



**Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr. Tomasza Mądrego
„Indukcja aktywności optycznej w di- i triarylowych stereodynamicznych
sondach chromoforowych”**

Wydział Chemii

Techniki chiralooptyczne są coraz częściej stosowanymi metodami badawczymi m. in. w analizie czystości optycznej i struktury molekularnej leków, sposobu wiązania terapeutyków z białkami, a także w badaniach farmakokinetycznych i farmakodynamicznych. Podkreślić należy, iż metody chiralooptyczne, w tym elektronowy dichroizm kołowy (ECD), są jedynymi technikami umożliwiającymi określenie bezpośrednio w roztworach nadmiaru enancjomerycznego i konfiguracji absolutnej, w tym ostatnim przypadku w połączeniu ze, zwykle dość rutynowymi, obliczeniami kwantowo-chemicznymi. Jednak dla wielu układów analiza konfiguracji absolutnej i nadmiaru enancjomerycznego metodą ECD nie jest możliwa, ze względu na nieobecność chromoforu w badanej cząsteczce, lub jej mało intensywny sygnał chiralny. Jedną z metod rozwiązania tego problemu jest zastosowanie stereodynamicznych sond (reporterów) chromoforowych, które wykorzystując indukcję chiralności w układzie sonda-induktor, umożliwiają, w sposób pośredni, uzyskanie sygnału chiralnego induktora. Sondy tego typu są szczególnie istotne w kontekście rozwoju wysokoprzepustowych badań przesiewowych (HTS, ang. *high throughput screening*). Stąd zagadnienie projektowania i syntezy sond stereodynamicznych, czułych na induktory o niewielkiej własnej aktywności optycznej, podjęte przez doktoranta w przedłożonej do oceny rozprawie, uważam za niezwykle istotne, nie tylko w aspekcie czysto poznawczym, ale także aplikacyjnym. Podjęta tematyka badawcza dobrze wpisuje się w aktualne koncepcje badawcze i nurt badań, prowadzonych na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu w Zakładzie Stereochemii Organicznej, kierowanym przez Pana Prof. dr. hab. Marcina Kwita, promotora recenzowanej rozprawy. Prof. dr hab. Marcin Kwit od wielu lat z dużym powodzeniem prowadzi badania w zakresie stereochemii dynamicznej, w tym rozwijając molekularne sondy chiralności.

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



Ogólna charakterystyka pracy

W przedstawionej do recenzji pracy Autor podjął się zaprojektowania i syntezy stereodynamicznych reporterów chromoforowych opartych o struktury difenylometanu, di(1-naftylo)metanu i aldehydu tereftalowego, a następnie wykazania ich efektywności wobec wybranych induktorów, także o niewielkim zróżnicowaniu strukturalnym wokół centrum stereogenicznego. Ponadto Doktorant przeprowadził analizę mechanizmów leżących u podłoża indukcji chiralności w analizowanych układach reporter-induktor. Wiodącymi technikami badawczymi, zastosowanymi do analizy otrzymanych układów, był elektronowy dichroizm kołowy, którego wyniki zostały zinterpretowane z użyciem obliczeń kwantowo chemicznych *in vacuo* oraz uwzględniając wpływ rozpuszczalnika *implicite*, odpowiednio dla pomiarów przeprowadzanych w rozpuszczalnikach niepolarnych i bardziej polarnych. Ponadto doktorant pomocniczo posługiwał się także magnetycznym rezonansem jądrowym (NMR) oraz analizą rentgenostrukturalną.

