



prof. dr hab. Michał Dadlez  
Zakład Biofizyki, IBB PAN  
Pawińskiego 5A  
02-106 Warszawa

Warszawa 30.11.2022

Ocena osiągnięcia naukowego pt. “Od niepełnego do wyczerpującego opisu strukturalnego związków bioaktywnych za pomocą spektrometrii ruchliwości jonów sprzężonej ze spektrometrią mas” i dorobku naukowego oraz działalności organizacyjnej i dydaktycznej p. dr Magdaleny Zimnickiej w związku z ubieganiem się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych w dyscyplinie biochemia.

### 1. Sylwetka kandydatki

Pani dr Magdalena Zimnicka ukończyła w roku 2004 studia magisterskie na kierunku chemia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Jej praca magisterska dotyczyła zastosowania spektrometrii mas do badań anionowych  $\sigma$ -adduktów amin do 1,3,5-trinitrobenzenu. Od początku swojej kariery naukowej spektrometria mas pozostaje jej głównym narzędziem badawczym. Studia doktoranckie odbyła w Instytucie Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie pod opieką prof. dr hab. Witolda Danikiewicza. Zaowocowały one pracą doktorską pt. „Badanie właściwości i reakcji anionowych  $\sigma$ -adduktów nitrozwiązków aromatycznych w fazie gazowej” i jej obroną w lutym w roku 2009.

Kandydatka w latach 2009-2013 pracowała w IChO na stanowisku asystenta, z przerwą w roku 2010 na roczny staż podoktorski na Wydziale Chemii w Uniwersytecie Waszyngtońskim, Seattle, USA, a od roku 2013 adiunkta. Przebieg kariery Kandydatki mieści się w typowej ścieżce z relatywnie niedługim stażem podoktorskim w prominentnym ośrodku w USA.

## 2. Ocena osiągnięcia naukowego.

W skład osiągnięcia naukowego zatytułowanego "Od niepełnego do wyczerpującego opisu strukturalnego związków bioaktywnych za pomocą spektrometrii ruchliwości jonów sprzężonej ze spektrometrią mas" włączono sześć prac z lat 2014-2021. Kandydatka jest w czterech z tych prac pierwszą (w tym w jednej jedyną) Autorką. Choć w żadnej nie jest ona wymieniona jako Autor ostatni, to we wszystkich jest wskazana jako Autorka korespondująca. Prace publikowane były w czasopismach o różnym IF, od 2 do 6,5, w tym dwie powyżej 4, w tym w *Analyst* i *Analytical Chemistry* oraz czasopismach specjalistycznych z pogranicza spektrometrii mas i analityki chemicznej. Kandydatka szczegółowo opisuje swój udział w powstaniu każdej publikacji, szacując swój wkład od 60 do 100%. Jest on bez wątpienia kluczowy, obejmujący wszystkie etapy, standardowo składające się na wykonanie projektu naukowego, od początkowej idei, pracy eksperymentalnej aż do zakończenia publikacyjnego. Współautorzy zgodnie poświadczają wiodącą rolę Kandydatki w tych publikacjach. Liczby cytowań tego zestawu prac w dokumentach nie podano. Badania IM-MS nie są jak na razie rozpowszechnione, interesują wąski krąg specjalistów. Nie można spodziewać się wysokiej liczby cytowań. Niemniej, ich potencjał jest duży, również aplikacyjny, znaczenie procedur Ion Mobility będzie nadszeregować za rewolucyjnym rozwojem zastosowań spektrometrii mas w biologii i medycynie, a prace Autorki z pewnością przyczynią się do ich upowszechnienia. Prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego były wykonywane w IChO z niewielkim udziałem współpracowników z innych instytucji polskich (IChF, IMDiK) oraz jednej instytucji zagranicznej (University of Jyväskylä, Finlandia).

