



dr hab. Grzegorz Litwinienko, prof. UW
Uniwersytet Warszawski
Wydział Chemii
Pasteura 1
02-093 Warszawa
tel. 22 8220211 w. 333
e-mail: litwin@chem.uw.edu.pl

Warszawa 06/10/2014

**Recenzja rozprawy doktorskiej magistra Pawła M. Stępniaaka pt.
„Synteza i badanie właściwości kompleksotwórczych hybrydowych połączeń cyklodekstryn z
pochodnymi aminokwasów”**

Przedstawione do recenzji tezy doktorskie Pana magistra Pawła Stępniaaka opisują rezultaty badań wykonanych pod kierunkiem prof. dra hab. Janusza Jurczaka w Pracowni Stereokontrolowanej Syntezy Organicznej na Wydziale Chemii UW. Rozprawa obejmuje 180 stron wraz z częścią zawierającą dane eksperymentalne i zawiera 110 przypisów. Jako motto Doktorant przytoczył tekst o twórczej /sprawczej mocy Człowieka współdziałającego w zgodzie z Naturą i kontynuującego jej dzieło. Należy przyznać, że mgr Stępniaak korzysta tu z najlepszych wzorców, bowiem autorem przytoczonego tekstu jest Leonardo da Vinci, a sam cytat był przywoływany przez tak znamienitych badaczy, jak np. J. M. Lehn w swoim wykładzie noblowskim oraz w książce „*Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*.”

Na pierwszych stronach autor wyjaśnia, że zainteresował się cyklodekstrynami i ich zdolnością do kompleksowania aminokwasów, ponieważ w odróżnieniu od syntetycznych receptorów, są one obiecującym materiałem wyjściowym w projektowaniu i syntezie rozpuszczalnych w wodzie, nietoksycznych receptorów związków organicznych. W tym miejscu Autor przedstawił ogólne założenia, cel pracy, etapy projektu doktorskiego, stosowaną metodologię, a także poinformował o strukturze przedłożonej rozprawy doktorskiej.

Część literaturowa (59 stron) napisana jest w sposób zwięzły, przystępny i kompetentny. We Wprowadzeniu Doktorant sprawnie zapoznał czytelnika z definicjami i parametrami o kluczowym dla dalszych rozważań znaczeniu, np. zamieścił sposób definiowania wymiarów wnęki cyklodekstryn, opisał różnice strukturalne trzech najważniejszych przedstawicieli tej grupy związków i umiejętnie połączył omawiane parametry z właściwościami fizykochemicznymi tej grupy związków. Następny podrozdział Wprowadzenia, poświęcony modyfikacjom cyklodekstryn, ma duże walory dydaktyczne i mógłby być polecany jako *tutorial* dla studentów, doktorantów i wszystkich, którzy chcieliby w przyspieszonym tempie uzyskać jak najwięcej informacji o różnicach reaktywności grup hydroksylowych i wykorzystaniu tych różnic podczas selektywnej modyfikacji cyklodekstryn. Tekst jest tak wnikliwie i błyskotliwie napisany, że następujący po nim rozdział (2.1.3) sprawia wrażenie ascetycznego, co wynika z zamiaru skondensowania na niespełna trzech stronach obszernej wiedzy o mechanizmach oddziaływania cyklodekstryn z otoczeniem. To trudne zadanie, polegające na ścisłej selekcji treści, zaowocowało zwięzłym, a czasem lakonicznym opisem mechanizmów oddziaływań gość-gospodarz, uwzględniającym kombinację szeregu oddziaływań elektrostatycznych,

indukowanych, dyspersyjnych, i wiążącym je z różnorodnością strukturalną gościa i gospodarza. Wpływ tych sił, termodynamika kompleksowania oraz rola rozpuszczalnika zostały odpowiednio zaakcentowane a dla bardziej ambitnego czytelnika tekst tego podrozdziału może stanowić inspirację do dalszych wnikliwych poszukiwań.

Dwie następne części Wprowadzenia stanowią kompendium wiedzy o kompleksowaniu aminokwasów przez cyklodekstryny a szczególnie przez β -cyklodekstrynę. Autor dokonał podziału na dwa etapy badań, te wykonane w XX wieku oraz, w osobnym podrozdziale, osiągnięcia z ostatnich kilkunastu lat. Zabieg ten pozwolił na uwypuklenie olbrzymiej intensyfikacji badań jaka nastąpiła w ostatnim okresie i ten obszerniejszy rozdział jest uporządkowany według sposobu modyfikacji β -cyklodekstryny. Kolejno opisane są właściwości kompleksotwórcze monopochodnych aminowych, monopochodnych alkilowych i aromatycznych, polipochodnych oraz pochodnych zaklasyfikowane przez Doktoranta jako układy nietypowe. Lektura tego trzydziestostronicowego przeglądu pozwala na dokładne prześledzenie rozwoju koncepcji i hipotez badawczych, ograniczeń metodologicznych, a także poznanie problematyki efektywnego kompleksowania, z uwzględnianiem różnorodności oddziaływań, wpływu struktury, środowiska, stopnia protonowania gościa i gospodarza. Rozdział ten, będący dobrze skonstruowaną pracą przeglądową, ma strukturę typową dla wykładu, a Autor przytacza tylko te rezultaty, które są niezbędne dla zrozumienia obecnego stanu wiedzy i są pomocne w uzasadnieniu i zaplanowaniu projektu doktorskiego. Ta część pracy w pełni dokumentuje, że podjęty temat jest ważny dla nauki i nowatorski, a doktorant zna literaturę przedmiotu i potrafi ją twórczo wykorzystać, oraz że zna i prawidłowo interpretuje właściwy dla tej problematyki aparat metodologiczny.

