



UNIWERSYTET GDAŃSKI

dr hab.

JANUSZ MADAJ

profesor nadzwyczajny UG



Gdańsk, 28.08.2019r.

### **Recenzja pracy doktorskiej mgra inż. Dariusza Toczka**

#### **pt.: Analiza oddziaływań cukrów i ich pochodnych z jonami wapnia**

Przedstawiona mi do recenzji praca Pana mgra inż. Dariusza Toczka pt.: *Analiza oddziaływań cukrów i ich pochodnych z jonami wapnia*, została zrealizowana w Zakładzie Technologii Organicznej i Farmaceutycznej pod kierunkiem Profesora dra hab. inż. Romana Gancarza.

Pierwsza myśl, która nasunęła mi się po lekturze pracy była taka, że być może tytuł pracy powinien bardziej jednoznacznie wskazywać, na rodzaj analizy (metody obliczeniowe), która została użyta przez Doktoranta w swojej dysertacji.

Fakt tworzenia się kompleksów związków cukrowych z jonami metali jest w literaturze znany od dawna i dosyć bogato opisany. Kluczowym dla tworzenia się takich układów w formach cyklicznych cukrów jest obecność trzech sąsiadujących grup hydroksylowych o sekwencji aksjalo-ekwatorialno-aksjalnej. Stąd brak takiego układu np. w D-glukopiranozie sprawia, że posiada ona stosunkowo słabe własności kompleksujące. Tworzenie się tego typu kompleksów zaobserwowano również w przypadku łańcuchowych pochodnych cukrów (alditoli), a w szczególności w przypadku kwasowych pochodnych takich jak kwasy aldonowe. W przypadku tych ostatnich sprzyja temu środowisko zasadowe.

Rozmiar wnęki utworzonej przez odpowiednio zorientowane trzy grupy hydroksylowe cukru sprawia, że idealnie wpasowują się w nią jony metali o promieniu około 1 Å, stąd dosyć trwałe, na tle innych tego typu połączeń, są kompleksy wapnia [ $r(\text{Ca}^{2+}) = 0.99 \text{ \AA}$ ]. W literaturze znane są opisy kompleksów wapnia z cukrami, które zostały zbadane metodami spektroskopowymi (NMR) lub elektrochemicznymi. Stosunkowo niewiele jest za to prac

przetwarzających wyniki obliczeń (właściwie ograniczają się do metody DFT) dotyczących tego typu układów. Można tu wymieść prace autora doktoratu z 2013 roku (Dariusz Toczek, Karolina Kubas, Michał Turek, Szczepan Roszak, Roman Gancarz, *J. Mol. Model.* (2013) 19:4209–4214 DOI 10.1007/s00894-013-1841-9) czy o rok późniejszą pracę dotyczącą kompleksów Cu(II), Zn(II), Sn(II) z cukrami w roztworach wodnych (Faiza Boukli-Hacene, Meriem Merad, Said Ghalem, Wassila Soufi, *J. Chem. Chem. Eng.* 8 (2014) 1009-1017 DOI: 10.17265/1934-7375/2014.11.001). W nurcie takich prac lokuje się przedstawiona mi do recenzji praca Pana mgr inż. Dariusza Toczka.

Biorąc pod uwagę rozmiar pracy należy ją zdecydowanie uznać za bardzo obszerną. Opisana została na ponad 240 stronach, przy czym należy jeszcze zauważyć, że czcionka, której użyto do druku była mniejsza niż 12 pkt. Układ dysertacji jest dosyć typowy i zawiera następujące rozdziały: Wprowadzenie, Cel Pracy, Badania własne, Podsumowanie i Wnioski. Obok tego znajdują się w niej spisy rysunków, wykresów i tabel oraz bibliografia zawierająca 140 pozycji.