Tematyka prac spójnie skupia się na badaniu możliwości jakie niesie sprzężenie spektrometrii mas ze spektrometrią ruchliwości jonów (z ang. Ion Mobility - Mass Spectrometry - IM-MS) wspartej obliczeniami teoretycznymi dla uzyskania informacji strukturalnej dla badanych związków, pozwalając uzyskać wyczerpującą ich charakterystykę w jednym eksperymencie. Prace Autorki obrazują jak rozwój i poprawa parametrów relatywnie nowej metody śledzenia separacji jonów w fazie gazowej w zależności od przekroju czynnego na zderzenia może przynieść ważne i trudne do uzyskania informacje strukturalne dla różnych klas związków bioaktywnych, często krytyczne dla ich biologicznej funkcji. Opanowanie technik pomiarów przekroju czynnego na zderzenia jednocześnie z pomiarami mas znacznie poszerza paletę dostępnych metod analizy struktury. Technika ta wyróżnia się na przykład zdolnością do uzyskania informacji osobno dla różnych form strukturalnych cząsteczek współistniejących w badanych próbkach. Wdrożenie metod IM-MS w komercyjnie dostępnych systemach pomiarowych spektrometrii mas to rzecz relatywnie niedawna, eksploracja ich wad i zalet dla

związków bioaktywnych to wciąż wyzwanie o charakterze pionierskim. Prace Autorki wpisują się w ten nurt i należy wyrazić nadzieję, że również dzięki tym pracom technika ta się rozpowszechni i znajdzie wiele pożytecznych zastosowań w analityce związków bioaktywnych. Dotyczy to zwłaszcza badań w złożonych mieszaninach biologicznych. Cechuje się ona bowiem nieporównanym poziomem specyficzności, uzyskanym poprzez dołączenie unikalnego parametru przekroju czynnego na zderzenia do procesu selekcji sygnału odpowiadającego pojedynczej formie strukturalnej związku. Autorka analizuje przebieg ewolucji rozwiązań technicznych IM, układając te interesujące informacje w formie tabeli. Przeprowadzone przez nią badania zaprezentowane w autoreferacie pokazują, że sprzężona technika IM-MS osiągnął stopień rozwoju pozwalający uzyskać unikalną charakterystykę strukturalną, cenną zwłaszcza w przypadku związków, których analiza strukturalna była trudna i niepełna, takich jak związki izomeryczne o trudnych do rozdzielenia własnościach współistniejących form.

Opis osiągnięcia podzielono na prace dotyczące problemów rozdziału związków izomerycznych (A1-A4), sposobów zwiększania rozdzielczości podziału IM (A1-A4) oraz modelowania struktur trójwymiarowych na podstawie porównania zmierzonych czasów dryftu i obliczonych na tej podstawie wartości przekroju czynnego z uzyskiwanymi w teorii (A1-A6). W pierwszej z prac Autorka rozwiązała problem braku selektywności w oznaczeniach dwóch wybranych epimerycznych flawonoidów: (+)-katechiny i (-)-epikatechiny. Poprzednie próby rozdzielania sygnału obu związków przy zastosowaniu metod klasycznych w tym klasycznego podejścia IM-MS nie zakończyły się powodzeniem. Autorka pokonała te trudności wykorzystując stereoselektywne oddziaływania flawonoidów z chiralnymi modyfikatorami i metalami przejściowymi, zmieniające wartość CCS kompleksu w różny sposób dla obu związków. Przetestowała szereg kombinacji ligandów uzyskując oczekiwaną separację sygnałów w przypadku dimeru badanego związku w kompleksie z hydrofobowym D-aminokwasem i jonem miedzi. Ze względu na szerokie spektrum działań leczniczych flawonoidów, przeciwzapalnych, przeciwutleniających, przeciwwysiękowych, rozkurczowych etc. precyzyjne metody analityczne mają istotne znaczenie praktyczne. Autorka nie podaje jednak jakie plany badawcze mogłyby zapewnić kontynuację podjętego wątku.

