



Prof. dr hab. Grzegorz Schroeder

Poznań, 28. 02. 2017 r.

### RECENZJA

pracy doktorskiej pana mgr inż. Ziemowita Pokładka pt. „Synteza molekularnych przełączników azobenzenowych i związków fluorescencyjnych do zastosowania w biologii” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Piotra Młynarza prof. PWr.

Związki azowe to dobrze zdefiniowana grupa cząsteczek organicznych, w których podstawniki alkilowe lub aryłowe są połączone ze sobą poprzez ugrupowanie  $-N=N-$ . Związki zawierające grupę azową mogą występować w postaci dwóch izomerów Z (cis) i E (trans). Formy te mogą być przekształcane wzajemnie w siebie za pomocą światła o odpowiedniej długości fali, padającego na próbkę. Dodatkowo, forma *cis* posiada możliwość powrotu do termodynamicznie stabilniejszej formy *trans* poprzez proces termicznej relaksacji. Energia aktywacji dla tego procesu jest niska i wynosi od 20-30 kcal mol<sup>-1</sup>. Ze względu na charakterystyczne właściwości chemiczne, fizyczne i aktywność biologiczną, związki azowe znajdują szerokie zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym, spożywczym, farbiarsko-włókienniczym, w produkcji farb i lakierów oraz co warto podkreślić w chemii analitycznej i biochemii. Związki azowe stanowią największą i najbardziej rozpowszechnioną klasę barwników. Odwracalny proces izomeryzacji tego typu związków, przede wszystkim pod wpływem światła o różnej długości fali, można wykorzystać do budowy elementów pamięci optycznej, przełączników molekularnych czy też do konstrukcji sensorów. Przedłożona praca doktorska pana mgr inż. Ziemowita Pokładka pt. „Synteza molekularnych przełączników azobenzenowych i związków fluorescencyjnych do zastosowania w biologii” obejmuje swoim zakresem tematycznym zagadnienia intensywnie badane w wielu ośrodkach naukowych, przede wszystkim z powodu możliwości zastosowania związków azowych w praktyce.

---

ul. Umultowska 89b, 60-780 Poznań  
Tel. 604-817-938  
NIP 777 00 06 350, REGON 000001293  
[wchem@amu.edu.pl](mailto:wchem@amu.edu.pl)

Tematyka pracy doktorskiej wpisuje się w nurt badań nad nowym, innowacyjnym zastosowaniem związków azowych w badaniach biologicznych i biochemicznych. Praca doktorska została wykonana w Zakładzie Chemii Bioorganicznej, Wydziału Chemii Politechniki Wrocławskiej pod kierunkiem Promotora dr hab. Piotra Młynarza prof. PWr. Dysertacja doktorska została przygotowana w tradycyjnej formie, liczy 163 strony maszynopisu i jest podzielona na klasyczne rozdziały: Wstęp (33 strony maszynopisu), Cel pracy, Badania własne (63 strony maszynopisu), Podsumowanie, Dorobek naukowy, Część eksperymentalna (44 strony maszynopisu), Literatura. Rozdział ten zawiera 166 odnośników literaturowych do materiałów źródłowych.

We wstępie rozprawy doktorskiej, Doktorant przedstawił podstawowe informacje dotyczące trzech zagadnień:

- metod syntezy związków azowych obejmujących sprzężanie soli diazoniowych, reakcje Millsa, redukcyjne sprzężanie nitrozwiązków, oksydacyjne sprzężanie amin aromatycznych oraz reakcje sprzężania typu Buchwalda,
- zastosowanie związków azowych w biologii, obejmujących zagadnienia znakowania kwasów nukleinowych, białek oraz peptydów fotoprzełącznikami azowymi, oraz
- podstawy optyki nieliniowej obejmującej przede wszystkim zagadnienia dotyczące absorpcji dwufotonowej.

Ta część pracy pod względem poznawczym przygotowana jest bardzo zróżnicowanie. Zawiera podstawowe, ogólnie znane chemikom informacje o metodach syntez azobenzenów, co zdaniem recenzenta jest zbędne w tego typu zaawansowanych opracowaniach oraz bardzo dobrze opracowane badania dotyczące zastosowania związków azowych w biologii. Ta część pracy jest dobrze i przekonująco przedstawiona i ukazuje obszary badawcze, w których mogą być zastosowane nowo otrzymane przez Doktoranta związki azowe. Wstęp będący przeglądem literatury jest przygotowany w oparciu o publikacje przeglądowe i oryginalne obejmujące najważniejsze prace z tego zakresu, które ukazały się drukiem w okresie ostatnich dwóch dekad, ale również cytowane są prace z lat sześćdziesiątych i osiemdziesiątych poprzedniego wieku.

