



Dr hab. Michał Ceglowski, prof. UAM

Poznań, 4 grudnia 2022 r.

Zakład Chemii Supramolekularnej

Wydział Chemii

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Recenzja osiągnięcia naukowego doktor Magdaleny Mai Zimnickiej, pt.:

„Od niepełnego do wyczerpującego opisu strukturalnego związków bioaktywnych za pomocą spektrometrii ruchliwości jonów sprzężonej ze spektrometrią mas”, będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz całokształtu dorobku naukowego.

Informacje ogólne

Magdalena Zimnicka ukończyła 5-letnie studia magisterskie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego w 2004 roku, broniąc pracę magisterską pod tytułem „Badania anionowych σ -adduktów amin do 1,3,5-trinitrobenzenu metodą spektrometrii mas”. Stopień doktora nauk chemicznych został Pani Magdalenie Zimnickiej nadany w 2009 roku w wyniku obrony pracy pt. „Badanie właściwości i reakcji anionowych σ -adduktów nitrozwiązków aromatycznych w fazie gazowej” w Instytucie Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk. Promotorem pracy doktorskiej był prof. dr hab. Witold Danikiewicz.

W trakcie studiów doktoranckich Pani Zimnicka odbyła tygodniowy staż naukowy na Uniwersytecie w Oslo w grupie badawczej prof. E. Uggeruda, w trakcie którego realizowała projekt naukowy pt. „Reactions of nitrophenide and halonitrophenide ions with acrylonitrile and alkyl acrylates in the gas phase: addition to the carbonyl group versus Michael addition”. Od lutego 2009 roku dr Zimnicka objęła stanowisko asystentki w Instytucie Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk, na którym była zatrudniona, z przerwą na staż post-doktorski, do grudnia 2012 roku. Wspomniany staż dr Zimnicka odbyła na Wydziale Chemii Uniwersytetu Waszyngtońskiego w okresie od listopada 2009 roku do grudnia 2010 roku. W

jego trakcie dr Zimnicka uczestniczyła w realizacji projektu „Implementation of the project on the development of ETD and ECD techniques for peptide sequencing” pod kierownictwem prof. F. Turečka.

Od stycznia 2013 roku Pani dr Zimnicka zajmuje stanowisko adiunkta w Instytucie Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk.

Dorobek naukowy Pani Zimnickiej do uzyskania stopnia doktora, tj. do roku 2009, obejmuje trzy publikacje naukowe w czasopismach z bazy *Journal Citation Reports (The Journal of Organic Chemistry, Journal of the American Society for Mass Spectrometry* oraz *PLOS ONE*) o sumarycznym wskaźniku oddziaływania (*Impact Factor*) wynoszącym 11,193. Dorobek ten jest uzupełniony o sześć wystąpień na międzynarodowych konferencjach naukowych w formie wystąpień ustnych lub posterów.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych Pani dr Zimnicka opublikowała 23 prace w czasopismach z bazy JCR o sumarycznym *Impact Factor* wynoszącym 71,915. Z wymienionych prac sześć publikacji wchodzi w skład recenzowanego osiągnięcia naukowego. Sumaryczny *Impact Factor* tych publikacji wynosi 16,999, co daje średni wynik wynoszący 2,833 na jedną pracę. Mając na uwadze, że Pani dr Zimnicka w swojej tematyce badawczej zajmuje się zastosowaniem spektrometrii mas, wynik ten opowiada wartościom *Impact Factor* osiąganym przez czasopisma naukowe dedykowane tej technice analitycznej. Warto podkreślić, że w skład recenzowanego osiągnięcia naukowego wchodzi artykuły opublikowane w prestiżowych czasopismach dedykowanych chemii analitycznej, tj. czasopismach *Analytical Chemistry* oraz *Analyst*, co wskazuje na wysoki poziom badań prowadzonych przez Panią dr Zimnicką. Dorobek ten jest uzupełniony szesnastoma prezentacjami na krajowych oraz międzynarodowych konferencjach w formie wykładów oraz plakatów naukowych.