Rozdział wprowadzenie jak zwykle ma umożliwić zapoznanie się czytelnika z tym co można na temat badań znaleźć w literaturze oraz ułatwić poruszanie się w opisanych wynikach. Już w tym rozdziale znajduje się uzasadnienie podjętych badań, choć jest ono dosyć wyjątkowe i przyznam się, że wywołało na mojej twarzy uśmiech „*W związku z powyższym została wytworzona potrzeba pracy*”. Na wstępie omówienia tej części chciałbym stwierdzić, że jestem zdecydowanym zwolennikiem stosowania określenia „pochodne cukrów”, a nie „pochodne cukrowe”. Po krótkiej wzmiance o własnościach wapnia autor przechodzi do opisu cukrów. Muszę przyznać, że być może dlatego, że cukrami zajmuję się na co dzień, budzi on moje mieszane uczucia. Sądzę, że bez większej szkody dla pracy można było zrezygnować z rysunków 1 i 2 przedstawiających struktury cukrów tworzących szereg D-aldoz i –ketoz. Można je znaleźć w większości podręczników do chemii organicznej i na poziomie pracy doktorskiej można z nich zrezygnować. Nie bardzo wiem (brak cytowanego źródła) skąd autor zaczerpnął definicję anomeru  $\alpha$  zamieszczoną na stronie 14. Zgodnie z definicją znajdującą się w nomenklaturze cukrów IUPAC (*Carbohydr. Res.*, 1997, 297, 1-90) mówiąc o anomarach można rozpatrywać wzajemne położenie grupy hydroksylowej przy anomerycznym atomie węgla oraz przy asymetrycznym atomie węgla o najwyższym numerze znajdującym się w pierścieniu cukrowym, jednak pod warunkiem, że mowa jest o wzorze cukru prostego w projekcji Fischera [*the anomeric reference atom is the highest-numbered atom of the group of chiral centres next to the anomeric centre that is*



*involved in the heterocyclic ring and specified by a single configurational prefix. In the  $\alpha$  anomer, the exocyclic oxygen atom at the anomeric centre is formally cis, in the Fischer projection, to the oxygen attached to the anomeric reference atom; in the  $\beta$  anomer these oxygen atoms are formally trans].* Bez tego uściślenia definicja staje się niejasna. Jest to definicja, którą należy jednak uznać za historyczną, a ponieważ już od dawna nie rysuje się cyklicznych cukrów prostych w projekcji Fischera powszechnie obecnie określa się anomery (zarówno w szeregu D jak i L) w oparciu o wzajemne ułożenie grupy hydroksylowej przy asymetrycznym atomie węgla oraz terminalnej grupy hydroksymetylowej (anomer  $\alpha$  układ *trans*, anomer  $\beta$  układ *cis*).

Za niefortunne uważam określenie z tej samej strony „otwarto-łańcuchowy”, ponieważ sformułowanie łańcuchowy samo w sobie jednoznacznie określa budowę związku. Ponadto na tej samej stronie pojawia się określenie mutarotacji jako procesu polegającego na ustaleniu się równowagi pomiędzy anomerami w roztworze. Taki proces jednak tak naprawdę nazywa się anomeryzacją. Mutarotacją nazywamy zjawisko fizyczne polegające na zmianie skręcalności optycznej roztworu cukru w wyniku procesu anomeryzacji, która jest reakcją chemiczną (*mutarotation The change in optical rotation accompanying epimerization. In sugar chemistry this term usually refers to epimerization at the hemiacetal carbon atom. IUPAC Compendium of Chemical Terminology, strona 976*). W tym miejscu nasuwa się sugestia dla doktoranta aby przywołując różnego rodzaju definicje chętniej sięgał bo teksty źródłowe, wśród których ta ostatnia pozycja zasługuje na szczególną uwagę.

Nie bardzo wiem skąd autor wyciąga wniosek, że „cukry w formie pierścieniowej są najczęściej rysowane w projekcji Hawortha” (strona 14). Tym bardziej, że w swojej pracy sam najczęściej przedstawia je w konformacji krzesłowej, co z resztą jest zgodne ze współczesnymi trendami. W rozdziale tym autor nie ustrzegł się jeszcze innych drobnych potknięć jednak na jedno chciałbym zwrócić uwagę, tym bardziej że pojawia się ono w tytule podrozdziału 2.3.1. Znajdujemy w nim określenia „glikozaminy i związki C-glikozydowe”. I tu znowu przywołując wcześniej wspomnianą już nomenklaturę związków cukrowych należałoby mówić o „glikozyloaminach i związkach C-glikozylowych” (glycosylamines, C-Glycosyl compounds, 2-Carb-33). Duże zdziwienie wzbudził u mnie podrozdział 2.3.2 zatytułowany „Inne”. Jest tak skrótowy i lakoniczny, że nie bardzo wiem co autor chciał osiągnąć zamieszczając go w pracy.

