



Wrocław, 13.01.2026

Prof. dr hab. Elżbieta Gumienna-Kontecka

Zespół Biologicznej Chemii Nieorganicznej

e-mail: elzbieta.gumienna-kontecka@uwr.edu.pl**RECENZJA****rozprawy doktorskiej mgr Joanny Stefaniak-Skorupy****pt. „Nowe potencjalne chemoterapeutyki****przeciwdrobnoustrojowe oparte na strukturze aminokwasów”****wykonanej na Politechnice Gdańskiej pod kierunkiem Prof. dr hab. inż. Marii J. Milewskiej**

Patogeny bakteryjne i grzybicze oraz wywołane ich rozwojem infekcje stanowią coraz poważniejszy problem zdrowia publicznego na świecie. Najbardziej narażone na ich działanie są osoby z problemami zdrowotnymi lub osłabionym układem odpornościowym. Liczba przypadków inwazyjnych chorób bakteryjnych i grzybiczych rośnie wraz ze wzrostem populacji zagrożonej i stale identyfikuje się nowe grupy ryzyka. Co istotne, globalne zagrożenie dla zdrowia pogłębia się wraz z szybkim pojawianiem się oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe (antybiotyki i leki przeciwgrzybicze) oraz w wielu przypadkach ograniczonym dostępem do wysokiej jakości diagnostyki i leczenia. Odkrycie innowacyjnych strategii antybakteryjnych jest zatem pilną koniecznością, zwłaszcza w przypadku patogenów odpowiedzialnych za ciężkie zakażenia, dla których liczba opcji terapeutycznych jest silnie ograniczona.

Mikroorganizmy wypracowały szereg mechanizmów zwiększających ich oporność na antybiotyki, a główną barierę przepuszczalności, która ogranicza bierną dyfuzję ksenobiotyków, w tym wielu klas antybiotyków, jest zewnętrzna błona mikrobiologiczna. Jednakże błona ta zawiera również specyficzne systemy wychwytu, które umożliwiają aktywny, kontrolowany import niezbędnych składników odżywczych - zależne od TonB transportery dla substratów, takich jak siderofory.

Siderofory to związki chelatujące o małej masie cząsteczkowej, które wydzielone do środowiska selektywnie wiążą i aktywnie transportują jony żelaza do komórek mikroorganizmów. Ponieważ żelazo jest kluczowym i niepodlegającym metabolicznej substytucji składnikiem odżywczym dla bakterii i grzybów, układy asymilacji żelaza stanowią szczególnie obiecujące cele dla rozwiązań terapeutycznych. Co ważne, siderofory nie występują w komórkach organizmów ssaczych, a to czyni je atrakcyjnymi narzędziami, pozwalającymi na selektywne celowanie w mikroorganizmy, szczególnie istotne ze względu na podobieństwo procesów metabolicznych organizmów grzybowych i ssaczych.

W przedstawionym nurcie badawczym mieści się praca doktorska Pani mgr Joanny Stefaniak-Skorupy, która w ramach rozprawy doktorskiej podjęła się opracowania i syntezy nowych związków o potencjalnym działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Zadania badawcze obejmowały projektowanie i otrzymanie koniugatów związków o strukturze aminokwasów z nośnikami molekularnymi (tzw. strategia „Konia Trojańskiego”), a także potencjalnych inhibitorów wybranych enzymów szlaku biosyntezy L-metioniny. Tematyka dysertacji jest bardzo aktualna i wypełnia zapotrzebowanie na



badania ukierunkowane na rozwój nowych narzędzi terapeutycznych o potencjalnym działaniu antymikrobiologicznym. Rozprawa doktorska została wykonana pod kierunkiem Profesora dr hab. inż. Marii J. Milewskiej, na Politechnice Gdańskiej, która od wielu lat prowadzi badania nad projektowaniem związków o działaniu antymikrobiologicznym i rozwojem strategii syntetycznych dla koniugatów nośnik-lek.

Rozprawa doktorska mgr Joanny Stefaniak-Skorupy przedstawiona została w formie opracowania (175 stron), w którym zaprezentowane zostały cele pracy, hipotezy badawcze oraz najważniejsze osiągnięcia rozprawy. Doktorantka zamieściła również wykaz swoich publikacji (sześć artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach z listy JCR oraz jeden w recenzji); szkoda jednak, że lista nie została podzielona na publikacje bezpośrednio związane i niezwiązane z tematyką rozprawy doktorskiej. Dorobek naukowy uzupełnia wykaz doniesień prezentowanych na konferencjach naukowych (siedem posterów).