Przedstawione na stronach od 61 do 111 „Badania własne” wraz z towarzyszącą obszerną częścią eksperymentalną (strony 117-180) to rdzeń pracy doktorskiej magistra Pawła Stępnia. W nawiązaniu do przedstawionych w części literaturowej danych Doktorant precyzyjnie formułuje cel pracy jako zaprojektowanie, synteza i badanie receptorów β -cyklodekstrynowych zdolnych do silnego kompleksowania wolnych aminokwasów i spełniających szereg narzuconych warunków takich jak: prostota syntezy, dobra rozpuszczalność w wodzie, amfifilowość, elektroobojętność w relatywnie szerokim zakresie pH, a także obecność minimum trzech elementów strukturalnych zdolnych do tworzenia oddziaływań z cząsteczką gościa. Autor klarownie uzasadnia te wymagania i natychmiast proponuje strategię syntezy oraz wyjaśnia wybór substancji modelowych użytych do modyfikacji β -cyklodekstryny.

Projekt przewidywał zsyntezowanie serii dwóch typów receptorów - zależnie od miejsca modyfikacji były to pochodne β -cyklodekstryny modyfikowane aminokwasami w pozycji C-2 lub C-6. Strategia syntez przewidywała dwutorową pracę: modyfikację aminokwasów oraz modyfikację β -cyklodekstryny tak, aby w końcowym etapie obydwie pochodne połączyć za pomocą jednej, prostej i wydajnej reakcji sprzęgania (*click chemistry*). Dokładne procedury syntez wraz z danymi dotyczącymi identyfikacji produktów można znaleźć w osobnym miejscu pracy doktorskiej (rozdział 5.2), natomiast w Rozdziale 3, na stronach 66-88, Autor krok po kroku prowadzi czytelnika przez kolejne etapy syntez, wyjaśniając wybór konkretnej strategii syntetycznej, celowość zastosowania poszczególnych reagentów, wady i zalety stosowanych grup zabezpieczających. Warto zwrócić uwagę na dokładny opis ścieżek reakcyjnych oraz na szczegółową dyskusję przyczyn niepowodzeń niektórych syntez. Przykładem jest podrozdział 3.2.2.1, gdy w obliczu niepowodzenia mgr Stępnia prowadzi drobiazgowo śledztwo i odkrywa, że autor publikacji źródłowej błędnie przypisał działanie katalityczne bezwodnikowi kwasu

p-toluenosulfonowego, podczas gdy katalizatorem okazał się chlorek tego kwasu, występujący jako zanieczyszczenie bezwodnika.

Kolejnym etapem pracy było badanie właściwości kompleksotwórczych - z całej serii syntezowanych receptorów β -cyklodekstrynowych Doktorant wybrał sześć takich, które spełniały kryteria rozpuszczalności i trwałości w buforze fosforanowym a ponadto nie zmieniały swojego ładunku w zakresie pH od 5 do 9. Opis i dyskusja wyników zamieszczone są na str. 89-107, natomiast dane źródłowe w osobnym rozdz. 5.3 (na str. 153-178). Kluczowy element, wybór metodologii badawczej został dokładnie uzasadniony - ten fragment pracy ma dużą wartość dydaktyczną i walor ten został osiągnięty bez uszczerbku na precyzji i ścisłości. Czytelnik może zapoznać się z wadami, zaletami, ograniczeniami metody miareczkowania spektrofotometrycznego (UVvis), spektroskopowego (^1H NMR) oraz mikrokalorymetrycznego. Spośród tych trzech, metoda Izotermicznego Miareczkowania Kalorymetrycznego (ITC) została zastosowana do wszystkich badanych układów gość-gospodarz. Dwie pozostałe metody nie były na tyle uniwersalne i stosowano je do badań pojedynczych układów.