Druga część wstępu zawiera m.in. informacje dotyczące zawartych w literaturze badań opisujących kompleksy pochodnych cukrów z jonami metali. Opis jest dosyć zwięzły ale

pozwala sobie wyrobić opinie na temat opublikowanych wcześniej wyników badań z tej dziedziny. Również i tu nie udało się autorowi ustrzec pewnych nieścisłości. Na stronie 19 znajdujemy informację o rozmiarach jonu wapnia 99 Å. Domyślam się, że jest to błąd wynikający z niewłaściwego przesunięcia przecinka (mogło chodzić raczej o 0,99 Å). Nie wiem też co doktorant miał na myśli pisząc na stronie 23 „*W przypadku rybozy zaobserwowano, iż jony wapnia są koordynowane przez wszystkie pięć atomów tlenu wchodzących w skład pierścienia furanozowego*”?

Cel pracy sformułowany przez doktoranta jest dla mnie nie do końca jasny. Czy rzeczywiście chodziło o stworzenie modelu liganda czy raczej o odzwierciedlenie metodami obliczeniowymi oddziaływań pomiędzy określonymi strukturami różnego rodzaju pochodnych cukrów z jonem wapnia?

Zdecydowanie najbardziej obszerną częścią pracy stanowi opis wyników badań własnych. Rozpoczyna ją wyjaśnienie dotyczące wybranego modelu obliczeniowego. Graficznie został on przedstawiony na rysunkach 22-25 (a nie 20-23 jak chyba błędnie to napisane zostało na stronie 35). Widać, że doktorant zdaje sobie sprawę z ograniczeń metod i różnych modeli. Obliczenia w fazie gazowej mimo, że najprostsze i najmniej czasochłonne, są jednak obarczone poważnym uproszczeniem, w którym cząsteczki traktowane są jako indywidua bez oddziaływania z rozpuszczalnikiem, w którym najczęściej przebiega reakcja. Również uwzględnienie w modelu niektórych cech rozpuszczalnika (jak np. przenikalności elektrycznej) jest tylko w niewielkim stopniu poprawieniem modelu z fazy gazowej. Użycie w obliczeniach realnych molekuł rozpuszczalnika i uwzględnienie ich oddziaływań z badanymi cząsteczkami wydaje się być najlepszym rozwiązaniem. Jednak taki model może się charakteryzować parametrami (zbyt duży układ wymagający zastosowania superkomputerów i długiego czasu obliczeniowego) sprawiającymi, że staje się mało realny. Trzeba więc znaleźć „złoty środek” i wypośrodkować analizowany układ tworząc taki model, który z jednej strony uwzględni środowisko reakcji, a z drugiej pozwoli na przeprowadzenie szeregu obliczeń pozwalających na wyciągnięcie sensownych wniosków. Wydaje się, że Doktorantowi udało się znaleźć właściwe podejście. Wybrał On model z tzw. pierwszą strefą solwatacyjną jonu wapnia, a obliczenia prowadził metodą DFT, wcześniej już wykorzystywaną w tego typu obliczeniach. Część struktur ligandów Autor uzyskał w wyniku analizy konformacyjnej, a część m.in. z bazy danych krystalograficznych. To bardzo częste podejście, pozwalające na oszczędzenie czasu obliczeniowego, choć trzeba sobie zdawać



sprawę, że struktury z kryształu (choćby z powodu na gęstość upakowania) nie muszą odpowiadać tym z roztworu.

Zanim przejdę do omówienia zaprezentowanych wyników muszę sobie pozwolić na uwagę ogólną. Otóż jestem zdecydowanym zwolennikiem opisywania prezentowanych w doktoracie wyników własnych w pierwszej osobie liczby pojedynczej. Podkreśla to, że to właśnie Doktorant jest autorem uzyskanych wyników.

Jako pierwsze analizie poddane zostały cukry proste takie jak: D-glukopiranoza, D-galaktopiranoza, D-allopiranoza i D-talopiranoza. Wybór tych właśnie cukrów nie był przypadkowy i został dobrze uzasadniony przez autora. Złożoność przedstawionych wyników sprawia niemałe trudności podczas ich lektury ale na plus należy autorowi zaliczyć częściowe podsumowanie zamieszczone po każdej z analizowanych grup związków. Jak podkreśla Autor w przypadku tych czterech cukrów prostych uzyskane przez Niego wyniki dobrze korelowały z danymi literaturowymi. Najlepszymi ligandami, ze względu na położenie grup hydroksylowych w pierścieniu cukrowym, okazały się D-allopiranoza i D-talopiranoza. Potwierdziły się również słabe własności kompleksujące D-glukopiranozy.

