



dr hab. Izabella Jastrzębska, prof. UwB  
15-245 Białystok, ul. Ciołkowskiego 1K, ☎(0-85) 7388127; e-mail: i.jastrzebska@uwb.edu.pl

---

Białystok, 9.12.2024 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej **mgra inż. Dawida Janasika** zatytułowanej

**„Przełączniki molekularne jako środki kontrastowe  $^{19}\text{F}$  MRI”**

przygotowanej pod kierunkiem dr hab. inż. Tomasza Krawczyka, prof. PŚ

*Recenzja została sporządzona w odpowiedzi na pismo Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Politechniki Śląskiej pani prof. dr hab. inż. Doroty Neugebauer z dnia 9 października 2024 w związku z prowadzeniem przewodu doktorskiego mgr. inż. Dawida Janasika.*

**Wstęp**

Jedną z kluczowych obecnie technik diagnostycznych, jest obrazowanie z wykorzystaniem metody rezonansu magnetycznego (ang. MRI). Najczęściej stosowane jest  $^1\text{H}$  MRI. Duża zawartość wody w organizmie człowieka, może powodować zmniejszenie kontrastu między tkankami, a przez to dawać niejednoznaczne lub błędne wyniki obrazowania. Aby zredukować powyższe komplikacje, stosuje się środki kontrastujące, zawierające np.  $\text{Gd(III)}$ , które charakteryzują się krótszymi czasami relaksacji oraz pozwalają na lepszą jakość obrazowania konkretnych tkanek. Jednocześnie, trwają prace nad poszukiwaniem alternatywnych rozwiązań w stosunku do protonowego MRI. Obecnie prowadzi się działania nad zastosowaniem do obrazowania metodą rezonansu magnetycznego:  $^3\text{He}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{129}\text{Xe}$ . Ze względu na 100% udziału izotopu, spin  $\frac{1}{2}$ , wysoki współczynnik żyromagnetyczny, i co bardzo istotne, występowanie endogennych atomów fluoru w organizmie w znikomych ilościach, zastosowanie  $^{19}\text{F}$  do obrazowania, wydaje się bardzo interesujące oraz obiecujące. Współczesna diagnostyka poszukuje metod obrazowania również na poziomie komórkowym. A to pociąga za sobą wymóg zaprojektowania środków kontrastowych

charakteryzujących się aktywnością w stosunku do określonego enzymu, czy ulegających aktywacji w zakresie pH właściwymu zmianom choroby nowotworowej.

Badania wykonane w ramach recenzowanej pracy doktorskiej dotyczą opracowania substancji, które odpowiadałyby na wyzwania stawiane nowoczesnym środkom kontrastowym. Z uwagi na powyższe, wybór tematyki badawczej podjętej przez mgr. inż. Dawida Janasika uważam za zasadny.

Dorobek badawczy Doktoranta w zakresie przedstawionej pracy stanowi cykl czterech spójnych tematycznie publikacji, w tym trzech o charakterze eksperymentalnym. Artykuły zostały opublikowane w latach 2022-2024, wszystkie w czasopismach o zasięgu międzynarodowym i wysokim współczynniku oddziaływania: *Chemistry European Journal*, *Analytical Chemistry* i dwie prace w *ACS Sensors*. Doktorant jest również współautorem trzech innych, niewchodzących w cykl, publikacji oraz autorem dwóch rozdziałów w monografiach naukowych. Dodatkowo pan Janasik brał udział w 8 konferencjach o zasięgu ogólnopolskim i międzynarodowym. Doktorant odbył trzy kilkumiesięczne staże naukowe, dwa w Brno University of Technology w Czechach i jeden w University of Groningen w Holandii. Nie rozumiem powodu podania nazwisk przy opisie szczegółów dotyczących staży.

### **Ocena redakcyjnej strony pracy**

Dostarczona do recenzji praca zawiera 45 stron autoreferatu, który obejmuje: wykaz publikacji wchodzących w skład doktoratu, wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp będący wprowadzeniem literaturowym, cel i zakres pracy, omówienie otrzymanych wyników, podsumowanie i wnioski, bardzo bogatą (aż 209 pozycji literaturowych) bibliografię oraz dorobek naukowy Autora. Dodatkowo, do pracy Doktorant załączył kopie opublikowanych prac, a także, ponadobowiązkowo, tzw. Supporting Information, co nie jest konwencjonalnym załącznikiem, w przypadku dysertacji z cyklu publikacji. Pragnę podkreślić, że ww. załącznik jest bardzo przydatny podczas śledzenia wywodu.