W obszernym opracowaniu Doktorantka przedstawiła wstęp teoretyczny z przeglądem literatury, cele i zakres pracy, wyniki wraz z dyskusją oraz podsumowanie i wnioski końcowe, po których znajduje się część eksperymentalna i bibliografia zawierająca 198 pozycji literaturowych. Podoba mi się sposób prezentacji informacji, który we wstępie wyposaża czytelnika w podstawową wiedzę dotyczącą strategii „Konia Trojańskiego” w projektowaniu nowych potencjalnych związków przeciwdrobnoustrojowych, sideroforów jako małowcząsteczkowych organicznych nośników molekularnych oraz układów „trimethyl lock” jako rozszczepialnych łączników organicznych. Autorka dysertacji przedstawia również cele molekularne potencjalnych inhibitorów enzymatycznego szlaku biosyntezy L-metioniny. W głównej części, Doktorantka w sposób szczegółowy, bardzo uporządkowany i klarowny przeprowadza czytelnika przez opis wyników, kompleksowo dyskutując planowanie i syntezy struktur i dobór składników (i) koniugatów sideroforów oraz (ii) potencjalnych inhibitorów wybranych enzymów szlaku biosyntezy metioniny. Przedstawia też najważniejsze osiągnięcia wynikające z eksperymentów sprawdzenia aktywności biologicznej otrzymanych związków. Ta część opracowania zawiera wiele schematów ścieżek syntezy oraz widm i zestawień tabelarycznych aktywności biologicznej przedmiotowych związków – przygotowanych w bardzo staranny i przemyślany sposób, ułatwiających czytelnikowi zrozumienie procesu analizy uzyskanych wyników. Wszystkie przepisy preparatywne i wyniki analiz z wykorzystaniem spektroskopii NMR (^1H oraz ^{13}C) oraz spektrometrii mas przedstawiono w części eksperymentalnej. Na podstawie przedstawionych wyników oraz analizy i dyskusji można z całą pewnością stwierdzić, iż Doktorantka zdobyła warsztat badawczy w zakresie przeprowadzonych syntez oraz eksperymentów biologicznych, jak również umiejętność prezentacji otrzymanych wyników, ich podsumowania i wyciągnięcia wniosków.

Do najważniejszych osiągnięć pracy doktorskiej mgr Joanny Stefaniak-Skorupy stanowiących jednocześnie element nowości naukowej zaliczam:

- Opracowanie metod syntezy i otrzymanie koniugatów znanych związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym/fluoroforów z monohydroksamowym analogiem sideroforów



(ω -N-acetylo- ω -N-hydroksy- L-ornityny, AHO), wykorzystanym jako nośnik molekularny (9 nowych związków);

- Wykorzystanie rozszczepialnego pod wpływem esteraz układu typu „trimethyl lock” (TML) jako łącznika AHO-cząsteczka transportowana;
- Wykazanie użyteczności AHO jako nośnika molekularnego w konstrukcji koniugatów działających na zasadzie Konia Trojańskiego, z jednoczesnym wskazaniem, że warunkiem koniecznym uzyskania wysokiej aktywności hamującej wzrost mikroorganizmów jest obecność w strukturze koniugatu systemu TML jako łącznika łatwo rozkładalnego przez enzymy mikroorganizmów, który umożliwi uwolnienie substancji aktywnej (np. efektywnego inhibitora enzymatycznego).
- Opracowanie i synteza potencjalnych inhibitorów szlaku biosyntezy L-metioniny (5 związków);
- Wykazanie aktywności hamującej związków 56 i 58 odpowiednio wobec enzymów Met15p i Str2p oraz wpływu L-Met jako silnie konkurującego aminokwasu ograniczającego efekt przeciwwgrzybowy; oba związki były uprzednio wskazane w literaturze, jako potencjalne inhibitory szlaku biosyntezy metioniny, jednak cele molekularne w metabolizmie grzybów nie były doprecyzowane.

Uważam, że część doświadczalna pracy doktorskiej została dobrze zaplanowana, a interpretacja, prezentacja i omówienie wyników są przeprowadzone w bardzo systematyczny i generalnie czytelny sposób. Mam jednak pewne zastrzeżenia do prezentacji struktur połączeń siderofor – cząsteczka transportowana (rys 3.2). Wskazanie numeracji związków (podobnie jak na rys. 3.27B) ułatwiłoby śledzenie ostatecznych efektów syntez i związków, dla których przeprowadzono badania biologiczne. Domyślam się, że Doktorantka nie zrobiła tego, ponieważ nie udało się otrzymać struktur 44a i 51a w proponowanej formie?