Układ rozprawy

Przedłożona do recenzji rozprawa jest zbiorem czterech oryginalnych prac naukowych, opublikowanych w czasopismach z listy *Journal Citation Reports*. Oryginalne prace badawcze, stanowiące podstawę recenzowanego doktoratu, są poprzedzone bardzo przejrzystą napisaną i dość obszerną (109 stron) przedmową, która bardzo dobrze wprowadza czytelnika w ich lekturę. Po kartach wstępnych przedmowy (obejmujących stronę tytułową, podziękowania, spis treści, wykaz publikacji i wystąpień konferencyjnych, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz wykaz stosowanych skrótów) nakreślona jest hipoteza i cel badań. Kolejny rozdział pracy to napisany z polotem wstęp literaturowy, przybliżający podstawowe, acz istotne z punktu widzenia pracy, zagadnienia dotyczące chiralności i aktywności optycznej oraz prezentujący mechanizm działania i syntetyczny przegląd wybranych sond stereodynamicznych. Badania własne Autora są zaprezentowane w rozdziale 8, który skrótowo omawia prace badawcze, stanowiące kanwę doktoratu. Rozdział 9 prezentuje najważniejsze wnioski, otrzymane w wyniku przeprowadzonych badań, a w rozdziale 10 zawarta jest bibliografia. Rozprawę zamyka zbiór wspomnianych oryginalnych prac badawczych oraz oświadczenia Doktoranta i innych współautorów prac określające indywidualny wkład każdego z nich w ich powstanie.

Ocena merytoryczna pracy

Prace, stanowiące kanwę doktoratu opublikowane są w czasopismach, klasyfikowanych w kwartyli Q1 i Q2, w tym w *Journal of Organic Chemistry* i *ACS Omega*. Nie jest więc zaskoczeniem, iż poziom merytoryczny recenzowanej pracy doktorskiej jest bardzo wysoki. Nadrzędnym celem założonym przez Autora było wykazanie i zrozumienie indukcji aktywności optycznej w stereodynamicznych



sondach wielochromoforowych, pochodnych diarylometanu i terarylowych, do skutecznej detekcji chiralności dioli, alkoholi II-rzędowych oraz amin I-rzędowych. Kolejne podrozdziały kluczowego rozdziału 8 odnoszą się wprost do publikacji oryginalnych i są poświęcone:

- podrozdział 8.1: reporterom opartym o strukturę difenylometanu do oznaczeń dioli,
- podrozdział 8.2: reporterom diarylometrylowym do oznaczeń alkoholi II-rzędowych,
- podrozdział 8.3: reporterom di- i triarylowym do oznaczeń amin I-rzędowych,
- podrozdział 8.4: zmodyfikowanej sondzie triarylowej (o zwiększonej dynamice konformacyjnej ze względu na wprowadzenie grup bifenylowych) do oznaczeń amin I-rzędowych.

Aby zrealizować postawiony cel badawczy, Autor przebadął bardzo liczną grupę induktorów oraz reporterów, różniących się budową. Przykładowo, w przypadku sondy do oznaczeń alkoholi II-rzędowych, Doktorant, na podstawie analizy odpowiedzi dla wybranego induktora, wytypował jeden z pięciu reporterów i przebadął jego skuteczność dla dziesięciu układów reporter-induktor o bardzo zróżnicowanej strukturze molekularnej induktorów, tj. alkoholi II-rzędowych. Dla dziewięciu badanych układów przeprowadzone zostały obliczenia kwantowo-chemiczne (analiza rozkładu konformacyjnego, optymalizacja geometrii oraz modelowanie widm ECD), które umożliwiają zrozumienie mechanizmu chirogenezy w badanych systemach, a dla pięciu z nich wykonano dodatkowo analizę rentgenograficzną układów sonda-induktor w fazie krystalicznej. Bardzo pouczająca jest analiza zawartości suplementu do pracy oryginalnej, dotyczącej sondy do oznaczeń alkoholi II-rzędowych, który liczy 455 stron. Przykład ten ilustruje gigantyczny nakład pracy eksperymentalnej i analitycznej, włożony przez Doktoranta w realizację celów badawczych.