Opis i interpretacja rezultatów badań zdolności kompleksotwórczych poprowadzony jest wielowątkowo – dotyczy siły oddziaływań, stechiometrii tworzących się kompleksów, równowag asocjacyjnych jakim ulega receptor. Zaprojektowane i zsyntezowane pochodne wykazywały duże powinowactwo do fenyloalaniny, tryptofanu i tyrozyny - nawet najslabiej działający receptor tworzył 50 razy silniejsze połączenie niż natywna β -cyklodekstryna. Stechiometria tworzonych kompleksów była inna niż 1:1, co Doktorant wyjaśnił efektem tworzenia dimerycznych kapsuł oraz samoasocjacją receptora. Zjawiska tworzenia kapsuł są opisane w chemii cyklicznych związków polihydroksylowych np. kaliksarenów i rezorcynarenów, jednak zasługą Doktoranta jest eksperymentalna weryfikacja postawionej przez niego hipotezy i wyznaczenie parametrów termodynamicznych, jak również spektroskopowa detekcja i określenie struktury dimerów powstających w wyniku tego typu oddziaływań. Rozdział 3.3 to skrupulatny opis obserwowanych zjawisk, zilustrowany wykresami prezentującymi parametry stechiometryczne i termodynamiczne. Obserwacje są pogrupowane i zinterpretowane, a autor znajduje szereg prawidłowości. Hipoteza wyjaśniająca dużą dodatnią zmianę entropii procesu kompleksowania jest jak najbardziej prawidłowa – zarówno uwalnianie cząsteczek wody z wnętrza cyklodekstryny jak i rozrywanie otoczki solwatacyjnej aminokwasu może zdecydować o pozytywnym efekcie entropowym.

Cykl eksperymentów z serią aminokwasów zawierających różne grupy funkcyjne doprowadził do ustalenia, które z tych grup mają dominujący wpływ na przebieg i mechanizm kompleksowania. Eksperymenty te zostały prawidłowo zaprojektowane a wyniki (Wykresy 10-12) bardzo trafnie zinterpretowane. W następnym etapie badań Doktorant udokumentował znaczący wpływ stopnia protonowania / deprotonowania aminokwasu na trwałość powstających kompleksów oraz udowodnił, że jest to efekt o podłożu typowo entropowym. Przedostatnim etapem badań kalorymetrycznych było badanie zdolności do kompleksowania N-Boc-zabezpieczonych aminokwasów oraz ibuprofenu - w tej części projektu Doktorant opisał wpływ rozmiarów kompleksowanej cząsteczki na siłę i mechanizm kompleksowania. Kolejny wątek badań dotyczył zdolności do rozpoznania chiralnego, jednak okazało się, że receptory silnie wiążące aminokwasy nie różnicują enancjomerów lub różnicują je w niewielkim stopniu. Można zatem powiedzieć, że ceną za znaczne polepszenie właściwości kompleksotwórczych jest brak stereoróżnicowania.

Tekst następnego podrozdziału (3.3.3. Określenie struktury kompleksów) to efekt udanej kombinacji rezultatów badań kalorymetrycznych i spektroskopowych. W dużej mierze

jest to opis łączący formę występowania receptora (monomer / dimer) z jego zdolnościami kompleksotwórczymi oraz z mechanizmem kompleksowania.

Wszystkie prezentowane w Rozdziale 3 wyniki są omówione w sposób bardzo dociekliwy a hipotezy o mechanizmach oddziaływania, wkładzie poszczególnych grup funkcyjnych, udziale form zasocjowanych w procesie kompleksowania są w pełni udokumentowane danymi eksperymentalnymi. Jedyne, co Doktorant mógłby dodatkowo wprowadzić w tej części pracy, to rozszerzenie dyskusji przyjętego modelu kompleksowania oraz powiązanie błędów uzyskanych stałych wiązania (opisanych w rozdz. 5.3) z wartościami dyskutowanych parametrów termodynamicznych. Konkluzje zamieszczone na stronach 108-111 to ekstrakt dyskusji prowadzonych podczas omawiania badań własnych.

Praca napisana jest językiem poprawnym, a lektura sprawia przyjemność obcowania z dobrym tekstem. Nie zauważyłem żadnych większych błędów językowych, co zmotywowało mnie do poszukiwania drobnych niedoskonałości stylistycznych. Np. w tekście na str. 77: „z uwagi na zbyt dużą wielkość grupy opuszczającej” bardziej odpowiednie byłoby „z uwagi na zbyt duży rozmiar grupy opuszczającej”, podpis Rysunku 30: „Widmo masowe eksperymentu fragmentacyjnego...” to zapewne efekt tunelowania treści z notatnika laboratoryjnego do tekstu pracy doktorskiej. Schemat 9, zatytułowany „Synteza propargilowanych aminoalkoholi” prezentuje ciąg reakcji, który nie doprowadził do pożądanego produktu, a zatem podpis do tego schematu powinien odzwierciedlać brak sukcesu tej ścieżki syntetycznej. W pojedynczych, bardzo nielicznych fragmentach autor przejawia tendencję do komplikowania wypowiedzi. Przykładowo, na str. 77 doktorant pisze, że „rozdzielania” pochodnych mono- i di-debenzylowej oraz perbenzylowanej dokonał „na drodze chromatografii” zamiast napisać, że produkty reakcji rozdzielił chromatograficznie. Do kilku zdań przedostał się nadużywany ostatnio zwrot „w przypadku”, który powinien być bezboleśnie usunięty podczas ostatniej korekty. Słowo „skutkuje” aż prosi się o zastąpienie słowem „powoduje / wywołuje / prowadzi do...”. Pomimo tych bardzo nielicznych potknięć warstwa językowa z powodzeniem spełnia wymagania stawiane tekstom dysertacji naukowych. Pan magister Paweł Stępniać posiada dar swobodnego, klarownego opisywania rzeczy skomplikowanych. Jeśli ponadto uwzględnić sposób prowadzenia narracji, to rozdziały prezentujące przegląd literatury oraz badania własne uznaję za wzorcowe i godne polecenia.

