



Prof. UAM dr hab. Magdalena Rapp
Wydział Chemii
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
w Poznaniu
magdrapp@amu.edu.pl

Poznań, 14 grudnia 2024 roku

RECENZJA

Pracy doktorskiej Pani mgr inż. Marty Grabarek

pt.: „**Synteza inhibitorów ureaz bakteryjnych o kowalencyjnym mechanizmie działania**”

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr inż. Marty Grabarek została wykonana w Katedrze Chemii Bioorganicznej na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej pod kierunkiem Pana prof. dr. hab. inż. Artura Muchy. Praca doktorska dotyczy syntezy związków zaprojektowanych jako inhibitory o unikalnym mechanizmie oddziaływania z ureazą bakteryjną lub wykazujących działanie antyureolityczne. Ureaza stanowi atrakcyjny cel molekularny. Jest ona kluczowym enzymem w metabolizmie związków azotowych w wielu organizmach, dodatkowo ureazy pochodzenia bakteryjnego stanowią tzw. czynniki wirulencji niektórych patogenów chorobotwórczych, ułatwiając im zakażenie żywych komórek innego organizmu.

Docelowe związki należą do grupy pochodnych katecholowych lub 1,2-benzizoselenazol-3(2H)-onu i zawierają ugrupowanie fosfonowe lub fosfinowe, co wiąże je z tematyką, w której znakomitym specjalistą jest promotor pracy. Chemia związków fosforoorganicznych stanowi niezwykle ważny i dynamicznie rozwijający się obszar badawczy fascynujący wielu chemików i biochemików na całym świecie. Jest to często związane z bogatą i zróżnicowaną aktywnością biologiczną, w tym zdolnością hamowania szybkości katalitycznej różnych enzymów, którą wykazują te ciekawe związki.

Efektom pracy były wyniki opublikowane w formie dwóch publikacji o zasięgu międzynarodowym z listy *Journal Citation Reports* (*Eur. J. Med. Chem.* IF 6,0 oraz *Int. J. Mol. Sci.* IF 4,9). W obu powyższych publikacjach Doktorantka była także pierwszą Autorką.

Wydaje się także, że nie wszystkie wyniki zostały już opublikowane, a określenie struktury kompleksu odpowiedniego ligandu z ureazą z pewnością przyczyni się do głębszego zrozumienia mechanizmu jej inhibicji i opublikowaniu pozostałych danych w renomowanym czasopiśmie.

Ocena pracy

Treść pracy odpowiada tematowi określonymu w tytule. Praca w postaci jednotomowego opracowania zawiera 188 ponumerowanych stron i zawiera wprowadzenie (Rozdział 1, str. 11-13), a następnie część teoretyczną, czyli tak zwane studia literaturowe (Rozdział 2, str. 15-42). W dalszej kolejności w pracy znajduje się opis badań własnych zawierający sprecyzowany cel, część właściwą i podsumowanie pracy (Rozdział 3, str. 43-80). Całość zamykają część eksperymentalna (Rozdział 4, str. 81-122), spis cytowanej literatury (Rozdział 5, str. 123-130), dorobek naukowy Doktorantki (Rozdział 6, str. 131-133) oraz atlas widm NMR otrzymanych produktów końcowych (Rozdział 9, str. 139-188).

Ponadto, w pracy znajduje się także wykaz skrótów oraz streszczenie pracy w języku polskim i angielskim. Taki układ pracy pozwala właściwie, w sposób przejrzysty i logiczny zaprezentować przeprowadzone badania i uzyskane wyniki.