Przedłożona do recenzji praca obrazuje pewną ewolucję zainteresowań Doktoranta od badań reporterów dla dioli w kierunku, w mojej opinii bardziej interesującej, tematyki badania chirogenezy w sondach raportujących sygnał ekscytonowy dla strukturalnie bardziej heterogenicznych grup alkoholi II-rzędowych i amin I-rzędowych. Lektura pracy pozwala także na stwierdzenie, iż Doktorant wyraża krytycyzm wobec otrzymywanych wyników i konstruktywnie wyciąga wnioski na podstawie rezultatów niezadowolających, np. nieefektywny zakres spektralny sondy raportującej dla dioli skłonił Autora do modyfikacji strukturalnych reporterów w celu batochromowego przesunięcia sygnału ECD, a potrzeba zwiększenia spektrum badanych amin zaowocowała modyfikacją strukturalną sondy triarylowej grupami bifenyłowymi. Autor przekonująco zademonstrował stosowalność proponowanych sond, mając na uwadze takie istotne cechy badanych układów jak: odpowiedni zakres spektralny, możliwość oznaczeń w rozpuszczalnikach niepolarnych, prosta synteza reporterów i układów reporter-induktor, czy duża czułość sond na niewielkie zróżnicowanie podstawników przy centrach stereogenicznych. Do rozwiązania

Wydział Chemii

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



problemów badawczych Doktorant dobrał odpowiednią metodykę, a lektura przedłożonej rozprawy (szczególnie przedmowa) pozwala na stwierdzenie, iż Doktorant dobrze rozumie stosowane metody badawcze. Co uważam za szczególnie istotne, mimo dużej heterogeniczności struktur badanych układów, Autor w każdej pracy (i odpowiadającym jej podrozdziale przewodnika) podjął się kompleksowej analizy badanych układów, która prowadzi do uzyskania interesujących wniosków ogólnych.

Wobec powyższych rozważań, cel pracy uważam za w pełni zrealizowany, a uzyskane wyniki badawcze za bardzo wartościowe poznawczo. Formuła pracy w postaci zbioru publikacji, które zostały uprzednio poddane ocenie recenzentów, sprawia, iż ocena recenzenta rozprawy w znaczący sposób polega na zbadaniu wkładu Doktoranta w ich powstanie. W przypadku recenzowanej pracy, oświadczenia współautorów nie przedstawiają żadnych wątpliwości, iż Pan mgr Mądry pełnił wiodącą rolę w opracowaniu koncepcji badań, przeprowadzeniu eksperymentów, analizie danych oraz współuczestniczył w przeprowadzeniu obliczeń kwantowo-chemicznych oraz redakcji manuskryptów.

Lektura rozprawy nasunęła mi pewne pytania, które formułuje poniżej:

1. W niektórych przypadkach wydajność syntez układów reporter-induktor jest stosunkowo mała. Jakie są możliwości rozwiązania tego problemu?
2. Jakie są, szacunkowo, granice oznaczalności i wykrywalności badanych induktorów przy użyciu zaproponowanych sond chromoforowych?
3. Jak Doktorant postrzega konkurencyjność reporterów stereodynamicznych, działających na zasadzie wiązania kowalencyjnego z induktorem w porównaniu do sond, które raportują sygnał induktora ze względu na tworzenie z nim układu supramolekularnego?
4. Istotną cechą sond stereodynamicznych jest ich uniwersalność. Czy Autor sądzi, że zaproponowane układy mogą okazać się użyteczne do badania także innych grup związków chemicznych, poza analizowanymi w pracy? Jeśli tak, to jakich?
5. Interesującym jest także dla mnie, czy Autor rozważył zastosowanie innych technik chiralooptycznych, w szczególności bardzo czułych na strukturę metod wibracyjnej aktywności optycznej, które mogłyby potencjalnie być pomocne np. w analizie konformacyjnej badanych układów.

Postawione powyżej pytania mają charakter dyskusyjny i stanowią raczej zachętę dla Autora do zaprezentowania swoich opinii podczas publicznej obrony pracy.