W trakcie realizacji pracy doktorskiej mgr. inż. Ziemowit Pokładek zaplanował otrzymanie kilku nowych układów fluorescencyjnych opartych o strukturę: fluorenu lub związki azowe.

Zaplanowane związki miały wykazywać nieliniowe właściwości spektralne, co miało zostać potwierdzone badaniami eksperymentalnymi w optyce nieliniowej oraz obliczeniami kwantowo-mechanicznymi.

W rozdziale trzecim pt. "Badania własne" Doktorant przedstawił szczegółowe metody syntezy: pochodnych fluorenu, pochodnych kwasu izocyjanurowego modyfikowanego azobenzenem, oraz syntezę związków azowych zawierających podstawniki poliaminowe.

Doktorant syntezy nowych zaplanowanych związków, o zdefiniowanej budowie, przeprowadził w oparciu o metodę retrosyntezy. W ramach retrosyntezy wyszukuje się w strukturze związków chemicznych potencjalnych syntonów, a następnie projektuje się "od tyłu" ciąg reakcji, mający doprowadzić do otrzymania zaplanowanego związku. Metoda ta w przypadku syntezy pochodnych fluorenu jak i kwasu izocyjanurowego okazała się skuteczna. Zaplanowane nowe pochodne otrzymano z zadawalającymi wydajnościami w wieloetapowych reakcjach. Budowę nowo otrzymanych związków potwierdzono klasycznymi metodami: spektroskopią UV-Vis, FTIR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR oraz spektrometrią mas.

W efekcie realizacji rozprawy doktorskiej mgr inż. Ziemowit Pokładek otrzymał 15 związków chemicznych dotychczas nieopisanych w literaturze specjalistycznej. Zdaniem Doktoranta związki oznaczone numerami **1-9** mogą być interesujące z powodu swojej budowy w optyce nieliniowej, podczas gdy związki oznaczone numerami **10-15**, powinny na podstawie literatury, wykazywać oddziaływanie z DNA oraz białkami osocza i mogą znaleźć zastosowanie w badaniach przemian biopolimerów w żywych organizmach. Otrzymane pochodne fluorenu i kwasu izocyjanurowego zostały, w związku z tym, przebadane metodami spektroskopowymi w celu wykazania zależności pomiędzy strukturą a właściwościami spektralnymi, w aspekcie zastosowania tych układów w optyce nieliniowej. Na podstawie badań ustalono, że cząsteczki te wykazywały dobre właściwości nieliniowe, pochodne alkinowe **4-6** posiadały wyższe wartości przekrojów czynnych na absorpcję dwufotonową w porównaniu z ich analogami **1-3**.

Wyniki badań eksperymentalnych zostały uzupełnione o obliczenia kwantowo-mechaniczne z zastosowaniem pakietu programu Gaussian 09. W większości przypadków stosując metody DFT i TDDFT uzyskano dobrą zgodność parametrów spektralnych wyznaczonych eksperymentalnie z parametrami obliczonymi metodami kwantowo-mechanicznymi.

Mgr Ziemowit Pokładek opracował nową metodę syntezy pochodnych kwasu izocyjanurowego sfunkcjonalizowanego trzema cząsteczkami azobenzenu. Otrzymane związki **7-8** charakteryzowały się wydajną i odwracalną fotoizomeryzacją. Wyznaczona energia aktywacji dla procesu powrotu termicznego formy *cis* → *trans* wynosiła dla związku **7-21** kcal/mol natomiast dla **8** 19 kcal/mol. W oparciu o obliczenia kwantowo-mechaniczne z użyciem metod DFT i TDDFT autor dysertacji wyjaśnił przyczynę braku sprzężenia pomiędzy grupami azowymi w otrzymanych cząsteczkach, co bezpośrednio miało wpływ na właściwości spektralne tych indywidualów chemicznych. Związki **7-9** z podstawnikiem w pozycji *para* wykazywały znacznie większe wartości przekroju czynnego na absorbcję dwufotonową niż związek zawierający atom wodoru w pozycji *para*. Na podstawie wyników eksperymentalnych ustalono że podstawnik NO<sub>2</sub> w pozycji *para* wpływał negatywnie na kinetykę procesu izomeryzacji oraz stabilność termiczną formy *cis*, jednocześnie zwiększając wartości przekroju czynnego na absorbcję dwufotonową.

W wyniku przeprowadzonych syntez poliaminowych pochodnych azobenzenu mgr Ziemowit Pokładek otrzymał 12 nowych pochodnych poliaminowych azobenzenów nieopisanych dotąd w literaturze. Związki te wykazywały zdolność oddziaływania z biopolimerami. Wyniki tych badań opublikowano w 3 pracach w bardzo dobrych czasopismach. Doktorant jest jednym ze współautorów tych prac. W dysertacji doktorskiej nie podano szczegółów tych badań.

Przedstawiona praca doktorska wskazuje, że cel pracy postawiony we wstępie rozprawy dotyczący opracowania metod syntezy, obliczeń kwantowo-mechanicznych oraz badań nieliniowych właściwości spektralnych nowo otrzymanych układów został zrealizowany. Niedosyt natomiast budzi fakt braku szerszej dyskusji nad zastosowaniem nowych związków fluorescencyjnych w biologii (zgodnie z tytułem rozprawy).

W trakcie analizy pracy doktorskiej nasuwają się następujące pytania, które pragnę przedyskutować z Autorem pracy w trakcie publicznej obrony:

1. jaki jest zakres i ekonomiczne uzasadnienie stosowania metody retrosyntezy w otrzymywaniu związków organicznych o niskich masach cząsteczkowych i niezłożonej strukturze?
2. jakie może być zastosowanie otrzymanych pochodnych florenu w biochemii?
3. jak należy interpretować stwierdzenie na stronie 104 w rozdziale „Podsumowanie”:

„Na podstawie analizy widm  $^1\text{H-NMR}$  w funkcji czasu oraz obliczeń TD-DFT zaproponowałem model równania pozwalający na przeliczanie składu mieszaniny z widm  $^1\text{H-NMR}$  na widma absorpcyjne UV-Vis i vice versa.”

Całość pracy pod względem edytorskim jest przygotowana bardzo starannie. Praca napisana jest w języku polskim, zawierającym fachowe chemiczne sformułowania. W tekście można zauważyć ogromną liczbę zwrotów i zdań znacznie odbiegających od poprawnego literackiego języka polskiego.

Przytoczę tutaj tylko kilka przykładów:

„W kolejnym etapie syntezy podjęto próbę syntezy pochodnej .... czy ....Bromowanie **1g** powinno być preferowane w pozycji *para* ze względu na sprzężenie centralnego atomu azotu cząsteczki z pierścieniami. ....

....syntezę przeprowadzono w warunkach dużego rozcieńczenia, niskiej temperatury oraz poprzez powolne wkraplanie roztwór NBS do mieszaniny reakcyjnej.....

.....Etap polegający na bromowaniu trifenyloaminy zaszedł z prawie identyczną wydajnością, jednakże po zdjęciu grupy ochronnej TMS zauważono na widmie NMR surowego związku 3 sygnały w rejonie protonów alkinowych....

....Dla pochodnych **1-3** można zauważyć obecność pasma o silnej absorpcji w zakresie 350-550 nm.....

... W wyniku prowadzonych badań opracowałem nową metodę syntezy pochodnych kwasu izocyjanurowego zawierające w swojej strukturze AB....

Na rysunkach 55 i 56 brak jednostek na wykresach absorpcji od długości fali dla badanych związków. W tabeli 1 przedstawiono maksima absorpcji dla otrzymanych związków razem z ich molowym współczynnikami absorpcji ( $\epsilon$ ). W tabeli brak wartości współczynnika absorpcji.

Umiejętność pisania prac naukowych przez pana mgr Ziemowita Pokładka zwłaszcza w języku polskim wymaga dalszego doskonalenia.

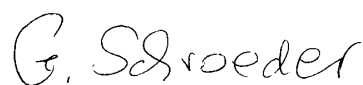
Natomiast na podkreślenie zasługuje fakt, że pan mgr inż. Ziemowit Pokładek jest współautorem czterech publikacji w bardzo dobrych czasopismach specjalistycznych (*Journal of Organometallic Chemistry*, *Scientific Reports*, *RSC Advances* oraz *Journal of Materials Chemistry*) o średnim współczynniku wpływu czasopisma  $\text{IF}=3,9$ . Publikacja w *Journal of*

*Organometallic Chemistry* zgodnie z danymi bazy Web of Science była już 9rotnie cytowana przez innych autorów.

Doktorant odbył pięć krótkoterminowych staży naukowych w Szkocji (1 raz) oraz we Francji (4 razy). Uczestniczył w realizacji pięciu projektów badawczych finansowanych przez MNiSW, NCN lub FNP a swoje wyniki badań przedstawił na 27 krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych.

Przedstawiona rozprawa doktorska oraz dorobek naukowy udowodniły, że mgr inż. Ziemowit Pokładek posiadał umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz interpretacji uzyskanych wyników. Postępowanie prowadzone jest w celu nadania Doktorantowi stopnia naukowego doktora nauk chemicznych, w dziedzinie chemia.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Ziemowita Pokładka pt. „Synteza molekularnych przełączników azobenzenowych i związków fluorescencyjnych do zastosowania w biologii” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Piotra Młynarza prof. PWr spełnia zwyczajowe i prawne wymogi stawiane pracom doktorskim zgodnie z przepisami ustawy z dnia 14 marca 2003 roku „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” (Dz. U. nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami) i wnioskuję do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. G. Schroeder