Część literaturowa wprowadza czytelnika w tematykę znaczenia ureazy, jej aktywności biologicznej, a szczególnie jej roli w zdolności do wnikania i infekowania organizmu przez patogeny bakteryjne (tzw. czynnik wirulencji). Antybiotykooporność szczepów bakteryjnych stanowi ważny i narastający problem zdrowotny populacji ludzkiej. Ta część pracy uzasadnia naukowo podjęcie działań ukierunkowanych na inhibicję tego enzymu. W dalszych podrozdziałach Doktorantka przedstawia niekowalencyjne inhibitory ureazy bakteryjnej, takie jak pochodne mocznika, kwasów aceto hydroksamowych, związków fosforoorganicznych, heterocyklicznych chinolonów oraz innych grup związków organicznych. Autorka dokonała także porównania budowy fosfonowych, fosfinowych, tiofosfinowych oraz fosfonamidowych inhibitorów fosforoorganicznych oraz ich potencjału inhibitorowego. Przedstawiła także wybrane metody ich syntezy. W dalszej części dysertacji Pani mgr inż. Marta Grabarek opisała inhibitory ureazy bakteryjnej wiążące się kowalencyjnie z enzymem, między innymi z resztą sulfhydrylową cysteiny zlokalizowanej przy wejściu do centrum aktywnego enzymu. Autorka opisała w sposób kompetentny właściwości inhibitorów kowalencyjnych pochodzących z grupy związków selenoorganicznych, oraz polifenoli ze szczególnym naciskiem na katechole, w tym zawierające fragment fosforoorganiczny. Ostatnia część tego podrozdziału zawiera wskazaną aktywność biologiczną związków karbonylowych/karboksylowych zawierających wiązanie α,β -nienasycone oraz jonów metali ciężkich. Przedstawione w tym rozdziale informacje znakomicie wskazują celowość syntezy związków o szczególnych właściwościach inhibitujących łączących zarówno kowalencyjne jak i alternatywne, w tym koordynacyjne oddziaływania otrzymanych ligandów z kluczowymi miejscami aktywnymi tytułowych ureaz bakteryjnych.

Badawczą część rozprawy doktorskiej rozpoczyna dobrze sprecyzowany cel pracy oraz uzasadnienie struktury zaprojektowanych inhibitorów wraz z dalszymi podrozdziałami opisującymi syntezę poszczególnych grup związków.

W pierwszym podrozdziale tej części rozprawy Doktorantka przedstawiła materiał dotyczący syntezy pochodnej kwasu H-fosfinowego P1.3 zawierającej ugrupowanie katecholowe, na drodze addycji typu Michaela do akrylanu P1.2. Na tym etapie syntezy istotne okazała się zastosowanie odpowiedniej aktywacji soli amonowej kwasu fosforowego(I) tj. użycie *N,O*-bis(trimetylosililo)acetamidu (BSA), od czego zależała wydajność syntezy związku P1.3 określona jako zadowalająca oraz otrzymanego produktu ubocznego P1.4. Dalsze modyfikacje polegające na addycji związku P1.3 do akrylanu metylu lub utlenianie (I_2 , DMSO) oraz usunięcie grup ochronnych eterów metylowych katecholu doprowadziły do otrzymania pochodnych kwasu fosfinowego P1.9; fosfinianu P1.10 oraz kwasów fosfonowych P1.11 wraz z alternatywnie otrzymanym związkiem P1.16. Autokatalityczna reakcja z zastosowaniem metanolu prowadziła do otrzymania pochodnych estrów karboksylowych zawierających ugrupowanie kwasu fosfinowego P1.13 oraz kwasu fosfonowego P1.14.

Do tej części pracy mam dwa pytania:

- czy Doktorantka próbowała scharakteryzować związki P1.13 oraz P1.14 metodami NMR używając jako rozpuszczalnika deuterowanego metanolu? Uważam, że cenne jest umieszczenie takich diagnostycznych informacji w części eksperymentalnej jak na przykład wydajności otrzymanych estrów w surowej mieszaninie reakcyjnej oraz charakterystycznych wartości δ w widmach NMR- tym bardziej, że na rysunku 14 Autorka przedstawia przebieg reakcji estryfikacji z zastosowaniem tej techniki, a związki stanowiły przedmiot dalszych badań biologicznych.
- Na rys 13 przedstawiono optymalizację reakcji addycji odczynnika silylującego sól amonową kwasu fosforowego(I). W jakim rozpuszczalniku były rejestrowane omawiane widma? Z tej części dyskusji wyników wynika, że w mieszaninie reakcyjnej powinny

być związki P1.3 oraz P1.6, podczas gdy w części eksperymentalnej znajdują się inne wartości przesunięcia chemicznego charakterystyczne dla tych związków.

