



Wrocław, 2015-11-25

**Prof. Henryk KOZŁOWSKI CSci CChem FRSC**

Tel/fax +48-713757251

Email: [henryk.kozlowski@chem.uni.wroc.pl](mailto:henryk.kozlowski@chem.uni.wroc.pl)

<http://henryk.chem.uni.wroc.pl>

**OPINIA O ROZPRAWIE DOKTORSKIEJ MGR MARZENY SYMONOWICZ „WŁAŚCIWOŚCI  
FIZYKOCHEMICZNE I BIOLOGICZNE CHELATOWYCH POŁĄCZEŃ METALI PRZEJ SCIOWYCH  
Z WYBRANYMI FLAWONOIDAMI I ICH ANALOGAMI”**

Flawonoidy, polifenole roślinne, stanowią ostatnio temat bardzo wielu badań, mających na celu wykazanie ich ciekawych właściwości biologicznych ważnych w medycynie. Polifenole są również znakomitymi ligandami dla jonów metali, dlatego temat pracy doktorskiej mgr Symonowicz i jej temat badawczy jest pomysłem bardzo dobrze pomyślanym. Polifenole oraz ich kompleksy są również istotnymi czynnikami odgrywającymi ważną rolę w procesach tzw. „stresu oksydacyjnego”.

Doktorantka zbadła dwa ligandy polifenolowe: fizetynę i syntetyczny analog, hydrazonową zasadę Schiffa hespertyny (HHSB) i ich kompleksy z jonami Cu(II). Stosując szereg metod fizykochemicznych, typowych dla badań roztworów kompleksów metali takich jak spektroskopia absorpcyjna, ESI MS, EPR i CD oraz w przypadku kryształów rentgenografię. Szereg zastosowanych metod pozwoliło na dość dobry opis tworzonych kompleksów i ich właściwości fizykochemicznych. Po badaniach fizykochemicznych dwóch ligandów i ich kompleksów z jonami Cu(II) mgr Symonowicz zbadła właściwości „antyoksydacyjne” badanych układów oraz oddziaływanie tych związków z cyklicznym DNA.

Autorka rozprawy przeprowadziła również aktywność cytotoksyczną i przeciwbakteryjną układów zawierających HHSB i jej miedziowy kompleks CuHHSB.

Badania właściwości koordynacyjnych fizetyny pozwoliły zaproponować stechiometrię tworzonych kompleksów i ich stałe trwałości. Otrzymane wyniki pozwoliły zaproponować tworzenie się kompleksów ekwimolarnych (CuL), bis-kompleksów (CuL<sub>2</sub>) i kompleksów dimerycznych (Cu<sub>2</sub>L). Zastosowanie metod spektroskopowych, potencjometrii i ESI MS potwierdzają proponowane formy kompleksowe.

Fizetyna okazuje się być bardzo efektywnym ligandem dla jonów Cu(II), tworząc, dzięki posiadaniu szeregu donorów, trzy typy kompleksów w badanym zakresie pH, dwa monomeryczne i jeden kompleks dwurdzeniowy.

Ciekawe wyniki otrzymano w badaniach właściwości „antyoksydacyjnych” fizetyny i jej kompleksów z Cu(II). W obecności rodnika DPPH – skuteczniejsze są kompleksy Cu(II), natomiast w obecności rodnika ABTS większy efekt „antyoksydacyjny” obserwowano dla wolnej fizetyny. Autorka rozprawy proponuje, że wynika to z silnego wpływu jonów metalu na właściwości chemiczne fizetyny, co zmienia zasadniczo między innymi potencjał utleniający fizetyny w kompleksie w porównaniu z wolną fizetyną. Myślę, że dokładne wyjaśnienie tego faktu będzie ważne dla ogólnej wiedzy o właściwościach antyoksydacyjnych polifenoli.

Fizetyna i jej kompleksy z Cu(II) oddziałują z CT-DNA. O ile wolna fizetyna wydaje się interkalować kwas nukleinowy, to mechanizm oddziaływania jej kompleksu wydaje się być odmienny i nie do końca wyjaśniony przez doktorantkę.