Ocena osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadania stopnia doktora habilitowanego

Na przedstawione mi do recenzji osiągnięcie naukowe składa się sześć publikacji w czasopismach z bazy JCR, wszystkie posiadające *Impact Factor* oraz obszernie omówienie zawarte w autoreferacie. Jedna z publikacji jest jednoautorska (opublikowana w *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*), natomiast pozostałe publikacje mają od jednego do pięciu współautorów. We wszystkich sześciu publikacjach Pani dr Zimnicka jest autorem korespondencyjnym, a w czterech pierwszym autorem. Z oświadczeń współautorów oraz Pani dr Zimnickiej wynika, że we wszystkich publikacjach miała ona dominujący udział, gdyż

odpowiadała za zaprojektowanie eksperymentów, wykonanie pomiarów, analizę wyników oraz powstanie ostatecznej wersji pracy.

Wszystkie prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego zostały opublikowane w uznanych czasopismach z punktu widzenia ich tematyki, czyli spektrometrii mas. Wspomniane już wskaźniki bibliometryczne, czyli sumaryczny *Impact Factor* publikacji wynoszący 16,999 (średnio 2,833 na pracę), z punktu widzenia dyscypliny nauki chemiczne nie są wysokie, jednakże rozpatrując te parametry należy pamiętać o możliwościach publikacyjnych określonych wyników prac badawczych. W przypadku tak wąskiej dziedziny jak spektrometria mas, opublikowanie wyników w *Journal of Mass Spectrometry* jest wynikiem dobrym, natomiast w czasopismach takich jak *Analytical Chemistry* oraz *Analyst* jest wynikiem wysmienitym. Dodatkowym potwierdzeniem znaczenia badań prowadzonych przez Panią dr Zimnicką jest liczba cytowań Jej prac, która według danych zawartych w dostarczonej dokumentacji wynosi 310, co przy indeksie Hirscha wynoszącym 9 jest bardzo dobrym wynikiem. W dniu sporządzania recenzji wartości te, zgodnie z bazą Scopus, wynosiły odpowiednio 341 oraz 10.

Osiągnięcie naukowe będące podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego ma jednolity charakter i poświęcone jest zastosowaniu spektrometrii ruchliwości jonów sprzężonej ze spektrometrią mas (IM-MS) do analizy strukturalnej związków organicznych i tworzonych przez nie kompleksów. Analiza strukturalna przeprowadzona jest dzięki obliczeniom teoretycznym i porównaniu wartości uzyskanych w pomiarach IM-MS z danymi obliczonymi dla określonych struktur cząsteczek.

Praca **A1** skupia się na opracowaniu procedury analitycznej, która pozwoliłaby na rozdział dwóch epimerycznych flawonoidów, (+)-katechiny oraz (-)-epikatechiny, za pomocą techniki IM-MS. Habilitantka wykazała, że związki te w formie protonowanej, sodowanej lub w formie deprotonowanej, wykazują znikome różnice w przekrojach czynnych, w związku z tym są nierozróżnialne za pomocą zastosowanej aparatury w technice IM-MS. Dla jonów dimerycznych zaobserwowano pewien stopień rozdziału badanych flawonoidów, jednakże stwierdzono również pojawianie się sygnału pochodzącego od tworzenia mieszanego dimeru, złożonego z (+)-katechiny i (-)-epikatechiny. Słusznie uznano, że uzyskanie widma złożonego z trzech nakładających się sygnałów może prowadzić do nieprawidłowej interpretacji i generować znaczne błędy, np. przy wyznaczaniu limitów detekcji procedury analitycznej. W celu rozwiązania tego problemu Habilitantka zastosowała rozwiązanie, które polegało na dodaniu do mieszaniny flawonoidów substancji chiralnych oraz kationów metali przejściowych. Zabieg ten pozwolił na odnalezienie kombinacji składników kompleksu/klastera, które poprawiały rozdział badanych flawonoidów za pomocą techniki

IM-MS. Okazało się, że jedynie dla klastrów mających postać $[2M + D\text{-aminokwas} + \text{Cu}^{2+} - 3\text{H}]^-$ zaobserwowano istotną poprawę separacji sygnałów. Habilitantce udało się ponadto wykazać, że poprawa rozdziału obserwowana jest dzięki zastosowaniu hydrofobowych D-aminokwasów, takich jak D-alanina, D-leucyna oraz D-prolina. Opracowana dzięki temu procedura analityczna cechowała się granicą wykrywalności wynoszącą $12,9 \mu\text{g ml}^{-1}$.