Poniżej, zadaję pytania, które nasuwają mi się po lekturze rozprawy doktorskiej, prosząc Panią mgr Joannę Stefaniak-Skorupę o odpowiedź w trakcie obrony rozprawy:

1. Zastanawiam się czy Doktorantka przeanalizowała proponowane związki z monohydroksamowym analogiem sideroforów pod względem ich właściwości koordynacyjnych i termodynamicznych w stosunku do jonów Fe(III)? Kwestia ta ma ogromne znaczenie w kontekście rozpoznania przez białka transportujące odpowiednie siderofory. W literaturze bardzo szeroko udokumentowano, że nawet drobne zmiany w strukturze mimetyków sideroforów (nie tylko hydroksamowych) mogą blokować rozpoznanie przez receptor i transport nawet bardzo bliskich analogów. Ta cecha stanowi istotny element specyficzności mikrobiologicznego systemu transportu w walce o skuteczne pozyskiwanie jonów Fe(III).
2. Czy w kontekście chemii koordynacyjnej diskutowanych związków widziałaby Pani jakieś możliwości wzmocnienia efektów antymikrobiologicznych i jeśli tak, to jakie aspekty należałoby przeanalizować i dopracować by umożliwić takie działanie?
3. Zaproponowała Pani w strukturach zsyntezowanych związków 4-Cyjano-Tryptofan jako sondę fluorescencyjną obrazującą transport do wnętrza mikroorganizmów. W literaturze analogi 5-Cyano-Tryptofanu pokazano jako spektroskopowe sondy IR. Czy myśli Pani, że można Pani związki



wykorzystać w ten sposób lub jak należałoby je zmodyfikować do takiego działania? Jakie byłyby wady i zalety takiego obrazowania w kontekście Pani badań? I czy można pójść dużo dalej – opracować na ich podstawie sondy multimodalne do obrazowania infekcji? Obrazowanie multimodalne, które wykorzystuje dwa lub więcej sposobów obrazowania w celu uzyskania uzupełniających informacji anatomicznych i molekularnych o żywym organizmie, stało się potężnym narzędziem zarówno w podstawowych badaniach biomedycznych, jak i diagnostyce klinicznej.

4. Czy można zaprojektować koniugat związku 56 umożliwiający kontrolowane uwolnienie substancji aktywnej w komórkach grzybiczych?

Reasumując, uważam, że cel pracy został zrealizowany, a uzyskane wyniki należy uznać za istotny wkład w poszerzenie wiedzy dotyczącej projektowania koniugatów leków przeciwmikrobiologicznych. Pani mgr Joanna Stefaniak-Skorupa pokazała, że proponowana strategia Konia Trojańskiego z wykorzystaniem analogu sideroforów jako nośnika molekularnego oferuje potencjalne korzyści w kwestii ułatwienia transportu leku, ze wskazaniem na istotną rolę w strukturze koniugatu rozszczepialnego łącznika umożliwiającego uwolnienie substancji aktywnej przez enzymy mikroorganizmów. Przedstawione wyniki badań zachęcają do rozwijania tej koncepcji i włączają się do trwającej dyskusji na temat zwalczania zakażeń grzybiczych opornych na leki i rozwijania potencjału teranostyki przeciugrzybiczej, szczególnie, że pomimo rosnącego zagrożenia dla zdrowia ludzi na całym świecie, infekcjom grzybiczym i poszukiwaniu rozwiązań poświęca się relatywnie mało uwagi.

Doktorantka jest w sumie współautorką 6 artykułów naukowych. Pomimo, iż Pani mgr nie wskazała wyraźnie, które publikacje są ściśle związane z tematyką dysertacji, można wywnioskować, że wyniki zaprezentowane w rozprawie doktorskiej stanowią wkład do publikacji przedstawionych w renomowanych czasopismach naukowych o międzynarodowym zasięgu, tj. *Scientific Reports* 2024, *Chemistry European Journal* 2024 (artykuł przeglądowy dotyczący TML) oraz *Current Medicinal Chemistry* 2024 (artykuł przeglądowy dotyczący kwasu rodotorulowego). Wyniki dotyczące koniugatów na bazie AHO zostały też wysłane do *Scientific Reports* i manuskrypt jest wskazany jako podlegający recenzji.

Pani mgr Stefaniak-Skorup brała też udział w realizacji projektów naukowych, które uzyskały finansowanie z Narodowego Centrum Nauki oraz z programu Uczelnia Badawcza Inicjatywa Doskonałości.

Biorąc pod uwagę powyższe fakty, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa spełnia w pełni ustawowe i zwyczajowe kryteria stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023r. poz. 742 z późniejszymi zmianami), i wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Politechniki Gdańskiej o dopuszczenie Pani mgr Joanny Stefaniak-Skorupy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.