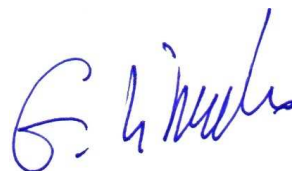
Dokonując ogólnej oceny rozprawy doktorskiej uważam, że podjęty przez doktoranta temat jest ważny dla nauki, został on precyzyjnie sformułowany a sposób rozwiązania stawianych problemów charakteryzuje się nowatorstwem. Przedłożona praca wskazuje na bardzo dobrą znajomość literatury przedmiotu i jej twórcze wykorzystanie do zaplanowania, zorganizowania i opracowania syntez, do przedyskutowania mechanizmów a także, co również bardzo istotne, do wyjaśnienia ewentualnych niepowodzeń. W pracy doktorskiej skutecznie połączono wiedzę i umiejętności z różnych, czasem odległych specjalności. Do największych osiągnięć zaliczam:

- zaprojektowanie i zastosowanie optymalnej sekwencji syntetycznej, polegającej na równoległej funkcjonalizacji aminokwasu oraz β -cyklodekstryny a następnie połączeniu tak uzyskanych pochodnych w wyniku jednoetapowej cykloaddycji azydkowo-alkinowej, (proces typu „click”),
- wykazanie, że zaproponowana metoda jest bardziej uniwersalna i może być stosowana do wydajnej syntezy znacznie szerszej gamy połączeń hybrydowych, w tym również pochodnych dwupodstawionych oraz pochodnych makrobicyklicznych,

- uzyskanie serii receptorów selektywnie wiążących modelowe aminokwasy znacznie silniej niż natywna cyklodekstryna oraz silniej niż znane dotąd receptory tego typu,
- dokładne zbadanie i opisanie właściwości tworzących się kompleksów, ich stechiometrii, struktury i stabilności, na podstawie szczegółowej interpretacji danych termodynamicznych i spektroskopowych,
- zaproponowanie i weryfikację mechanizmów oddziaływania receptorów z aminokwasami, z uwzględnieniem wkładu różnych czynników energetyczno-strukturalnych.

Pan magister Paweł Stępniać jest autorem oryginalnego rozwiązania problemu naukowego i wykazał się dużą wiedzą teoretyczną i praktyczną w zakresie chemii. Rozprawa spełnia wymagania określone w art. 13 ustawy z dn. 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65/2003 poz. 595 z późniejszymi zmianami), dlatego wnioskuję o dopuszczenie Pana magistra Pawła Stępniać do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wymienione powyżej znakomite osiągnięcia pracy doktorskiej, rozległy zakres badań, wagę podejmowanych zagadnień oraz sposób wyłożenia tez doktorskich świadczący o erudycji autora, stawiam wniosek o wyróżnienie tej rozprawy.



Recenzja pracy doktorskiej

Mgra Pawła Marka Stępniaaka pt.:

„Synteza i badanie właściwości kompleksotwórczych hybrydowych połączeń cyklodekstryn z pochodnymi aminokwasów”

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska mgra Pawła Stępniaaka została zrealizowana w Pracowni Stereokontrolowanej Syntezy Organicznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego w ramach projektu PO IG. 01.01.02-14-102/09 „*Cukry jako surowce odnawialne w syntezie produktów o wysokiej wartości dodanej*”, pod promotorskim kierunkiem Pana Profesora Janusza Jurczaka. Naukowa ranga i znaczenie osiągnięć w zakresie szeroko rozumianej chemii organicznej, w tym także zagadnień związanych z chemią supramolekularną i rozpoznaniem molekularnym Profesora Jurczaka, upoważniają mnie do stwierdzenia że mgr Stępniaak wykonywał swoją pracę doktorską w bardzo dobrym zespole, dysponującym ugruntowaną wiedzą w tematyce rozprawy i możliwościami technicznymi do przeprowadzenia zaplanowanych badań.

Celem zaplanowanych przez Doktoranta badań była synteza receptorów wolnych aminokwasów i szerokie zbadanie ich kompleksotwórczych właściwości. W oparciu o doniesienia literaturowe a także o doświadczenia zespołu Profesora Jurczaka z wcześniejszych prac, jako obiekt tytułowych badań wybrał mgr Stępniaak aminokwasowe pochodne β -cyklodekstryny, dające nadzieję spełnienia wielu wymagań stawianych receptorom wolnych aminokwasów. Do najważniejszych wymagań receptorów o planowanym zastosowaniu zalicza Doktorant: ich dostępność w możliwie prostej syntezie, rozpuszczalność w wodzie, efektywność kompleksowania w pewnym zakresie pH - bliskim środowiska obojętnego i selektywność (w tym enancjoselektywność) rozpoznania molekularnego.