W pracy **A2** Habilitantka kontynuowała badania nad nowymi procedurami umożliwiającymi rozdzielanie substancji izomerycznych za pomocą IM-MS. W opisywanej pracy głównym tematem badań był rozdział sześciu izomerycznych β -laktamów. Realizacja pomiarów, uzupełniona o obliczenia teoretyczne, pozwoliła Habilitantce na sformułowanie kilku istotnych wniosków. Jedną z najważniejszych obserwacji było pokazanie, że rodzaj wprowadzonego jonu metalu ma niezmiernie duży wpływ na obserwowany za pomocą IM-MS rozdział. Efekt ten był zależny od wielkości kationu metalu oraz charakteru analizowanych jonów. Habilitantka wykazała, że zastosowanie kationów litu, czyli jonów o relatywnie wysokim powinowactwie do układów π -elektronowych, pozwalało na uzyskanie lepszego rozdziału izomerycznych β -laktamów, niż w przypadku innych przebadanych kationów. Habilitantka zbadała również wpływ warunków eksperymentalnych, jakie można zmieniać bezpośrednio w aparaturze analitycznej stosowanej w pomiarze IM-MS. W pracy pokazano, że w technice wędrującej fali (TWIM) dobrana prędkość fali i jej amplituda mają znaczący wpływ na obserwowany rozdział izomerycznych β -laktamów. Z kolei przy zmianie gazu buforowego z azotu na CO_2 nie obserwowano wpływu na uzyskiwany rozdział badanych związków.

Publikacja **A3** zawiera wyniki badań Habilitantki, których celem było odnalezienie kwasu organicznego, który poprawiałby rozdział epimerycznych tripeptydów zawierających w swojej strukturze reszty arginyłowe. Zastosowane kwasy organiczne zdolne były do tworzenia kompleksów z grupami funkcyjnymi wchodzącymi w skład tripeptydów, co prowadziło do ich zmian strukturalnych. Z pomocą obliczeń teoretycznych Habilitantka wykazała, że reorganizacja konformacyjna tripeptydów miała na celu efektywne otoczenie anionu karboksylowego przez atomy wodoru znajdujące się w grupach donorowych tripeptydów. Utworzone kompleksy różniły się przekrojem czynnym, co pozwoliło na ich efektywną separację za pomocą IM-MS. Habilitantka w toku swoich badań stwierdziła, że zastosowanie kwasu dibenzoilo-D-winowego pozwoliło na rozróżnienie wcześniej nierozróżnialnych epimerycznych tripeptydów. Jako wadę opisanego podejścia Habilitantka podała konieczność rejestrowania widma w trybie jonów ujemnych, który cechuje się niższą czułością niż praca w trybie jonów dodatnich. Sugerowanym w podsumowaniu publikacji rozwiązaniem byłoby zastosowanie amfijonów w miejsce kwasów dikarboksylowych.

Tematyka rozdziału epimerycznych peptydów była przez Habilitantkę rozwijana w pracy **A4**. W tym celu etery koronowe o różnych rozmiarach pierścieni oraz różnych podstawnikach wykorzystano do utworzenia kompleksów z tri- oraz tetrapeptydami zawierającymi w swojej strukturze resztę arginylową. Habilitantka w swojej publikacji wykazała, że tworzenie kompleksów przez reszty zasadowe aminokwasów oraz etery koronowe doprowadziło do zmniejszenia separacji epimerycznych peptydów. Ponadto dla tetrapeptydów zaobserwowano zdecydowane pogorszenie pozytywnego wpływu kompleksowania przez etery koronowe w porównaniu do efektu obserwowanego dla tripeptydów. Habilitantka podsumowała uzyskane wyniki stwierdzając, że zastosowanie eterów koronowych do zwiększenia rozdziału epimerycznych peptydów za pomocą IM-MS ma dość ograniczone zastosowanie.

Publikacja **A5** stanowi odejście od dotychczas zaprezentowanej tematyki, czyli poszukiwaniu odczynników umożliwiających poprawienie rozdziału różnych substancji za pomocą IM-MS, w kierunku zastosowania IM-MS do trójwymiarowej charakterystyki strukturalnej związków organicznych. Zmianę tematyki widać wyraźnie również w jakości czasopism, w których opublikowano wyniki, gdyż *Impact Factor* pracy **A5** oraz kolejnej z tej tematyki **A6**, jest w przybliżeniu dwukrotnie wyższy niż publikacji **A1** – **A4**. Zastosowanie IM-MS w połączeniu z obliczeniami teoretycznymi do charakterystyki strukturalnej cząsteczek organicznych jest szczególnie istotne dla związków, które nie tworzą kryształów lub są trudne w scharakteryzowaniu za pomocą klasycznych metod spektroskopowych. W pracy **A5** Habilitantka zajęła się charakterystyką kompleksów tworzonych przez kwas foliowy oraz cyklodekstryny. Zaproponowała dwie możliwe struktury kompleksów, tj. kompleks ekskluzywny w przypadku zastosowania α -cyklodekstryny, oraz strukturę typu rotaksanowego dla β - i γ -cyklodekstryny.

W pracy **A6** Habilitantka scharakteryzowała za pomocą techniki IM-MS oraz metod obliczeniowych kompleksy makrocyklicznych tetralaktamów o różnych parametrach strukturalnych z anionami nieorganicznymi oraz prostymi anionami organicznymi. Wykazała przy tym powody różnic pomiędzy obliczonymi teoretycznie i zmierzonymi wartościami przekrojów czynnych cząsteczek. Udowodniła ponadto, że w przypadku badań strukturalnych bardzo ważne jest dobranie odpowiednich związków do przygotowania krzywej kalibracyjnej w pośrednich pomiarach w spektrometrze z falą wędrującą. Habilitantka potwierdziła ponadto doniesienia literaturowe informujące, że w trakcie jonizacji ESI zmiany konformacyjne cząsteczek zostają zahamowane w wyniku ich zamrożenia. Właściwość ta potwierdza szeroką możliwość zastosowania IM-MS w analizie natywnej konformacji białych cząsteczek i wysoką przydatność tej techniki analitycznej w badaniach strukturalnych.

Do najważniejszych osiągnięć naukowych dr Magdaleny Mai Zimnickiej można zaliczyć:

- Opracowanie procedur analitycznych z wykorzystaniem techniki IM-MS, które pozwalają na rozdział związków izomerycznych, należących do grup takich jak peptydy, flawonoidy oraz β -laktamy;
- Zastosowanie połączenia techniki IM-MS oraz obliczeń teoretycznych w celu scharakteryzowania struktury przestrzennej związków kompleksowych, co czyni technikę IM-MS niezwykle użyteczną w przestrzennej analizie strukturalnej;
- Zmodyfikowanie metody kalibracji w celu uzyskania wyników bliższych rzeczywistym wartościom;
- Potwierdzenie, że jonizacja techniką ESI pozwala na uzyskanie konformacji związku odpowiadającej konformacji występującej w roztworze, co w połączeniu z techniką IM-MS umożliwia scharakteryzowanie struktury związków tworzącej się w roztworze.

Autoreferat napisany jest bardzo dobrze i czyta się go z przyjemnością. Widać wyraźnie, że dr Magdalena Maja Zimnicka bardzo sprawnie odnajduje się w swojej tematyce i umie ją przedstawić w sposób zrozumiały i przystępny. Ze swojej strony mam kilka drobnych uwag i sugestii, które nie wpływają na pozytywną ocenę osiągnięcia habilitacyjnego:

- Habilitantka w autoreferacie pisze o przyrządach IM o niskiej do średniej zdolności rozdzielczej. W tabeli 1 umieszcza wartości rozdzielczości dla różnych modeli aparatów, jednak bez sprecyzowania jakie wartości uważane są za niskie, średnie lub wysokie. Wydaje mi się, że klasyfikacja z podanymi wartościami liczbowymi byłaby w takiej sytuacji i sposobie nazewnictwa wskazana.
- W pracach, w których sprawdzano skuteczność zastosowania szeregu reagentów na obserwowany rozdział w IM-MS, np. w pracy **A1**, użyto kationów czterech metali przejściowych (Cu(II), Cu(I), Co(II), Pd(II)), oczekiwałbym pojawienie się komentarza wyjaśniającego zastosowanie tych określonych kationów.
- Również w pracy **A1** Habilitantka oszacowała granicę wykrywalności katechiny i epikatechiny na $12,9 \mu\text{g ml}^{-1}$. Uważam, że korzystne byłoby

porównanie tej wartości z wartościami uzyskiwanymi innymi technikami analitycznymi oraz jej weryfikacja z wykorzystaniem np. próbki środowiskowej.

