

dr hab., prof. UG
Sylwia Rodziewicz-Motowidło
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański

Gdańsk, 7.03.2017 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Ziemowita Pokładka

pt. *„Synteza molekularnych przełączników azobenzenowych i związków fluorescencyjnych do zastosowania w biologii”* wykonanej w Zakładzie Chemii Bioorganicznej na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej

(promotor: dr hab. Piotr Młynarz, prof. PWR)

Tematyka dysertacji dotyczy projektowania, syntezy chemicznej i badania właściwości spektralnych przełączników azobenzenowych i związków fluorescencyjnych. Przełączniki molekularne to cząsteczki, które można przełączać pomiędzy dwoma lub więcej stanami termodynamicznie stabilnymi pod wpływem różnych czynników. Badane przez mgr inż. Pokładka przełączniki należą do tzw. fotochromowych przełączników molekularnych. Związki te zmieniają swoją konfigurację elektronową pod wpływem absorpcji światła o ściśle określonej długości fali. Każdy stan takiej cząsteczki ma maksimum absorpcji, które można określić przy pomocy odpowiedniej metody spektroskopowej lub na podstawie obliczeń kwantowo-mechanicznych. Przełączniki cząsteczkowe znajdują się w polu dużego zainteresowania nanonauk. Świadczy o tym przyznana w 2016 roku nagroda Nobla z chemii, której laureatami zostali Jean Pierre-Sauvage, Sir J. Fraser Stoddart i Bernard R. Feringa. Naukowcy zostali nagrodzeni za stworzenie i syntezę maszyn molekularnych. Przełączniki molekularne pełnią również ważną rolę w biologii molekularnej i komórkowej. Przykładem jest np. regulacja allosteryczna oraz funkcjonowanie białek motorycznych. Przełączniki molekularne, będące dodatkowo znacznikami fluorescencyjnymi, posiadają niezwykle duży potencjał w badaniach procesów biologicznych z wykorzystaniem biomolekuł. Nie dziwi więc zainteresowanie Doktoranta tą niezwykle ciekawą tematyką badawczą. W swojej rozprawie doktorskiej podjął się zaprojektowania, syntezy chemicznej oraz charakterystyki spektralnej nowych przełączników molekularnych. Rozprawa doktorska została wykonana w grupie dr hab. Piotra Młynarza, prof. PWR na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Dr hab. Piotr Młynarz od wielu lat prowadzi badania z wykorzystaniem technik spektroskopowych do charakterystyki nowych związków.

Całość rozprawy obejmuje 161 strony maszynopisu i podzielona jest na 7 głównych rozdziałów (tj. wstęp, cel pracy, badania własne, podsumowanie, dorobek naukowy, część eksperymentalna, literatura). Rozdziały te poprzedza wykaz używanych skrótów. Na końcu znajduje się spis piśmiennictwa, który obejmuje 166 pozycji. W pracy umieszczono kilkadziesiąt tabel i rysunków/schematów, które znacznie ułatwiły zrozumienie przedstawionych wyników. Praca ma układ typowy, nie mniej jednak uważam, że lepiej byłoby aby dorobek naukowy Doktoranta znalazł się na końcu rozprawy, gdyż w istocie nie jest on częścią dysertacji. Dla ułatwienia czytania pracy również znacznie wygodniej byłoby umieszczenie części eksperymentalnej pracy przed opisem badań własnych.

Doktorant, na początku swojej pracy wprowadził czytelnika w tematykę przełączników molekularnych ze szczególnym uwzględnieniem aromatycznych związków azowych. Opisał budowę tych związków, metody ich syntezy chemicznej oraz ich zastosowanie w biologii molekularnej i komórkowej. W części literaturowej znajduje się również opis zjawiska optyczne niespełniające zasady superpozycji fal (tzw. optyka nieliniowa). Ta część pracy wzbogacona została kolorowymi rysunkami i schematami co w znaczny sposób ułatwiło lekturę. Na uwagę zasługuje w mojej opinii fragment dotyczący zastosowań azobenzenów *in vivo*. Myślę nawet, że większość z nich nie została jeszcze poznana a osoby podejmujące tą tematykę mają szerokie pole do popisu.

W kolejnej części pracy mgr inż. Pokładek przedstawił bardzo zwięźle cele swojego doktoratu, do których należało:

- (1) Zaprojektowanie nowych przełączników molekularnych, opartych na strukturze cząsteczki fluorenu, strukturze cząsteczki kwasu izocyjanurowego oraz na strukturze poliaminowych pochodnych związków azowych,
- (2) Synteza chemiczna zaprojektowanych związków,
- (3) Badania i analiza właściwości fizyko-chemicznych (optyczne, spektroskopowe oraz kinetyczne) dla zsyntetyzowanych związków.