Tak postawiony cel został podzielony na wiele zadań badawczych, których realizacja wymagała szerokiej wiedzy chemicznej i wysokich umiejętności eksperymentatorskich. Wiedzę z tematyki pracy doktorskiej pogłębiał doktorant, między innymi, w trakcie studiów literaturowych w dziedzinie chemii cyklodekstryn a umiejętności eksperymentatora potwierdził przeprowadzeniem z sukcesem syntez wielu związków o skomplikowanych strukturach i wykonaniem różnych pomiarów spektroskopowych i kalorymetrycznych, koniecznych do określenia struktury i właściwości kompleksotwórczych tytułowych połączeń cyklodekstryn.

Chemia supramolekularna jest dziedziną interesująca coraz szersze kręgi uczonych z różnych specjalności. Łączenie się cząsteczek między sobą za pomocą słabych oddziaływań prowadzi do powstawania supramolekularnych struktur o nowych interesujących właściwościach i możliwościach ich różnorodnego wykorzystania. Specyficzne oddziaływanie pomiędzy cząsteczkami dwóch różnych substancji tworzyć może niekonwencjonalne połączenia o znacznej trwałości. Jeżeli jedna z substancji (gospodarz) tworzy takie silne niekonwencjonalne połączenia z jedną z substancji (gościem) a oddziaływanie z innymi

znajdującymi się w tym samym środowisku jest znacznie słabsze, to możemy mówić o rozpoznaniu molekularnym.

Rozpoznanie molekularne decyduje o wielu najważniejszych procesach biologicznych zachodzących w świecie ożywionym, takich jak np. transport cząsteczek przez błony, transport ładunku lub energii, wzrost organizmów, czy oddziaływanie układu antygen-przeciwciała. Postęp badań w zakresie chemii supramolekularnej, jaki dokonuje się aktualnie pozwala na coraz lepsze zrozumienie procesów zachodzących w przyrodzie i wskazuje na możliwości szerokiego interdyscyplinarnego wykorzystania wyników tych badań np. do: projektowania leków o dużej skuteczności i selektywnym działaniu, syntezy i wykorzystania specyficznych receptorów w nowoczesnych technikach analitycznych, czy do projektowania efektywnych katalizatorów do wielkoprzemysłowych ekologicznych procesów technologicznych.

Cyklodekstryny, to jedne z ważniejszych materiałów wykorzystywanych do budowy selektywnych receptorów. Te naturalnie występujące związki makrocycliczne, zbudowane z cząsteczek glukozy, charakteryzują się bardzo istotną w planowanych przez doktoranta badaniach właściwością, jaką jest ich rozpuszczalność w środowisku wodnym. Planowane w założeniach badawczych wprowadzenie do cząsteczki cyklodekstryny jako „gospodarza” podstawników pochodnych aminokwasów jest właściwym wyborem, ze względu na strukturę modelowego „gościa”.

Z wymienionych powodów uznaję wybrany temat pracy doktorskiej, jak i obiekt badawczy za aktualny i ważny, zarówno ze względów poznawczych jak i aplikacyjnych.

Układ recenzowanej pracy jest typowy dla prac doktorskich z zakresu chemii organicznej. Praca podzielona jest na sześć rozdziałów z których drugi, trzeci i piąty zostały dodatkowo podzielone na kilka zatytułowanych podrozdziałów. Tekst recenzowanej pracy w postaci wydruku komputerowego przedstawiony na 184 ponumerowanych stronach zaczyna się Spisem treści, po czym następuje Wykaz skrótów a wydruk kończy spis literatury cytowanej, zawierający 110 pozycji. W rozdziale zatytułowanym „Założenia i cel pracy” mgr Stępiak w sposób bardzo skrótowy wprowadza czytelnika w najbardziej istotne, jego zdaniem zagadnienia chemii supramolekularnej i rozpoznania molekularnego, po czym wyjaśnia powody wyboru obiektów badawczych. Wybór β -cyklodekstryny uzasadnia jej rozpuszczalnością w wodzie oraz zdolnością do tworzenia oddziaływań z hydrofobowymi jak i polarnymi fragmentami cząsteczek związków organicznych. Planowana modyfikacja β -cyklodekstryn miała na celu zwiększenie siły ich oddziaływania ze związkami modelowymi. Wybór prostych aminokwasów jako modelowych „gości” uzasadnia mgr Stępiak oczywistym ich znaczeniem biologicznym.