### **Ocena merytoryczna badań przedstawionych w rozprawie**

Przedmiotem badań było 1. otrzymanie trzech izomerów przełączników molekularnych bazujących na budowie przełączników zaproponowanych przez I. Aprahamiana, zawierających ugrupowanie hydrazonowe, jako potencjalnych środków

kontrastujących działających w określonym zakresie pH, a następnie sprawdzenie ich efektywności, 2. zsyntezowanie szeregu przełączników hydrazonowych posiadających w strukturze ligand zdolny do kompleksowania paramagnetyków i 3. otrzymanie serii przełączników z dodatkowymi podstawnikami w pierścieniach aromatycznych w celu sprawdzenia izomeryzacji E/Z w zakresie pH wykorzystywanym do obrazowania zmian nowotworowych.

Interpretacja wyników nie budzi zastrzeżeń merytorycznych, mam jednak pewne uwagi, które wymagają wyjaśnienia lub komentarza:

1. W pierwszym fragmencie opisu wyników badań własnych (p. 3.1), Doktorant omawia wyniki przedyskutowane w *ACS Sensors* 94, 3427-3431 z 2022 roku. Biorąc pod uwagę różnorodność rozwiązań wykorzystywanych do obrazowania  $^{19}\text{F}$  MRI, co zestawione jest w pracy przeglądowej należącej do cyklu publikacji stanowiących recenzowaną dysertację (*Chem. Eur. J.*, 27, 1-33, 2023), uważam, że idea zastosowania do tego celu przełączników hydrazonowych zawierających atomy fluoru, jest niezwykle nowatorska. Zsyntezowanie zmodyfikowanych układów bazujących na strukturze przełączników I. Aprahamiana zostało zrealizowane w kilku krokach, a następnie zweryfikowano hipotezę stosowalności uzyskanych przełączników jako technikę do obrazowania  $^{19}\text{F}$  MRI. Izomeryzację E/Z sprawdzono przy zastosowaniu  $^1\text{H}$  oraz  $^{19}\text{F}$  NMR. Stwierdzono, że aktywacja przełączników hydrazonowych zawierających atomy fluoru, zachodzi w zakresie pH od 2 do 4. W dalszym etapie, potencjalne środki kontrastujące testowano pod kątem możliwości ich wykorzystania do obrazowania  $^{19}\text{F}$  MRI. Ten etap badań wykonano przy współpracy z grupą prof. W. Węglarza z IFJ PAN w Krakowie.

W tekście brakuje konsekwencji, np. najpierw omówione są widma  $^1\text{H}$  NMR serii przełączników, a na końcu akapitu znajduje się komentarz dotyczący tylko jednego związku: „zaobserwować można 2 sygnały przy  $-63$  ppm”. To zdanie sugeruje, że sygnały od izomerów E i Z, znajdują się dokładnie w tym samym położeniu, a wówczas nie byłoby możliwe potwierdzenie procesu izomeryzacji. Proszę o wyjaśnienie, co znaczy, stwierdzenie, że: „stosunek pól powierzchni pod sygnałami odpowiada stosunkowi pików 15 i 12 ppm z widma  $^1\text{H}$  NMR” (str. 22) oraz „w warunkach rezonansu informacja o przesunięciu chemicznym jest wykorzystywana także do uzyskania informacji przestrzennej” (str. 23).

2. W kolejnym podrozdziale rozprawy doktorskiej (p. 3.3) zostały przedstawione rezultaty badań opisanych w *ACS Sensors* 8, 1971-1979 z 2023 roku. Przełączniki

molekularne udekorowano *N*-pochodnymi tetraazacyklodekana (cyklenu) jako ligandy zdolne do kompleksowania jonów paramagnetyków. Celem ich otrzymania było zbadanie wpływu struktury przełącznika hydrazonowego na czas relaksacji w zależności od pH. Najlepsze rezultaty uzyskano dla kompleksu Gd(III) i podstawnika -CF<sub>3</sub> w pozycji *meta*, co potwierdzono w próbach obrazowania <sup>19</sup>F MRI przy różnym pH w IFJ PAN w Krakowie.

Rozpoczynając od słów „Istnieją trzy możliwe warianty liganda L, z grupą CF<sub>3</sub> (...)”, tekst z recenzowanej pracy jest kalką, wręcz surowym tłumaczeniem z publikacji wchodzącej w cykl. Doktorant nawet się nie pokusił o zmianę numeracji i oznaczeń związków, a warunki reakcji pod Rys. 15 (abstrahując, że jest to schemat) są w języku angielskim. Chciałabym zaakcentować, że omówienie wyników badań w autoreferacie, powinno być *opisem* najistotniejszych wyników będących efektem przeprowadzonych badań, a nie bezpośrednim tłumaczeniem publikacji. Proszę o komentarz dotyczący tej kwestii.