Kolejny rozdział pracy, zatytułowany „Badania własne”, został przez Doktoranta podzielony na trzy zasadnicze części tj.: (1) 3.1. Pochodne fluorenu do zastosowania w optyce nieliniowej, (2) 3.2. Synteza pochodnych kwasu izocyjanurowego, modyfikowanego fragmentami azobenzenami (choć gramatycznie wg mnie lepiej byłoby napisać „fragmentami azobenzenowymi” oraz (3) 3.3. Poliaminowe pochodne związków azowych. Podział ten jest zgodny z klasą syntezowanych i badanych przez Doktoranta związków.

W podrozdziale 3.1. Doktorant na początku zaproponował struktury związków docelowych o potencjalnych właściwościach nieliniowych. Następnie dokonał analizy retrosyntetycznej docelowych związków. W tej części pracy Doktorant zastosował właściwe procedury. Drobne wątpliwości budzi zastosowanie zbyt ogólnej nazwy (str. 43) dla „podstawionej acetylenem trifeniloaminy”. Jak, zgodnie z nomenklaturą systematyczną powinna brzmieć nazwa tego związku? W dalszej części tego podrozdziału Doktorant opisał syntezę związków **4-6**, które otrzymał z różną wydajnością a następnie scharakteryzował je. W tej części pewne zastrzeżenia budzi sposób obliczenia protonów dla N,N-di-(4-etynylofenylo)-aniliny (str. 48). Biorąc pod uwagę budowę cząsteczki, stosunek protonów powinien wynosić 6,5:1 a nie jak napisał Doktorant 6:1. W reakcji syntezy związku **3a** uzyskano bardzo niską wydajność. Dlaczego nie zastosowano ligandów dla Cu o których Doktorant sam napisał na str. 52? Zastanawiające jest również, dlaczego w reakcji otrzymywania (str. 53) z substratu **5** produktów **2'** i **2**, mgr inż. Pokładek uzyskał łączną wydajność 80%, zamiast 100%. Czy to oznacza, że 20% substratu nie przereagowało w reakcji? Dla uzyskanych związków **1-3** w kolejnej części Doktorant przeprowadził badania właściwości optycznych i spektroskopowych. Badania zostały przeprowadzone prawidłowo a uzyskane wyniki przeanalizowane właściwie. Zastanawiająca jest jedynie niska wartość molowego współczynnika absorpcji dla badanych związków (tabela 1). W wyniku realizacji tej części pracy mgr inż. Pokładek otrzymał i scharakteryzował dziesięć związków, z których trzy były związkami zupełnie nowymi, nie opisanymi wcześniej w literaturze. Mogą one znaleźć zastosowanie jako sondy molekularne.

W podrozdziale 3.2. Doktorant powielił układ rozdziału 3.1. i podobnie na początku opisał retrosyntezę związków **7-9**. Tutaj nasuwa się pytanie czy do otrzymania izocyjanianu (rysunek 70) najwygodniejszym substratem jest kwas karboksylowy? Dalej Doktorant opisał syntezy trzech nowozaprojektowanych związków **7-9**. Wydaje się, że niektóre z przeprowadzonych syntez chemicznych były bardzo skomplikowane a podobny wynik można by uzyskać

prostszy sposób jak na przykład reakcja otrzymywania azydu acylu (rysunek 71). Zresztą, w przedstawionym mechanizmie tej reakcji Doktorant nie zastosował zasady zachowania ładunku. Zastanawiające jest także czy w reakcji otrzymywania związku **7** (rysunek 75) zachowane były bezwodne warunki reakcji? Na podstawie wyizolowanych produktów wnioskuję, iż w środowisku reakcji była woda. Po części syntetycznej Doktorant dla uzyskanych związków przeprowadził badania fotoizomeryzacji, również w różnych temperaturach, monitorując ją za pomocą techniki UV-Vis i NMR. Wyniki eksperymentalne, uzyskane z widm UV-Vis porównał następnie z widmami obliczonymi teoretycznie, uzyskując dużą zgodność. Mgr inż. Pokładek wykazał, że badane związki charakteryzowały się wydajną i odwracalną fotoizomeryzacją oraz, że podstawnik NO₂ w pozycji para azobenzenu wpływa negatywnie na kinetykę procesu izomeryzacji i stabilność termiczną formy *cis*. Doktorant przebadął również właściwości nieliniowe otrzymanych związków. Ta część badań zaowocowała wnioskiem, iż brak jest możliwości selektywnego sterowania procesem absorpcji dwufotonowej poprzez zastosowanie związków azowych jako łączników w układach sprzężonych.