Część literaturowa to rozdział zajmujący strony od 5 do 59, podzielony dodatkowo na podrozdziały: „Badanie kompleksów cyklodekstryn i aminokwasów w XX wieku”, „Postępy w badaniach procesów rozpoznania α -aminokwasów przez β -cyklodekstrynę i jej pochodne”, „Najnowsze osiągnięcia w dziedzinie rozpoznania α -aminokwasów przez β -cyklodekstrynę i jej pochodne (2000-2014)” i podrozdział „Konkluzje”. Już sam spis tytułów informuje czytelnika o zawartości tego rozdziału. W pierwszej części przeglądu literatury Doktorant podaje ogólne informacje o budowie, podziale i metodach otrzymywania cyklodekstryn. Sposoby modyfikowania β -cyklodekstryny oraz mechanizmy ich oddziaływania z otoczeniem zostały omówione w bardziej szczegółowy sposób. W tej części przeglądu doktorant zwracał głównie uwagę na pozycje literaturowe podające możliwość selektywnego wprowadzania podstawników do struktury cyklodekstryn w reakcjach przebiegających w łagodnych warunkach i zapewniających wysokie wydajności syntezowanych pochodnych. Poznawanie mechanizmów oddziaływania cyklodekstryn z cząsteczkami innych związków jest sprawą złożoną i skomplikowaną ze względu na konieczność uwzględniania bardzo wielu różnych czynników, takich jak: typ oddziaływania niekonwencjonalnego, oddziaływanie gospodarza i gościa z rozpuszczalnikiem, oddziaływania wewnętrzne gospodarza i gościa, oddziaływania

rozpuszczalnik-rozpuszczalnik, preorganizacja receptora, uwarunkowania termodynamiczne i kinetyczne i itd. Przywołane w tym fragmencie pozycje literatury 37-43 (bez pozycji 38?) zapewne pozwoliły doktorantowi ocenić złożoność mechanizmu oddziaływania cyklodekstryn z otoczeniem i były jednym ze wskaźników w planowaniu badań najbardziej odpowiednich do realizacji wyznaczonego celu.

Tematyka części literaturowej jest zwięzła, dobrze dobrana i harmonizuje z tematyką rozprawy. Autor w sposób jasny scharakteryzował aktualny stan wiedzy na temat sposobów modyfikowania β -cyklodekstryny i w historycznym ujęciu opisał procesy rozpoznania molekularnego α -aminokwasów przez β -cyklodekstrynę i jej pochodne. Ten ostatni temat został specjalnie wyróżniony podrozdziałem poświęconym najnowszym badaniom (w latach 2000-2014) oddziaływań α -aminokwasów z β -cyklodekstryną. Lektura tej części pracy doktorskiej skłania mnie do postawienia wniosku, że mgr Stępniać dobrze opanował wiedzę z tematyki swojej pracy doktorskiej i potrafi ją przekazać innym w sposób bardzo przystępny. Z satysfakcją przywołam entuzjazm mgra Stępniać wypływający z przeglądu tematycznej literatury. Cytuję ostatni fragment części literaturowej: cyt. „..... można dojść do wniosku, że problem wiązania aminokwasów i ich chiralnego rozpoznania z użyciem cyklodekstryn pozostaje nadal ważnym i **wdzięcznym** polem badawczym.” Niewielka liczba drobnych uchybień, jaką znalazłem w tej części rozprawy sprawiła mi przyjemność, potwierdzając (mam nadzieję) moją uważną lekturę rozprawy. Podam tylko jeden z wyszukanych mozolnie błędów: str. 45 – pomyłka w numeracji związków **28**.

Kolejny rozdział zajmujący strony od 61 do 111 zatytułowany Badanie własne zaczyna doktorant krótkim przypomnieniem głównego celu przeprowadzonych badań, czyli syntezę receptora który tworzyłby trwałe kompleksy z wolnymi aminokwasami. Proponowane pochodne β -cyklodekstryny do takiej roli, powinny zdaniem mgra Stępniać, spełniać 6 warunków, wśród których łatwa ich synteza i rozpuszczalność w wodzie należą do najważniejszych. W oparciu o rozpoznanie literaturowe doktorant stwierdził, że β -cyklodekstrynowy receptor do kompleksowania aminokwasów zapewniający trójpunktowe wiązania substratu powinien mieć, oprócz możliwości hydrofobowego wiązania reszt aminokwasów, także punkty do oddziaływania z grupą aminową i karboksylową. Jako model takiego receptora spełniającego wymienione warunki wybrane zostały aminokwasowe monopochodne β -cyklodekstryny, zawierające szkielety leucyny i fenyloalaniny. Mgr Stępniać przekonująco udowodnił także, że lepszym receptorem będzie pochodna β -cyklodekstryny z podstawnikiem po stronie drugorzędowych grup hydroksylowych niż po stronie grup pierwszorzędowych. Dla celów porównawczych doktorant syntezował także pochodne cyklodekstryn z funkcją aminokwasową po stronie pierwszorzędowej a także dipodstawione i makrobicykliczną pochodną β -cyklodekstryny.