Trochę zaskakujące stwierdzenie można spotkać po badaniach kompleksów Cu(II) z DNA – kompleks Cu(II) z fenantroliną był bodźcem do badań nad zastosowaniem kompleksów metali jako leków przeciwnowotworowych. Prawdziwym powodem zainteresowania był czysty przypadek, który zdarzył się 30 lat wcześniej Rosenbergowi, który odkrył jeden z ważniejszych leków przeciwnowotworowych *cisplatinę*. Kompleksy miedzi mają niewielką szansę na zastosowanie jako lek, z powodu bardzo dużej toksyczności jonów tego metalu.

Bardziej efektywna degradacja DNA powodowana przez kompleks fizetyny w porównaniu z wolną fizetyną.

Autorka rozprawy tłumaczy tworzeniem się jonów Cu(I) co częściowo udowadnia (batokuproina), jest to ciekawy wniosek i ja bym go bardziej dopracował.

Badania nad hesperetynową zasadą Schiffa i jej kompleksami z jonami Cu(II) wykazały, że jest to ligand o ciekawych właściwościach fizykochemicznych i bardzo skuteczny w wiązaniu jonów metali. Struktura wolnego liganda została potwierdzona krystalograficznie.

Badania potencjometryczne, ESI MS i badania spektroskopowe pozwoliły określić równowagi koordynacyjne, występowanie kompleksów mono- i dimerycznych. Dowód otrzymany przy pomocy metody EPR nie jest bardzo przekonujący, ale możliwość dimeru wykazuje również badanie ESI MS.

Również dla kompleksu Cu(II) z badaną zasadą Schiffa wykonano badania oddziaływania z DNA, sugerując mechanizm interkalacyjny. Kompleks powoduje cięcie helisy DNA prawdopodobnie według mechanizmu hydrolitycznego, chociaż nie można wykluczyć również mechanizmu oksydatywnego.

Doktorantka zbadała również aktywność cytotoksyczną (a nie jak pisze Pani mgr „przeciwnowotworową”) kompleksu, stwierdzając większą aktywność kompleksu niż wolnego liganda.

Otrzymane kompleksy mają również pewne właściwości przeciwbakteryjne, głównie wynikające z obecności jonów metalu.

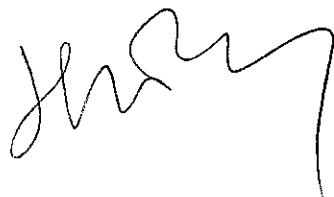
Podsumowując można powiedzieć, że Pani mgr Symonowicz wykonała bardzo solidne badania nad właściwościami koordynacyjnymi dwóch wybranych ligandów pochodnych polifenoli. Autorka rozprawy otrzymała szereg ciekawych wyników, które dość dobrze opisują właściwości polifenoli i ich kompleksów z jonami Cu(II).

W pracy można spotkać kilka dość interesujących a nawet niezwykłych stwierdzeń:

Np. na str. 14, „Jon Cu(II) (...) zachowuje się jak metal przejściowy”. Czyli Cu(I) nie jest „metalem przejściowym”? Str. 62 Autorka bada koordynację w obecności fosforanów, które są bardzo dobrymi ligandami dla jonów Cu(II). Na str. 66 i dalszych autorka rozprawy jest w stanie wykazać koordynację wody do jonów Cu(II) z widm EPR. To jest niezwykła umiejętność i chyba trochę ryzykowna. Str. 91, jak można określić zdolności nukleolityczne stałego kompleksu miedzi? Takich przykładów jest więcej, ale nie obniżają one wartości samej rozprawy doktorskiej, ale wykazują, że prace przeczytałem dość dokładnie i chyba ze zrozumieniem.

Myślę, że rozprawa spełnia warunki rozprawy doktorskiej i wnioskuję o dopuszczenie Pani Magister Symonowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Uważam, że praca zasługuje na wyróżnienie przez Radę Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności.

Z poważaniem,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'J. K.' followed by a stylized flourish.