wspartej analizą FTIR, modelami strukturalnymi oraz optymalizacją geometrii całego kompleksu za pomocą obliczeń DFT do ustalenia realistycznego modelu struktury molekularnej ww. kompleksów zarówno w formie wysuszonego proszku jak i roztworu, czyli w medium imitującym naturalne środowisko żywej komórki. W konsekwencji wymodelowano sygnały EXAFS zmierzone na krawędziach K miedzi i srebra z uwzględnieniem ścieżek jednokrotnego i wielokrotnego rozpraszania na atomach ligandów organicznych aż do kilku powłok koordynacyjnych – co nie jest trywialnym zadaniem;
- oryginalnym wkładem Doktorantki w tej dziedzinie jest ustalenie otoczenia koordynacyjnego jonów srebra w metaloorganicznych kompleksach (istotne z punktu widzenia wyjątkowej cytotoksyczności i aktywności mikrobiologicznej tych kompleksów) oraz wykazanie, że warunki eksperymentu zbyt dalekie od warunków natywnych mogą w przypadku kompleksów srebra istotnie zmieniać ich parametry strukturalne;
- możliwość dalszego wykorzystania uzyskanych i zaprezentowanych w rozprawie rezultatów do pogłębienia wiedzy na temat mechanizmów wiązania metali z ligandami organicznymi i zastosowania jej przy projektowaniu nowych leków czy środków terapeutycznych.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Diany Kalinowskiej spełnia ustawowe wymagania stawiane rozprawom doktorskim (Ustawa z dnia 14.03.2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, wraz z późniejszymi zmianami) i wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Fizyki PAN o dopuszczenie mgr Diany Kalinowskiej do dalszych etapów procedury doktorskiej.

dr hab. inż. Agnieszka Witkowska, prof. PG