Synteza zaprojektowanych pochodnych jest zadaniem trudnym i wymagającym dużych umiejętności od eksperymentatora, ze względu na obecność 21 grup hydroksylowych o zbliżonych właściwościach i ich podobnej reaktywności (w trzech grupach po 7). Rozpuszczalność w wodzie, tak pożądana w tej grupie receptorów, w syntezie pochodnych cyklodekstryn jest dużą niedogodnością. Fakt, że mgr Stępniać uznał iż ta tematyka jest **wdzięcznym polem badawczym**, pozwolił mu z sukcesem przebrnąć przez etap syntezy i otrzymać z dobrymi wydajnościami zaprojektowane hybrydowe połączenia cyklodekstryn z pochodnymi aminokwasów. Wybrana metoda syntezy tytułowych receptorów **68-71,74 i 75** polegała na odpowiednim przygotowaniu reagentów cyklodekstrynowych i aminokwasowych i połączeniu ich w jednym etapie w katalizowanej cykloaddycji azydkowo-alkinowej. Taka strategia dawała możliwość łączenia reagentów w procesie „click”, przebiegającym z wysoką wydajnością i w większości przykładów bez konieczności uciążliwego oczyszczania końcowego produktu. Natomiast otrzymywanie substratów do końcowego ich łączenia wymagało kilkuetapowych syntez z koniecznością zabezpieczania reaktywnych grup

reagentów i wydzielaniem produktów pośrednich. Cyklodekstrynowy prekursor do reakcji „click” został przygotowany w kilku wersjach jako: mono-6-azydo- β -CD (**65**), mono-2-prpargilo- β -CD (**66**) i di-6^A,6^D- prpargilo- β -CD (**67**). Drugi (aminokwasowy) prekursor został przygotowany albo w formie odpowiednich azydków albo w postaci propargilowych estrów aminokwasów. Jako substraty do syntezy propargilowych pochodnych w tej grupie prekursorów, wybrał doktorant optycznie czyste aminokwasy – L-feniloalaninę i L-leucynę, które po zabezpieczeniu grupy aminowej poddawane były reakcji z alkoholem propargilowym prowadząc do kilku alkinowych pochodnych **42**. Aminokwasowe prekursory z grupą azydkową przygotował mgr Stępiak w formie aminoazydków **50** i azydoaminokwasów **55**. Ten mój bardzo krótki i niepełny opis przeprowadzonych przez doktoranta syntez, nie ilustruje trudności jakie pojawiają się w reakcjach funkcjonalizowania cyklodekstryn i na każdym etapie przekształceń aminokwasów. Takie kłopoty nie ominęły także realizującego ten projekt. Mgr Stępiak poradził sobie znakomicie z trudnymi syntezami a napotykanie niespodziewane nieraz trudności, inspirowały go do rozpoznawania przyczyn niepowodzenia i poszukiwania innych sposobów uzyskania zaplanowanych związków.

Szczególną wartością recenzowanej pracy doktorskiej są opisane w niej wyniki badań właściwości kompleksotwórczych zsyntezowanych receptorów. Modelowym układem w tych badaniach był układ: aminokwasowa pochodna β -cyklodekstryny jako receptor i aminokwasy lub ich pochodne jako gość. Mgr Stępiak zdecydował prowadzić pomiary w warunkach zbliżonych do fizjologicznych, co zawężało wybór metod badawczych. Jako najbardziej odpowiednie, zostały wytypowane receptory **68a-f**, pochodne β -CD monopodstawione w pozycji C-2, zawierające mostek mocznikowy jako donor wiązania wodorowego. Modelowymi do tych badań aminokwasami w roli gościa, wybrane zostały niepolarne aminokwasy a mianowicie: alanina, fenyloalanina, tryptofan i ich analogi. Po rozważeniu i sprawdzeniu trzech metod stosowanych najczęściej w badaniach kompleksotwórczych właściwości receptorów mgr Stępiak uznał i wykazał, że w tym przypadku najwłaściwszą metodą analityczną będzie izotermiczne miareczkowanie kalorymetryczne (ITC). Metoda ta pozwala na przeprowadzenie pomiarów w wodzie a analiza pojedynczego pomiaru pozwala na wyznaczenie najważniejszych parametrów układu: stałej trwałości, entalpii i entropii oraz stechiometrii kompleksu.

Wyniki przeprowadzonych pomiarów wskazują, że zsyntezowane przez doktoranta tytułowe receptory tworzą zdecydowanie bardziej trwałe kompleksy z aminokwasami niż natywna β -cyklodekstryna i że receptory te tworzą kompleksy z aminokwasami w sposób selektywny, regulowany wartością pH. Ponadto przeprowadzone pomiary mikrokalorymetryczne w połączeniu ze spektroskopowymi pozwoliły na zaproponowanie struktury powstających kompleksów o przeważającej stechiometrii 1:2 (gość:gospodarz).

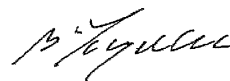
Znaczącym ułatwieniem w lekturze rozdziału „Badania własne” byłoby umieszczenie tabeli (Rysunek 33) ze strony 89, definiującej podstawniki receptora **68** bezpośrednio pod schematem 21 na stronie 80. Odwołanie do rysunku 28 na stronie 63 jest błędne.