Idąc dalej tropem tego sukcesu Autorka zainteresowała się problemem rozdzielania izomerycznych form  $\beta$ -laktamów, intensywnie badanych niearomatycznych związków heterocyklicznych, interesujących na przykład ze względu na ich częste występowanie jako elementów struktur antybiotyków. Jako szczególnie interesujące Autorka wymienia zbadanie efektywności rozdziału w zależności od konfiguracji podstawników atomów węgla C5 i C6

badanych diastereomerów  $\beta$ -laktamowych, których konfiguracja odpowiada za aktywność biologiczną  $\beta$ -laktamów. Okazało się, że konfiguracja podstawników na atomach C5 i C6 odgrywa kluczową rolę również w skuteczności rozdzielania diastereoizomerów  $\beta$ -laktamowych. Autorka zbadała wpływ czynnika kationowego na różnicowanie diastereoizomerów  $\beta$ -laktamowych, spodziewając się, że obecność jonu metalu może powodować zmiany konformacyjne, ułatwiając ich separację pomimo podobieństwa strukturalnego. Zbadała też wpływ natury gazu buforowego i parametrów pola elektrycznego wędrującej fali (TWIM) w komorze ruchliwości jonów, jej prędkości i amplitudy.

Analiza literatury wskazała Autorce następny ważny obszar badawczy, w którym możliwość zastosowania odczynników przesunięcia IM jest obiecującą techniką dla rozdzielania sygnałów izomerów badanych związków. W trzeciej pracy obiektem badań stały się epimery tripeptydów zawierających reszty argininowe, wybrane z racji problemów w rozdzielaniu metodami klasycznej chromatografii cieczowej peptydów zawierających miejsca zasadowe. Autorka oceniała wpływ kompleksowania ich z kwasami organicznymi na separację IM, wykorzystując zjawisko stabilizacji oddziaływań elektrostatycznych w próżni. Kompleksowanie z kwasami pozwoliło na rozróżnienie wcześniej nierozróżnialnych lub słabo rozróżnialnych jonów epimerycznych peptydów. Wyznaczono też eksperymentalne wartości przekroju czynnego, które zostały skonfrontowane z wartościami teoretycznymi uzyskanymi dla struktur modelowych, co pozwoliło na strukturalne zinterpretowanie obserwowanych różnic w czasach dryftu i lepsze zrozumienie zachodzących w fazie gazowej przejść strukturalnych tych kompleksów niekowalencyjnych. Zastosowanie z kolei eterów koronowych jako odczynników przesunięcia IM pozwoliło zneutralizować stratę czułości pomiaru związaną ze stosowaniem trybu jonów ujemnych i uzyskać separację tri- i tetrapeptydów o różnym położeniu D-aminokwasu w sekwencji (praca czwarta), choć jak sama Autorka stwierdza to podejście znajdzie ograniczone zastosowanie, bo jego efekt sumaryczny jest słabszy od oczekiwanego.

Dalsze dwie prace dotyczą zastosowania metod obliczeniowych do przewidywania czasów dryftu badanych układów i wykorzystanie tych obliczeń do modelowania ich struktur przestrzennych. Dla niektórych układów dla których metody klasyczne zawodzą lub nie mogą być stosowane metoda IM-MS jest jedyną umożliwiającą dostarczenie specyficznej wiedzy strukturalnej. Przedmiotem jej badań stały się należące do tej klasy asocjatyw molekularnych kompleksy supramolekularne kwasu foliowego (FA) z cyklodekstrynami (CD –  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ ). Mają one istotne znaczenie ze względu na zdolność zwiększania rozpuszczalności kwasu foliowego. Badania Autorki, będące kombinacją analiz IM-MS, z autorskim sposobem kalibracji

wyznaczania eksperymentalnych wartości CCS, obliczeń termodynamicznych i półempirycznych procedur modelowania strukturalnego doprowadziły do zaproponowania dwu różnych sposobów niekowalencyjnego łączenia się FA i CD. Doświadczenie uzyskane w toku badań skłoniły Autorkę do ich podsumowania w formie pracy metodologicznej dotyczącej oceny przydatności IM-MS w badaniach strukturalnych kompleksów makrocyclicznych receptorów z anionowymi ligandami. Wskazała w nich między innymi, że również dla badanych kompleksów konformacja obserwowana w eksperymentach IM-MS w fazie gazowej zachowuje swój natywny charakter.