Rozprawa jest bardzo staranna pod względem edytorskim. Z obowiązku recenzenta wymieniam poniżej drobne uchybienia edycyjne, które znalazłam podczas lektury pracy:

- str. 13, rys. 7.1: „Rosefeld”, powinno być „Rosenfeld”,
- str. 29, rys. 7.11, oznaczenie światła spolaryzowanego w lewo i prawo jest takie samo. Czy taka była intencja Autora?,



- str. 30 i 31, określenia „spychają” i „pchane” w stosunku do elektronów wydają mi się przesadnie kolokwialne,
- str. 39 i dalsze karty, „kaplet”, proponuję „kuplet”,
- str. 61, „wykorzystana Rosiniego”, powinno być „wykorzystana przez Rosiniego”,
- str. 76, „zwarzywszy” powinno być „zważywszy”.

Te niewielkie uchybienia edycyjne nie wpływają na moją bardzo wysoką ocenę recenzowanej pracy. Nie ulega bowiem wątpliwości, iż realizacja postawionych celów badawczych wymagała od Autora umiejętnego połączenia talentów preparatywnych z dobrą znajomością spektroskopii, w szczególności elektronowego dichroizmu kołowego, oraz podstaw obliczeń kwantowo-chemicznych. Podkreślenia wymaga także fakt, iż rozprawa zawiera dogłębną analizę bardzo wielu układów reporter-induktor o zróżnicowanej strukturze molekularnej, co z pewnością wymagało od Doktoranta bardzo dużego nakładu pracy koncepcyjnej, eksperymentalnej i analitycznej. Uzyskane efekty, tj. opracowanie skutecznych reporterów chiralności dla dioli, alkoholi II-rzędowych oraz amin I-rzędowych i wyjaśnienie mechanizmów chirogenezy w analizowanych układach reporter-induktor są potencjalnie istotne dla wielu dziedzin nauki, dla których analiza mechanizmów rozpoznawania chiralnego i ocena czystości enancjomerycznej nabierają coraz większego znaczenia.

Reasumując, przedłożona do recenzji praca jest bardzo rzetelna, zawiera znaczną ilość dobrze udokumentowanych i istotnych poznawczo wyników badawczych, które mogą w przyszłości przełożyć się na potencjalne aplikacje analizowanych układów. Za szczególnie istotny wątek badawczy pracy uważam sondy, których aktywność wynika z chiralności ekscytonowej, ze względu na potencjalnie niższe stężenie induktora wymagane do przeprowadzenia analizy z ich udziałem. Za warte podkreślenia uważam także, iż Autor wykazał użyteczność zaproponowanych sond w analizie cząsteczek o niewielkim zróżnicowaniu podstawników przy centrum stereogenicznym.

Ocena dorobku naukowego

Autor jest pierwszym autorem w trzech publikacjach naukowych, wchodzących w skład pracy doktorskiej i współautorem korespondencyjnym w dwóch z nich. Podkreślić należy, że trzy z wymienionych publikacji są dziełem jedynie trzech autorów. Ponadto Doktorant prezentował także swoje wyniki badawcze na kilkunastu polskich i międzynarodowych konferencjach naukowych. Warte podkreślenia jest także kierowanie projektem Narodowego Centrum Nauki PRELUDIUM 15 *Detekcja chiralności przez stereodynamiczne sondy chromoforowe* oraz udział Doktoranta w projekcie Narodowego Centrum Badań i Rozwoju *Chiralne kwasy dikarboksyłowe CHIKADI*. W obliczu powyższego, oceniam dorobek naukowy Doktoranta jako wartościowy i adekwatny do etapu kariery akademickiej.

Wydział Chemii

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wniosek końcowy

Konkludując, stwierdzam, że założone przez Pana mgr. Tomasza Mądrego cele pracy zostały osiągnięte, a przedstawione w rozprawie badania stanowią istotny przyczynek do rozwoju nauk chemicznych w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych i oryginalne rozwiązanie problemu badawczego. Tym samym konstatuje, iż przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowym i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami). Wnoszę tym samym do Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie Pana mgr. Tomasza Mądrego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wydział Chemii

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl