



Prof. UAM dr hab. Artur R. Stefankiewicz

tel.: +48618291678; e-mail: ars@amu.edu.pl

Laboratorium Nanostruktur Funkcjonalnych

<http://arsgroup.amu.edu.pl>

Poznań, 28.02.2019

Recenzja rozprawy doktorskiej

Fluorescencyjne sensory, katenany i transportery anionów na bazie 1,8-diaminokarbazolu – synteza i badania właściwości

mgra Krzysztofa Bąka

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Krzysztofa Bąka została zrealizowana pod kierunkiem prof. dr hab. Tomasza Bauera oraz dra Michała Chmielewskiego na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, dotyczy wieloaspektowych badań układów supramolekularnych na bazie komponentu 1,8-diaminokarbazolowego. Celem pracy doktorskiej było opracowanie metod syntezy nowych receptorów i sensorów zawierających jednostkę 1,8-diaminokarbazolu oraz zbadanie efektywności otrzymanych architektur w selektywnym wiązaniu i transporcie cząsteczek anionów, ze szczególnym uwzględnieniem hydrofilowego jonu siarczanowego. Ponadto, celem pracy było opracowanie nowej, bezpośredniej metody badania transportu oksoanionów (karboksylanów, fosforanów organicznych) przez receptory oparte na 1,8-diaminokarbazolu.

Chemia supramolekularna anionów, pomimo już ponad 20 lat intensywnych badań realizowanych w wielu czołowych zespołach naukowych, nieustannie stawia przed chemikami nowe ambitne cele, których realizacja z roku na rok przybliża nas do pełnego zrozumienia skomplikowanych procesów zachodzących w układach naturalnych. Pomimo iż, otrzymano i scharakteryzowano ogromną ilość związków mogących efektywnie kompleksować cząsteczki anionów, selektywność tego procesu, zwłaszcza w warunkach wodnych, ciągle stanowi bardzo duże wyzwanie dla naukowców zajmujących się tą tematyką. Z drugiej strony, ogromny postęp w metodologii wielu procesów chemicznych spowodował zdecydowanie łatwiejszy dostęp do topologicznie nietrywialnych architektur m.in. katenanów, rotaksanów czy węzłów. Zbadanie efektywności takich struktur w selektywnym kompleksowaniu ściśle określonej cząsteczki z pewnością nadal stanowi jeden z najbardziej



Prof. UAM dr hab. Artur R. Stefankiewicz

tel.: +48618291678; e-mail: ars@amu.edu.pl

Laboratorium Nanostruktur Funkcjonalnych

<http://arsgroup.amu.edu.pl>

'gorących' obszarów badawczych. Jeszcze większym wyzwaniem wydaje się być aplikacja receptorów anionowych w skutecznym transporcie związanego 'ładunku' przez dwuwarstwy lipidowe. Praca doktorska mgr. Krzysztofa Bąka wpisuje się zatem idealnie w aktualnie panujący nurt badań w tej dziedzinie a przeprowadzone badania były słusznie ukierunkowane na jednoczesne rozwiązanie wszystkich wyżej wymienionych problemów badawczych.

Praca ma klasyczny układ, liczy ona 191 stron, przy czym na część literaturową przeznaczono 84 strony, dyskusję badań własnych zamieszczono na 107 stronach, z których 27 zawiera procedury syntetyczne i analizę fizykochemiczną otrzymanych w trakcie badań związków. Tekst zamyka spis 178 odnośników cytowanej literatury.

Część literaturowa jest w założeniu podporządkowana wspomnianym powyżej zadaniom badawczym, składa się z 7 rozdziałów i jednoznacznie wskazuje na znakomitą znajomość literatury mgra Krzysztofa Bąka z szeroko pojętej chemii supramolekularnej ze szczególnym uwzględnieniem tematyki efektywnej konstrukcji receptorów czy też sensorów anionu siarczanowego. Ponadto, w tej części pracy zawarto zgrabnie napisany tekst dotyczący metod transportu anionów przez dwuwarstwy lipidowe jak również krótki opis receptorów cząsteczek anionowych na bazie 1,8-diaminokarbazolu. Szczegółowy opis poszczególnych części wstępu literaturowego przez recenzenta nie jest konieczny, gdyż nadrzędną rolą tej części pracy doktorskiej jest logiczne przedstawienie aktualnego stanu wiedzy, jak również jasne sprecyzowanie głównych wyzwań naukowych stojących przed badaczami zainteresowanymi daną tematyką. Uważam jednak, iż warto podkreślić niezwykłą staranność z jaką przygotowana została ta część pracy. Rysunki, schematy, zakres cytowanych prac oraz ich opis został przygotowany doskonale. Doktorant logicznie poszegregował poszczególne podrozdziały wstępu literaturowego od tych najbardziej ogólnych obejmujących podstawowe aspekty chemii supramolekularnej przez charakterystykę anionów do opisu syntez i właściwości złożonych architektur typu katenan/rotaksan. Moją uwagę zwrócił również fakt, iż opis wyników zawartych w tej części pracy często spotykał się z krytycznym komentarzem ze strony Doktoranta, co świadczy o jego dużej dojrzałości naukowej. Podsumowując, część



Prof. UAM dr hab. Artur R. Stefankiewicz

tel.: +48618291678; e-mail: ars@amu.edu.pl

Laboratorium Nanostruktur Funkcjonalnych

<http://arsgroup.amu.edu.pl>

literaturowa, napisana jest jasnym i zwięzłym językiem, stanowi doskonałe wprowadzenie czytelnika do realizowanej przez Doktoranta problematyki badawczej.

Zasadniczą część rozprawy stanowi opis badań własnych Doktoranta. Ta część pracy podzielona jest na trzy główne sekcje. W pierwszej części programu badawczego Doktorant skoncentrował się na syntezie i badaniach właściwości fluorescencyjnych receptorów o topologii katenanu, zbudowanych na bazie 1,8-diaminokarbazolu. Po krótkim wstępie, Doktorant przedstawił metodologię syntetyczną dwóch prekursorów katenanów (oznaczonych jako P1 i P2), otrzymanych w reakcji sfunkcjonalizowanych kwasów karboksylowych z 1,8-diamino-3,6-dichlorokarbazolem. Projekt komponentów (oznaczonych jak 145 i 149) zawierających grupy karboksylowe, eterowe, aromatyczne i winylowe został bardzo dobrze przemyślany, gdyż poza dobrą rozpuszczalnością gwarantował utworzenie szeregu oddziaływań stabilizujących w zaplanowanym katenanie m.in. π - π , jak również pozwalał na 'zamknięcie' makrocykla w reakcji metatezy. Prekursory P1 i P2 zostały ostatecznie otrzymane w czterech etapach na dość dużą skalę (odpowiednio 2 g i 0.7 g) jak na ten rodzaj związków. Po przeprowadzeniu wstępnych testów potwierdzających efektywne kompleksowanie anionu siarczanowego przez oba prekursory w stechiometrii 2:1, kolejnym etapem była synteza katenanów. Ta część pracy, pomimo świetnie zaplanowanych i przeprowadzonych eksperymentów oraz dobrze przemyślanej struktury użytych komponentów, nieoczekiwanie okazała się być dość problematyczna. Początkowo przeprowadzone reakcje metatezy były albo nieskuteczne albo prowadziły do produktów innych niż oczekiwane katenany. W tym miejscu, należy pochwalić sposób podejścia Doktoranta do rozwiązywania napotkanych trudności syntetycznych. Bardzo metodycznie przeprowadził on szereg reakcji testowych, w różnych warunkach m.in. rozpuszczalnika, stężenia, temperatury czy rodzaju zastosowanego katalizatora. To pozwoliło ustalić optymalne warunki reakcji, które doprowadziły do otrzymania zaplanowanych katenanów z dobrymi wydajnościami wynoszącymi ok. 30%. Warty podkreślenia jest fakt, iż jest to pierwszy elektrycznie obojętny [2]katenan otrzymany w reakcji templatowanej siarczanem. Analiza katenanów została przeprowadzona w roztworze głównie za pomocą jedno- i dwu-wymiarowych widm NMR, które dość jasno wskazywały na otrzymanie pożądaných układów.