W trzecim podrozdziale 3.3. Doktorant opisał sposób syntezy chemicznej poliaminowych pochodnych związków azowych **10-15**. Następnie przeprowadził badania izomeryzacji oraz badania mechanizmu fluorescencji dla związku nr **10**. Doktorant zaproponował dla cząsteczki **10** prawdopodobny mechanizm fluorescencji oraz odpowiedzialną za fluorescencję geometrię stanu wzbudzonego. Pewien niedosyt budzi brak informacji na temat wyników badań biologicznych przeprowadzonych dla związków **10-15**, o których Doktorant jedynie wspomina na str. 96. W dalszej części podrozdziału Doktorant opisał syntezy związków **13-25**. W tej części pracy nie uniknął pomyłek w zakresie nazewnictwa systematycznego np. β-Boc-alanina powinno być Boc-β-alanina lub 4-nitrozoanilina powinno być 4-nitro-nitrozobenzen.

W kolejnym rozdziale zatytułowanym „Podsumowanie” Doktorant przedstawił najważniejsze wnioski swojej pracy doktorskiej. Do najważniejszych osiągnięć pracy stanowiących jednocześnie element nowości naukowej zaliczam **zaprojektowanie, syntezę i charakterystykę fizyko-chemiczną nowych związków o pożądanych właściwościach nieliniowych lub fluorescencyjnych**. Na szczególną uwagę zasługuje fakt przeprowadzenia przez Doktoranta wielu skomplikowanych i wieloetapowych syntez.

W rozdziale szóstym pt. „Część eksperymentalna” Doktorant wymienił aparaturę z której korzystał oraz opisał szczegółowo warunki syntezy wszystkich otrzymanych związków. Opisy są wyczerpujące, aczkolwiek w tej części pracy zabrakło informacji na temat temperatury topnienia produktów, które przecież zostały uzyskane w formie stałej. Brakuje również parametrów zastosowanych podczas oczyszczania oraz sposobu analizy czystości wybranych związków. W tej części pracy czasami „reakcje” a nie mieszaniny „były schładzane” a kolory osadów zmieniały kolory w zależności od miejsca opisu związku (tekst lub ramka).

Uważam, że tematyka pracy jest bardzo interesująca, część doświadczalna pracy doktorskiej została dobrze zaplanowana a wyniki zostały zinterpretowane poprawnie. Za najcenniejszą wartość tej pracy uważam uzyskanie zaprojektowanych związków. Za największą wadę przedstawionej do oceny pracy zaliczam liczne błędy stylistyczne, językowe i edytorskie. Błędów tych jest dużo, dlatego wymienię jedynie kilka z nich: (1) „Rysunek 27 Sposoby przesuniętych ku czerwieni przejścia $\pi \rightarrow \pi^*$ w azobenzenu poprzez zwiększenie delokalizacji układu” lub „Pod względem ilość aktywnych elektronów bądź masy molowej związku niesymetryczna pochodna 3 była najbardziej aktywna spośród związków 1-3”; (2) „...ciężko było określić formę w jakiej znajdowała się atom jodu”. Może dlatego, że płeć się nie zgadzała?; (3) „acetylem” zamiast acetylen. Czasami zamiana jednej litery zupełnie zmienia sens i skład związku np. „woda” i „wódka”; (4) „acelor” zamiast aceton. Czy acelor miał zrelaksować przebieg reakcji? Bo

przecież aceton to lek używany do obniżenia ciśnienia krwi; (4) niektóre wykresy pozbawione są opisu osi lub skali osi itd. itp. W trosce o przyszłe losy Doktoranta proponuję, aby rozważył on w przyszłości większą dbałość o język polski.

Przytoczone uwagi krytyczne oraz kwestie dyskusyjne nie mają istotnego charakteru i nie podważają w żadnej mierze wartości rozprawy i mojej pozytywnej jej oceny. Reasumując, uważam, że cele pracy zostały w pełni zrealizowane. Rozprawa mgr inż. Ziemowita Pokładka zawiera bogaty, solidny i wartościowy materiał doświadczalny. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż uzyskane wyniki badań zostały opublikowane w czasopiśmie o wysokiej randze naukowej (4 artykuły).

Biorąc pod uwagę powyższe fakty stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa spełnia ustawowe i zwyczajowe kryteria stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym z późn. zm. W tym odniesieniu wnoszę do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie mgr inż. Ziemowita Pokładka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,