Autorka w swoich pracach nie tylko zastosowała technikę IM-MS do badań serii ważnych biologicznie związków, ale też wdrożyła szereg innowacji ulepszających tę metodykę. Zbudowała tym samym unikalne kompetencje łączące ekspertyzę w dziedzinie analiz mobilności jonów i spektrometrii mas z procedurami obliczeniowymi, wykazując wagę IM-MS jako ważnej metody komplementarnej w badaniach strukturalnych. Badania dr Zimnickiej mają też znaczenie praktyczne. Spektrometria mas staje się w coraz większym stopniu metodą z wyboru przy oznaczeniach ilościowych np. leków i ich metabolitów. Włączenie dodatkowej separacji IM do analiz ilościowych krytycznie poprawi specyficzność w najbardziej problematycznych sytuacjach trudnych do rozdzielenia związków, które mogą silnie różnić się też aktywnością biologiczną. Tym samym IM może pomóc w sytuacjach, gdy bardziej klasyczne podejścia pozwalają tylko na oznaczenie sumy stężeń formy aktywnej i nieaktywnej, a nie pozwalają na wydzielenie sygnału formy aktywnej.

### 3. Inne osiągnięcia naukowe kandydatki.

Autorka legitymuje się łącznie 20 publikacjami w recenzowanych czasopismach, poza sześcioma publikacjami wchodzącymi w skład rozprawy. Dokumenty wymieniają 17 prac z okresu po uzyskaniu doktoratu (w tym 4 prace wynikłe z rocznego stażu podoktorskiego w USA) oraz 3 prace opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora. Tematyka prac powstałych w toku stażu podoktorskiego oraz po nim jest różnorodna, jednak nieodmiennie dotyczy bądź różnych aspektów metodycznych spektrometrii mas bądź jej zastosowania w badaniach szerokiego spektrum związków. Prace Autorki były cytowane 310 razy, prowadząc do indeksu Hirscha 9. Kandydatka regularnie prezentuje wyniki swoich badań w formie posterów na znaczących konferencjach, wygłaszała wykłady plenarne i wykłady na zaproszenie. Kierowała dwoma zakończonymi grantami MNiSzW i NCN, obecnie kieruje projektem finansowanym z programu PLGrid. Uczestniczyła w kilku innych grantach, w tym w dwu z uczestnictwem grup spoza Polski (Prof. J. L. Sessler, Department of Chemistry, University of

Texas, Austin, USA, Prof. Antonello Filippi, Department of Chemistry and Technologies of Drug, Sapienza University of Rome, Rzym, Włochy). Brała udział w pracach komitetu organizacyjnego dwu konferencji krajowych. Recenzuje prace w czasopismach specjalistycznych: Molecules, J.Org. Chem., ACS Omega, Sci. Rep., Anal. Chem., APPA, Encyclopedia, J. Mass Spectrom., Int. J. Mass Spectrom., Rapid Commun. Mass Spectrom..

#### 4. Aktywność dydaktyczna i popularyzatorska.

Działalność dydaktyczna Kandydatki, pracującej w instytucie PAN, ogranicza się jednorazowego wygłoszenia serii wykładów (15h) w ramach Warszawskiej Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i Biomedycznych (zima 2021/2022), promotorstwa pomocniczego jednej pracy doktorskiej (2015), opieki nad jedną pracą magisterską i grupą stażystów/praktykantów. Miejsce zatrudnienia Kandydatki nie obliguje do szerszej działalności edukacyjnej, jednak opieka nad procesem kształcenia podyplomowego, zwłaszcza udział w prowadzeniu doktorantów, należą do zakresu dobrze pojętych obowiązków pracowników instytutów PAN. Kandydatka spełniła minimum zaangażowania, lecz od 2015 roku nie legitymuje się opieką nad doktorantami, albo o tym nie wspomina. Praca ze studentami po doktoracie buduje kapitał niezbędny do budowy własnego zespołu i efektywną pracę po habilitacji, która powinna być środkiem, a nie celem. Kandydatka była członkinią komitetów organizacyjnych dwu polskich konferencji, wygłosiła jeden wykład popularnonaukowy. Szersza działalność edukacyjna, popularyzatorska i organizacyjna nie są na liście priorytetów Kandydatki.

#### 5. Wniosek końcowy

W podsumowaniu, zdaniem recenzenta dorobek przedstawiony jako osiągnięcie naukowe p. dr Magdaleny Zimnickiej wypełnia wymagania stawiane w postępowaniach w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne. Recenzent wnioskuje zatem o nadanie p. dr Magdalenie Zimnickiej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.

prof. dr hab. Michał Dadlez