Następny rozdział 5 „Część eksperymentalna” zajmujący strony od 117 do 180 dokładnie dokumentuje przeprowadzone badania. W tej obszernej części znajduje się dokładny opis przeprowadzonych syntez i pomiarów z zastosowaniem adekwatnej aparatury. Proponowane struktury zsyntezowanych związków zostały udokumentowane właściwymi metodami (głównie spektroskopowymi) i nie budzą moich zastrzeżeń, chociaż brakuje mi odwołań do konkretnych pozycji literaturowych, przy opisie widm związków znanych. Zapis np. ze strony 137 pod wzorem monoazydkowej pochodnej cyt.: ” NMR: widmo zgodne z danymi literaturowymi”, bez podania konkretnej pozycji, daje recenzentowi duże możliwości do poszukiwań. Pomiary mikrokalorymetryczne są dobrze udokumentowane wydrukami komputerowymi aparatu pomiarowego a badania struktury kompleksów zilustrowane widmami ROESY. Dysertację mgra Pawła Stępiaka oceniam bardzo pozytywnie i stwierdzam, że zawarte w niej wyniki w istotny sposób rozszerzają naszą wiedzę o budowie, metodach syntezy

i właściwościach kompleksotwórczych cyklodekstryn i ich hybrydowych połączeń z pochodnymi aminokwasów. Ważnym osiągnięciem doktoranta jest wielokierunkowe zbadanie kompleksów zsintezowanych receptorów z aminokwasami, dającym wskazówki do aplikacyjnego zastosowania wyników tych badań w przyszłości.

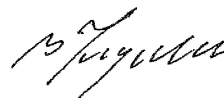
Recenzowana praca jest kolejnym przykładem kreatywnych i ważnych prac badawczych zespołu Profesora Janusza Jurczaka z tematyki dotyczącej receptorów rozpoznania molekularnego a Pan mgr Paweł Marek Stępniaak realizujący te badania wykazał się walorami solidnego, dociekliwego i odpowiedzialnego badacza. Wytyczony cel został w pełni osiągnięty.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa w moim przekonaniu 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 późn. zm.. Zatem z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie mgra Pawła Marka Stępniaaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Jednocześnie zgłaszam wniosek do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o rozważenie możliwości wyróżnienia pracy doktorskiej mgra Pawła Stępniaaka.

W załączeniu uzasadnienie wniosku o wyróżnienie pracy doktorskiej mgra Pawła Stępniaaka.



Dr hab. Bogusław Kryczka, prof. UŁ
Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii
Zakład Katalizy i Syntezy Organicznej
Ul. Tamka 12, 91-403 Łódź
Tel. 42-635 5802, e-mail: bkryczka@uni.lodz.pl



Łódź, 03.10.2014

**Rada Wydziału Chemii
Uniwersytetu Warszawskiego**

Wniosek

o wyróżnienie pracy doktorskiej mgra Pawła Stępnia, zatytułowanej:
*„Synteza i badanie właściwości kompleksotwórczych hybrydowych połączeń
cyklodekstryn z pochodnymi aminokwasów”*

Zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału o rozważenie możliwości przyznania wyróżnienia pracy doktorskiej mgra Pawła Stępnia pod wyżej podanym tytułem.

W uzasadnieniu tego wniosku podaję następujące argumenty:

- tematyka pracy plasuje się w nurcie najbardziej aktualnych i interesujących zagadnień interesujących szerokie grono specjalistów z zakresu chemii, fizyki, biologii i medycyny

- uzyskane w trakcie realizacji pracy wyniki mają istotne znaczenie poznawcze (wyjaśnienie wielu zagadnień związanych z rozpoznaniem molekularnym układów - modyfikowane cyklodekstryny i aminokwasy) jak i aplikacyjne (opracowanie dogodnych i skutecznych metod syntezy nowej grupy receptorów i wykazanie możliwości ich zastosowań do selektywnego rozpoznania aminokwasów)

- bardzo umiejętne wykorzystanie metod analitycznych, w tym głównie mikrokalorymetrii, do opisu właściwości i struktury cyklodekstrynowych kompleksów aminokwasów

Recenzowana praca doktorska napisana jest w sposób jasny i klarowny. Moim zdaniem Doktorant wykazał się walorami zdolnego i odpowiedzialnego badacza, potrafiącego określać problem badawczy, planować drogi jego rozwiązania i w sposób bardzo przystępny opisać uzyskane wyniki.

Szczególnym wyróżnikiem Doktoranta jest szeroka znajomość zagadnień z zakresu: chemii organicznej, chemii supramolekularnej, fizykochemicznych metod badawczych i analitycznych metod spektroskopowych.

Zaprezentowany w pracy bardzo bogaty materiał badawczy, stanowiący nowość w zastosowaniach tego typu pochodnych β -cyklodekstryny jako receptorów aminokwasów i wysoka wartość naukowa przedstawionych badań, upoważniają mnie do postawienia tego wniosku.

Z poważaniem

Bogusław Kryczka