W kolejnym podrozdziale Autorka opisała syntezę inhibitorów kowalencyjnych wiążących dwa kluczowe miejsca ureazy, zaprojektowanych w kierunku koordynacji jonu niklu znajdującego się w miejscu aktywnym enzymu poprzez ugrupowanie fosfonowe fragmentu aminofosfonianowego oraz wiązania się z resztą cysteiny poprzez fragment 1,2-benzizoselenazol-3(2*H*)-onu. W pierwszej kolejności opisane zostało otrzymanie czterech serii pochodnych estrów kwasów fosfonowych z odpowiednich amin pierwszorzędowych. W reakcji katalizowanej związkami palladu otrzymane zostały dwa izomery: *meta*- oraz *para*- aminofenylofosfonianu dietylu P2.1.1 oraz P2.2.1. Alternatywne zastosowanie innego typu substratów (pochodne nitrowe lub ftalimidowe) we wspomaganej mikrofalami reakcji Arbuzowa pozwoliło na otrzymanie (aminofenylo)alkilofosfonianów, (aminometylofenylo)metylofosfonianów oraz ω -aminoalkilofosfonianów dietylu. Tak przygotowane aminy pierwszorzędowe poddano reakcji ze związkiem selenoorganicznym, w wyniku czego powstała grupa dwunastu pochodnych aromatycznych/alifatycznych 1,2-benzizoselenazol-3(2*H*)-onu różniących się łącznikiem pomiędzy grupą aminową i fosfonianową, z wydajnościami od 53% do 81%. Odpowiednio dobrana przez Doktorantkę procedura hydrolizy (stężony HCl, kwas octowy oraz użycie promieniowania mikrofalowego) pozwoliła na otrzymanie pochodnych kwasów fosfonowych dla ośmiu z wyżej opisanej grupy estrów. Co więcej, hydroliza prowadzona w warunkach zasadowych posłużyła do otrzymania dwóch pochodnych monoestrowych P2.9.5 oraz P2.12.5, które również wykorzystano do badań aktywności antyureolitycznej. Aby ocenić i porównać aktywność biologiczną otrzymanych związków Autorka zsyntetyzowała także odpowiedniki kwasów fosfonowych P2.9.6 oraz P2.12.6, w których w miejscu selenazolonu znajdował się pierścień ftalimidowy. W tym miejscu warto dodać, że w przypadku dwóch kwasów fosfonowych P2.9.4 oraz P2.11.4 udało się wyhodować monokryształy zdadne do badań z wykorzystaniem metod rentgenowskich, co świadczy o doskonałym warsztacie pracy Doktorantki. Krystalizacja w przypadku niektórych związków organicznych jest wcale niełatwym zadaniem i wymaga wielu wysiłków chemika-eksperymentatora.

W ostatniej części rozdziału omawiającego syntezę docelowych związków Doktorantka skupiła się na otrzymaniu serii chlorowanych i/lub fluorowanych pochodnych *N*-benzylowych 1,2-benzizoselenazol-3(2*H*)-onu. W analogicznej do omawianych poprzednio reakcji chlorku 2-(chloroseleno)benzoilu z monofluoro-, difluoro- lub trifluorowaną benzyloaminą otrzymano związki P3.5-P3.12 z wydajnościami od 26% do 89%, w zależności od pozycji podstawników. Dla porównania, dla izomerów położeniowych trifluorotoluenu (związki P3.13-P3.15) i pozostałych halogenowanych pochodnych benzenu lub trifluorotoluenu (P3.16-3.19) wydajności różniły się i znajdowały w przedziale od 31% - 53% , a w drugiej z omawianych grup w zakresie 35% - 59%. Autorka trafnie zauważyła, że obecność podstawnika(ów) wyciągających elektrony (np. grupa $-CF_3$ i/lub fluor) znacznie obniża zasadowość amin, co między innymi wpływa na ich reaktywność np. w reakcjach substytucji nukleofilowej.

Dalsza część rozprawy związana jest z badaniami aktywności inhibitorowej otrzymanych związków. Testy zostały przeprowadzone wobec natywnej ureazy bakterii *S. pasteurii* CCM 2056. Badania przeprowadzone dla fosforowych pochodnych katecholu wykazały, że stanowią one grupę inhibitorów ureazy *S. pasteurii* w ilościach mikromolarnych, a eksperymenty z preinkubacją wskazały na wolnowiążący mechanizm inhibicji, przy czym stwierdzono, że najsilniejszy charakter hamujący posiada kwas fosfonowy zawierający grupę karboksylową P1.11 (K_i 2,36 μ M). Przeprowadzone dla P1.11 oraz P1.12 modelowanie ich oddziaływań z aktywnymi miejscami ureazy nie tylko potwierdziło podwójny mechanizm inhibicji enzymu, ale i wykazało dodatkowe wiązania jonowe grupy karboksylowej liganda oraz reszty guanidynowej Arg 339 oraz wiązanie wodorowe z pierścieniem His 323 (Rys 17). Zbadana została także aktywność antyureolityczna *in vitro* w komórkach *Helicobacter pylori* (szczepu ATCC 51932). Ponownie okazało się, że najbardziej aktywnym okazał się kwas P1.11; wyznaczono jego hamujące stężenie IC_{50} równe 0,75 μ M. Dodatkowo, dla trzech związków (P1.10, P1.11, P1.16) w badaniach *in vitro* określono

niską toksyczność wobec komórek eukariotycznych (mysich fibroblastów zarodkowych 3T3-L1 oraz ludzkich komórek nabłonka nerki HEK-293). Wyniki tych badań opublikowane zostały w pracy pt. "Inhibitory activity of catecholic phosphonic and phosphinic acids against *Helicobacter pylori* ureolysis" (*Eur. J. Med. Chem.*, **2023**, 257, 115528).

Analogiczne testy przeprowadzone dla serii *N*-aminofenyłowych lub *N*-aminometylofenyłowych podstawionych pochodnych estrów oraz kwasów fosfonowych 1,2-benzizoselenazol-3(2*H*)-onu wykazały, że badane związki są efektywnymi inhibitorami ureazy bakteryjnej *S. pasteurii* w skali nanomolarnej. Inhibicja zachodziła zgodnie z szybkowiążącym mechanizmem oddziaływania w centrum aktywnym enzymu, a odpowiednie najlepsze wartości K_i wynosiły od 5,06 nM dla pochodnych estrów etylowych kwasów fosfonowych podstawionych w pozycjach *meta*- (związku P2.7.4) oraz dla pochodnej P2.3.3 (K_i 7,77 nM). Okazało się także, że odpowiednie fosfoniany dietylu wykazują lepszą aktywność niż ich kwasowe odpowiedniki. Doktorantka trafnie zauważa, że fakt ten przemawia za lepszym dopasowaniem odpowiedniego inhibitora do struktury enzymatycznego białka niż koordynacją jonu niklu z resztą kwasu fosfonowego, chociaż w przypadku pary związków P2.2.2 oraz P2.2.3 wartości były porównywalne, aczkolwiek wartość K_i wynosiła około 430 nM. Autorka uzasadnia też odmienne właściwości hamujące inhibitorów (różne wartości K_i) różnicami w budowie i reaktywności związków, co zdaje się wpływać na tworzenie mostków seleno-siarczkowych inhibitora z enzymem. W dalszej części tego podrozdziału Pani mgr inż. Marta Grabarek wykazała kluczowy wpływ układu selenazolonu na inhibicję ureazy poprzez porównanie aktywności aromatycznych/alifatycznych 1,2-benzizoselenazol-3(2*H*)-onów oraz ich ftalimidowych odpowiedników. Dla serii związków selenoorganicznych uszeregowana została także zdolność inhibicji enzymów przez fosfoniany dietylowe, pochodne kwasowe oraz ich monoestry, przy czym estry dietylowe wykazywały najniższe wartości K_i (7,92 nM < K_i < 71,6 nM), dalej kwasy fosfonowe K_i w zakresie od 108 nM do 426 nM), a na końcu uplasowały się pochodne monoestrowe (K_i > 670 nM). Dla porównania stała dysocjacji kompleksu enzym-inhibitor wykazana dla niezawierających selenu pochodnych ftalimidowych przyjmowała wartości K_i > 50 μ M (Tabela 7). Dla wymienionych powyżej aromatycznych/alifatycznych pochodnych 1,2-benzizoselenazol-3(2*H*)-onu oraz ich ftalimidowych odpowiedników zbadano także aktywność antyureolityczną dla żywych komórek *H. pylori*. Doktorantka poprzez porównanie wartości parametru IC_{50} dla poszczególnych pochodnych, wykazała aktywność hamującą rozkład mocznika przez otrzymane serie *N*-podstawionego selenazolonu w skali nanomolarnej. Chociaż aktywność nie korelowała ze strukturą jak w przypadku badania aktywności biologicznej w stosunku do oczyszczonej ureazy, badane związki okazały się znakomitymi inhibitorami, przy czym najlepszą aktywność wykazano dla *N*-fenylofosfonianu P2.2.2 dla którego wartość IC_{50} wynosiła 29,5 nM. Porównanie aktywności ureolitycznej dla pochodnych diestrowych, monoestrowych oraz odpowiednich kwasów fosfonowych wykazało interesującą selektywność - lepszą inhibicję katalitycznego działania czystego enzymu w porównaniu z badaniami *in vitro* na żywych liniach komórkowych. Autorka uzasadniła to możliwymi różnicami w transporcie związków przez ściany komórkowe badanych bakterii. W pracy wykazane została także umiarkowana lub niska aktywność proliferacyjna wybranych inhibitorów z omawianej grupy związków selenoorganicznych.

Ostatnią z przebadanych pod kątem biologicznym grup związków i też jak się okazało najlepiej hamującą działanie bakteryjnej ureazy wyizolowanej z *S. pasteurii* była seria halogenowych *N*-benzylowych pochodnych 1,2-benzizoselenazol-3(2*H*)-onu. Doktorantka porównała wartości stałej inhibicji- wykazała, że najaktywniejsze spośród badanych związków były inhibitory zawierające jeden lub dwa atomy halogenu, przy czym na aktywność wpływała także aktywacja/dezaktywacja pierścienia fenyłowego w izomerach położeniowych *orto*-, *para*- podstawnika dichlorobenzylowego (P3.2; K_i 0,594 nM) w stosunku do izomeru *orto*-, *meta*- (P3.3, K_i 9,04 nM) czy *meta*-, *para*- (P3.4, K_i 15,9 nM), co potwierdza tendencję widoczną w wynikach otrzymanych dla monofluorowanych pochodnych P3.5-P3.7. Dalsze modyfikacje struktury inhibitorów uzyskane poprzez obecność grupy CF_3 lub dodatkowego atomu halogenu osłabiały właściwości hamujące

działanie badanej ureazy. Autorka stwierdziła także, że aktywność inhibitorowa poszczególnych halogenowanych pochodnych *N*-benzylowych 1,2-benzisoselenazol-3(2*H*)-onu wobec ureolizy komórek *H. pylori* (choć otrzymano wartości K_i również nanomolarne) wykazuje pewne zróżnicowanie w stosunku do wyznaczonej względem oczyszczonej ureazy, co tłumaczy subtelnymi różnicami w budowie liganda wpływającymi na zależność struktura-aktywność.

W tym miejscu nasuwa mi się następujące pytanie: które z przedstawionych w pracy badań biologicznych zrealizowała Doktorantka samodzielnie, a które we współpracy (z dr. inż. Wojciechem Taborem oraz dr. Agnieszką Grabowiecką). Uważam, że szeroko zaprojektowane i wykonane badania biologiczne podnoszą wartość pracy i w żaden sposób nie umniejszają wartościowych wyników uzyskanych w trakcie syntezy organicznej, szczególnie tak wielu nowych związków jak opisano w niniejszej rozprawie doktorskiej.

W części eksperymentalnej rozprawy znajdują się odpowiednie procedury otrzymywania poszczególnych związków oraz ich charakterystyka spektroskopowa. Wszystkie otrzymane związki opisano i scharakteryzowano prawidłowo nie tylko za pomocą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądowego ^1H NMR, ^{13}C NMR jak również widm ^{31}P NMR. Szczególnie przydatne przy określeniu struktur otrzymanych inhibitorów okazała się interpretacja widm fosforowego magnetycznego rezonansu jądowego, w czym Doktorantka wykazała się znaczną biegłością. I tak wartość przesunięcia chemicznego sygnału w widmie ^{31}P NMR dla kwasu H-fosfinowego (P1.9), wynosiła δ_{P} 32; dla podstawionego fosfinianu P1.10 δ_{P} była równa 54 ppm, a dla kwasu fosfonowego P1.11 wynosiła δ_{P} 26. Dla porównania odpowiednie wartości dla przykładowych modyfikowanych pochodnych fosfonianu dietylu (P2.9.3) wynosiły δ_{P} 28,9; dla pochodnej monoestrowej kwasu fosfonowego (P2.9.5) δ_{P} 24 podczas gdy sygnał odpowiadający kwasowi fosfonowemu (P2.9.4) znajdował się przy wartości δ_{P} 17,2.

W szczególnych przypadkach Doktorantka posługiwała się także analizą widm ^{77}Se NMR oraz ^{19}F NMR. Dla związków otrzymanych jako kryształy wyznaczyła temperatury topnienia. Tylko w jednym przypadku nie znalazłam odpowiedniej wartości (P1.16; str. 89).

Dla wszystkich związków zawierających heteroatomy a w szczególności atom fosforu, czy fluoru można zauważyć ich wpływ na wartość przesunięcia chemicznego innych sygnałów w widmie oraz wartości i multipletowości stałych sprzężenia. Szczególnie wartości stałych sprzężenia $J_{\text{C-P}}$ w widmie ^{13}C NMR są wartościowe i jak wykazała Doktorantka wynoszą odpowiednio $^1J_{\text{C-P}}$ 92 dla kwasu H-fosfinowego (P1.9), dla kwasu fosfonowego (P1.11) $^1J_{\text{C-P}}$ 136 Hz, podczas gdy dla modyfikowanej pochodnej fosfonianu dietylu (np. 2.9.3) $^1J_{\text{C-P}}$ jest równa 139 Hz.

Dodatkowo Autorka zinterpretowała odpowiednio widma ^{19}F NMR związków fluoroorganicznych, gdzie wskazała obecność sygnału/ów dla odpowiednich wartości przesunięcia chemicznego w widmie ^{19}F NMR (w zakresie δ od -141,4 dla 3,4-difluorobenzylowej pochodnej selenazolu P3.10 do δ -110,8 dla 3,5-difluorobenzylowej pochodnej P3.11, podczas gdy wartości dla pochodnych trifluorometylowych P3.13-P3.15 oraz P3.17-P3.19 mieściły się w zakresie $-62 < \delta < -63$ ppm).

Do tej części pracy mam kilka uwag:

- Część eksperymentalna (str. 83): „kwas podfosforawy” proponuję zastąpić bardziej poprawnym „kwasem fosforowym(I)”.
- Str. 87 oraz str. 90: poproszę o wytłumaczenie z czego wynika tak znaczna ilość stałych sprzężeń spinowo-spinowych dla związku P1.9 oraz dla związku P2.1.1.
- Str. 85 oraz str.87: wydaje mi się, że dla pochodnych estrowych P1.6 oraz P1.8 powinny być inne nazwy. Jakie jest zdanie Doktorantki w tej kwestii?
- Str. 86: Zdarzają się czasami wyrażenia nie do końca precyzyjne -co to znaczy roztwór „lodowaty” ?

Dodatkowo, w części eksperymentalnej dostrzegłam parę błędów lub niedociągnięć: czasami w opisach związków pojawiało się za dużo takich samych wartości stałych sprzężenia spinowo-spinowego, np. (ddd, $J_{9.2}$, 9.3, 6,2 Hz) dla związku P1.10 można równie dobrze opisać jako triplet dubletów (td, $J_{9.3}$, 6,2 Hz), podobnie dla związków P2.3.1 itd. Czasami sygnał w postaci multipletu nie jest podany w formie zakresu odpowiednich wartości δ , tylko przy jednej wartości przesunięcia chemicznego (związki P2.8.3; P2.9.2-P2.10.2) itd.

W tym miejscu należy też stwierdzić, że praca napisana jest bardzo starannie, znalezionych literówek jest naprawdę niewiele (jak np. *Sporosarcina pasteurii*, str 67), co dodatkowo podnosi moją bardzo wysoką, pozytywną ocenę zarówno pracy laboratoryjnej związanej z przedstawioną pracą doktorską, jak też przygotowaniem zwięzłej rozprawy.

Zestawione powyżej wyniki wraz z publikacjami wyników własnych Pani mgr inż. mgr inż. Marty Grabarek wskazują na dużą znajomość tematyki oraz dobry warsztat pracy laboratoryjnej Doktorantki. Pracę czyta się z dużym zainteresowaniem. Znajdujące się w pracy doktorskiej opisy procedur syntetycznych, charakterystyki otrzymanych produktów oraz dane dotyczące badań biologicznych są szczegółowo i poprawnie opisane. Dowodem na to jest opublikowanie części wyników, które musiały spełnić konieczne standardy związane z procesem ewaluacji i publikacji w renomowanym czasopiśmie. Wszystkie schematy, rysunki, widma oraz tabele są ponumerowane, w tekście znajdują się odsyłacze do rysunków, widm, schematów i tabel. Praca zawiera odniesienia do 91 źródeł literaturowych- publikacji, patentu oraz 2 prac doktorskich. Spis rzeczy i odsyłacze wykorzystano prawidłowo. Doktorantka doskonale opanowała technikę pisania opracowań naukowych, umiejętnie interpretuje uzyskane dane, potrafi przeprowadzić dyskusję otrzymanych wyników i wyciąga właściwe wnioski.

Jako Recenzentka muszę także podkreślić szczególnie estetyczny wygląd pracy, oraz bardzo starannie przygotowaną rozprawę.

Wniosek końcowy

W mojej opinii praca doktorska Pani mgr inż. mgr inż. Marty Grabarek spełnia warunki określone w art. 187 ust.1-2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.) i może być podstawą nadania stopnia naukowego doktora, w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki chemiczne. Wobec tego stawiam wniosek o dopuszczenie Pani mgr inż. mgr inż. Marty Grabarek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę wartościowy naukowo i wysoki poziom merytoryczny badań, ich wszechstronność, a także fakt opublikowania wyników w postaci publikacji w renomowanych czasopismach, pokazujący wiedzę Doktorantki w zakresie omawianych treści, zgłaszam wniosek o wyróżnienie.

Z poważaniem,

Magdalena
Repp