Ponieważ, cukry proste w zdecydowanej przewadze (skład mieszaniny równowagowej zależy od konfiguracji cukru) występują w cyklicznej formie hemiacetalowej Doktorant jako modele obojętnych elektrycznie cząsteczek pochodnych cukrów wybrał dwa alditole (produkty redukcji cukrów prostych): mannitol i sorbitol (glukitol). Czytając opis uzyskanych wyników przedstawiony przez doktoranta wniosek uzasadniający silniejsze kompleksowanie badanych alditoli, w porównaniu z cukrami prostymi, wynikający z ich większej zdolności do dopasowywania się struktur (w wyniku swobodnego obrotu wokół wiązań pojedynczych) należy uznać za logiczny i uzasadniony. Nie do końca zgadzam się z określeniem używanym przez Autora (m.in. strona 100) wskazującym na większą swobodę konformacyjną alditoli w stosunku do cukrów prostych jako ich większą elastyczność.

Kolejną grupę analizowanych związków stanowiły kwasy cukrowe, a dokładnie trzej ich przedstawiciele: kwas D-glukopiranouronowy, D-galaktopiranouronowy oraz kwas D-glukonowy. Za takim doбором związków modelowych miało przemawiać to, że dwa pierwsze mogą występować w cyklicznej formie hemiacetalowej, natomiast ostatni z nich, ponieważ posiada grupę karboksylową przy pierwszym atomie węgla (powstała w wyniku utlenienia grupy karbonylowej), występuje w formie łańcuchowej. Jest to oczywiście duże uproszczenie bo powszechnie wiadomo, że kwasy cukrowe często występują w postaci laktonów. Z literatury wiadomo, że szczególnie w przypadku kwasów cukrowych istotną rolę

w zdolnościach do kompleksowania jonów metali odgrywa pH roztworu wodnego. W obliczeniach trudno oddać zmiany pH jednak doktorant uwzględnił to w pewnym sensie badając formę zdysocjowaną jak i niezdysocjowaną badanych kwasów. Pojawiająca się w podsumowaniu uzyskanych wyników konstatacja, że „ujemnie naładowana cząsteczka anionu pozwala na silniejsze oddziaływania elektrostatyczne z dodatnio naładowanym kationem wapnia” jest oczywiście zgodna z wynikami prac laboratoryjnych i raczej nie mogło być inaczej.

Ostatnią grupę związków przeanalizowanych przez doktoranta stanowią tzw. „inne pochodne cukrowe”, a wśród nich D-glukozamina, sulfomannitol i pochodne fosfonowe. Dobór tych pochodnych wydaje się być mniej jednoznaczny niż we wcześniej wybranych związkach modelowych, choć oczywiście to, że zawierają one atom azotu, siarki lub fosforu jest jakimś wytłumaczeniem. Uzyskane w tym przypadku wyniki, z powodu braku danych literaturowych, trudno porównać z wynikami doświadczalnymi. Jednak biorąc pod uwagę zgodność wyników w przypadku wybranego modelu obliczeniowego i wcześniejszych pochodnych można z dużym prawdopodobieństwem uznać je za poprawne.

Pracę kończą rozdziały Podsumowanie i Wnioski. Przyznam się, że w przypadku pracy o takich rozmiarach i tak dużej liczbie danych stanowią one niezwykle duże ułatwienie, za co z pewnością wdzięczni będą przyszli czytelnicy tej pracy.

Podsumowując recenzję i nie starając się dorównać jej objętością autorowi ocenianej pracy pragnę stwierdzić, że mimo iż jej autorowi nie udało się całkowicie uniknąć drobnych błędów i potknięć, to widać, że przeszła ona staranną korektę. Duże ułatwienie w analizowaniu opisywanych wyników stanowią załączone graficzne struktury analizowanych związków, a czytelność tabel zwiększają załączone wykresy. Uzyskane przez doktoranta wyniki na pewno posiadają charakter nowości naukowej i mogą mieć nadzieję, że wkrótce zostanie to potwierdzone publikacjami w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

Biorąc to wszystko pod uwagę, mogę z przekonaniem stwierdzić, że przedstawiona mi do oceny rozprawa spełnia wszystkie warunki stawiane pracom doktorskim w art.13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595), z późniejszymi zmianami. Zatem wnoszę do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie mgra inż. Dariusza Toczka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