Ocena działalności dydaktycznej dr Magdaleny Mai Zimnickiej

Habilitantka wykazywała aktywność dydaktyczną w kształceniu młodej kadry naukowej. W okresie od listopada 2021 do lutego 2022 prowadziła serię wykładów (łącznie 15 godzin) dla doktorantów Warszawskiej Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i Biomedycznych pt. „Zaawansowane metody identyfikacji związków organicznych”. Była promotorką pomocniczą pracy doktorskiej dr Anny Troć pt. „Badanie struktur wybranych grup związków organicznych i ich kompleksów z wykorzystaniem techniki pomiaru mobilności jonów sprzężonej ze spektrometrią mas” oraz opiekunką pracy magisterskiej mgr Magdaleny Gąsiorok pt. „Badania swobodnej i wspomaganej asocjacji peptydowych kawitandów za pomocą spektrometrii ruchliwości jonów”. W trakcie 6. Konferencji Polskiego Towarzystwa Spektrometrii Mas prowadziła seminarium dla uczestników warsztatów ze spektrometrii mas. W latach 2012 – 2021 opiekowała się studentami i stażystami z Uniwersytetu Warszawskiego, Politechniki Warszawskiej i Uniwersytetu Kardynała Stefana Wyszyńskiego, którzy w Instytucie Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk realizowali swoje staże i praktyki.

Ocena działalności organizacyjnej dr Magdaleny Mai Zimnickiej

Habilitantka od grudnia 2012 jest kierowniczką Zespołu 1a Instytutu Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk, w ramach którego prowadzi oraz koordynuje badania naukowe we własnej tematyce badawczej. Jest ponadto członkinią Rady Naukowej Instytutu Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk.

Habilitantka była członkinią komitetów organizacyjnych odpowiedzialnych za organizację dwóch konferencji: *24th Informal Meeting on Mass Spectrometry* oraz *33rd Informal Meeting on Mass Spectrometry*.

Aplikowanie o fundusze zewnętrzne na prowadzenie badań naukowych jest również niezmiernie ważnym elementem działalności organizacyjnej. Habilitantka była Kierowniczką grantu Iuventus Plus pt. „Badania właściwości i struktury układu tioamidowego w modelowych ditiopetoidach – potencjalnych jednostkach budulcowych w syntezie związków biologicznie czynnych” oraz grantu Sonata pt. „Badania właściwości niekowalencyjnych kompleksów ligandów receptorów melanokortinowych”.

Habilitantka zrecenzowała ponad 15 artykułów naukowych nadesłanych do czasopism z bazy JCR, co świadczy o Jej uznanych kompetencjach naukowych.

Wnioski końcowe

Na podstawie oceny całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego, ze szczególnym uwzględnieniem osiągnięcia naukowego pt.: „Od niepełnego do wyczerpującego opisu strukturalnego związków bioaktywnych za pomocą spektrometrii ruchliwości jonów sprzężonej ze spektrometrią mas” stwierdzam, że dr Magdalena Maja Zimnicka posiada osiągnięcie naukowe, które stanowi znaczny wkład do rozwoju dyscypliny naukowej nauki chemiczne. Habilitantka może pochwalić się cyklem powiązanych tematycznie artykułów naukowych, które zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach z bazy JCR. Dodatkowo Habilitantka wykazała się istotną aktywnością naukową w więcej niż jednej instytucji naukowej, na co w szczególności złożył się staż post-doktorski na Wydziale Chemii Uniwersytetu Waszyngtońskiego w USA. W związku z tym dr Magdalena Maja Zimnicka spełnia wszystkie wymagania stawiane w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce odnośnie nadania stopnia doktora habilitowanego.

Na podstawie oceny dokumentacji przedstawionej przez doktor Magdalenę Maję Zimnicką stwierdzam, że spełnione są wymogi formalne i zwyczajowe stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne. W związku z tym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk o przeprowadzenie dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.