3. Kolejna z cyklu publikacji praca (*ACS Sensors* 8, 721-727, 2023), próbuje znaleźć rozwiązanie problemu związanego z faktem, iż aktywacja przełączników hydrazonowych zawierających atomy fluoru, zachodzi w zakresie pH od 2 do 4, co jest wartością zbyt niską w kontekście przydatności jako środki kontrastowe do obrazowania <sup>19</sup>F MRI. W tym celu uzyskano przełączniki zawierające: w pierścieniu aromatycznym oprócz grupy CF<sub>3</sub>, dodatkowy podstawnik, elektronodonorowy lub elektronossący i/lub podstawnik w pierścieniu pirydylowym, a następnie zbadano izomeryzację E/Z w zależności od pH środowiska. Dla wybranych układów wyznaczono pK<sub>a</sub>. Mimo uzyskania substancji (przełącznik z grupą -NH<sub>2</sub> w pozycji *meta* do grupy CF<sub>3</sub> i grupą metylową w pierścieniu pirydylowym), która ulegała aktywacji w zakresie pH odpowiednim do obrazowania zmian nowotworowych, to nadal wyzwaniem była słaba rozpuszczalność w wodzie, co również rozwiązano.

Uważam, że ta część badań powinna być omówiona tuż po podrozdziale 3.2, jako konsekwencja rezultatów eksperymentów opisanych w pracy *ACS Sensors* 8, 1971-1979 z 2023.

4. W wykazie skrótów brakuje wyjaśnienia OFI, PAI, TPSSh, ECP i innych.

5. Autorowi nie udało się uniknąć błędów stylistycznych oraz niefortunnych stwierdzeń; w tym miejscu wymieniam kilka z nich: „Udało się zaprojektować i otrzymać (...)” (str. 5), „Rozszerza to nie tylko rodzaje cząsteczek zawierających <sup>19</sup>F (...)” (str. 9), „Metalami tutaj mogą być (...)” (str. 12), „(...) można zaprojektować reaktywne sondy

molekularne MRI, które raportują o różnych biomarkerach” (str. 13), „Enzymy (...) organizują większość funkcji w biologii komórkowej i molekularnej” (str. 13), „długołańcuchowe konstrukcje” (str. 14), „komórki nowotworowe manifestują odwrócony gradient pH” (str. 15), „cząsteczkę, którą można manipulować” (str. 17), „wyniki są zgodne z krystalografią rentgenowską” (str. 22), „sygnały są ostrzejsze” (str. 23), „iminowy węgiel” (str. 18), „część iminowa z azotem typu amina” (str. 18).

6. Autor błędnie określa „nanocząstki” jako „nanocząsteczki” (str. 12).

7. Na czym polega „uwalnianie sygnału  $^{19}\text{F}$  MRI” (str. 14)?

8. W tekście zazwyczaj brakuje odnośników do rysunków, a szkoda, bowiem to znacznie ułatwiłoby śledzenie wywodu.

9. Na str. 18. Doktorant stwierdził, że „w tej pracy skupiono się głównie na przełącznikach hydrazonowych”, kiedy to przedmiotem badań były przełączniki wyłącznie jednego rodzaju.

Niezależnie od wątpliwości przedstawionych powyżej, pragnę podkreślić, że przedstawioną do recenzji pracę doktorską pana mgr inż. Dawida Janasika oceniam pozytywnie. Rozprawa doktorska przedstawia oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Dysertacja zawiera ciekawy materiał doświadczalny, a zakres wykonanej pracy eksperymentalnej, wymagał dużej wiedzy teoretycznej i umiejętności manualnych. Po lekturze rozprawy oraz przedstawionych w autoreferacie celów i zagadnień badawczych stwierdzam, że zostały one zrealizowane i są zgodne z przedstawionymi wynikami badań.

### **Wniosek końcowy**

Stwierdzam, że badania jakie wykonał mgr inż. Dawid Janasik w ramach rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Przełączniki molekularne jako środki kontrastowe  $^{19}\text{F}$  MRI” zakresem stosowanych metod i otrzymanych wyników, a także sposobem dokumentacji wyników odpowiada wymogom stawianym pracom doktorskim i tym samym, spełnia wymagania określone art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawa o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018, poz. 1668 i późn. zm.).

W związku z powyższym, wnioskuję do Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Politechniki Śląskiej pani prof. dr hab. inż. Doroty Neugebauer o dopuszczenie pana mgr. inż. Dawida Janasika do dalszych etapów przewodu doktorskiego.