Prof. UAM dr hab. Artur R. Stefankiewicz

tel.: +48618291678; e-mail: ars@amu.edu.pl

Laboratorium Nanostruktur Funkcjonalnych

<http://arsgroup.amu.edu.pl>

Co prawda nie zostały one jednoznacznie potwierdzone widmem masowym ani badaniami rentgenografii strukturalnej. Być może warto byłoby dodatkowo wesprzeć analizę strukturalną tych związków poprzez przeprowadzenie eksperymentów dyfuzyjnych NMR w roztworze? Następnie Doktorant przeprowadził eksperymenty, które wykazały niezwykle wysoką efektywność otrzymanych katenanów w silnym kompleksowaniu anionów siarczanowych w mocno konkurencyjnych warunkach tj. DMSO + 10% H₂O. Sukcesywny dodatek anionów siarczanowych do katenanu spowodował w pierwszej kolejności powstanie kompleksu o stechiometrii 1:1 a następnie 1:2 (receptor:anion). Badania te były monitorowane za pomocą widm ¹H NMR, natomiast ze względu na silny charakter tworzących się adduktów supramolekularnych stałe wiązanie musiały zostać wyznaczone za pomocą spektroskopii UV-Vis. Doktorant przeprowadził eksperymenty, które nie tylko pozwoliły określić stałe trwałości utworzonych kompleksów ale również wykazały wysoką selektywność zaprojektowanych katenanów na siarczany objawiającą się m.in. silnym wzrostem fluorescencji (dwa pozostałe aniony użyte w tych badaniach to diwodorofosforanem oraz benzoesanen). Ostatnim niezwykle istotnym aspektem tych badań było wykazanie dynamicznego charakteru otrzymanych katenanów, których to podjednostki były odwracalnie modyfikowane poprzez aplikację templaty siarczanowego lub dodatku kwasu i zasady. To niezwykle znaczące osiągnięcie tej pracy, gdyż tego typu badania nie były wcześniej opisane. Natomiast aby w pełni pokazać potencjał otrzymanego systemu, Doktorant powinien przeprowadzić reakcję tzw. wymiany słabiej związanego 'ładunku' anionowego np. diwodorofosforanu na preferowany siarczan. Takie badania mogłyby stanowić istotne uzupełnienie tego niezwykle interesującego projektu.

Kolejnym etapem prac opisanych w dysertacji była synteza i zbadanie właściwości kompleksotwórczych liniowych receptorów na bazie 1,8-diaminokarbazolu. Hipoteza badawcza zakładała, iż połączenie za pomocą wiązań kowalencyjnych dwóch jednostek karbazolowych odpowiednio zaprojektowanym łącznikiem doprowadzi do otrzymania liniowych receptorów o podobnych właściwościach co wcześniej opisane [2]katenany, lecz ich synteza będzie tańsza i mniej czasochłonna. Uważam, że takie założenia były jak najbardziej słuszne i stanowiły naturalne rozwinięcie wcześniej podjętej tematyki badawczej. Doktorant



Prof. UAM dr hab. Artur R. Stefankiewicz

tel.: +48618291678; e-mail: ars@amu.edu.pl

Laboratorium Nanostruktur Funkcjonalnych

<http://arsgroup.amu.edu.pl>

przeprowadził syntezę niesymetrycznego komponentu karbazolowego, po czym zastosował chlorek diglikolu jako łącznik. Tak otrzymany receptor, został zbadany pod kątem efektywności w kompleksowaniu kilku anionów tj. siarczanu, diwodorofosforanu, benzoesu i chlorku. W toku badań ustalono, iż receptor tworzy silne kompleksy początkowo o stechiometrii 1:1, natomiast dodatek większej porcji cząsteczki anionów przesuwa równowagę reakcji w stronę tworzenia kompleksów 1:2 (receptor:anion). W tym miejscu chciałbym zapytać Doktoranta o dwa aspekty tych badań: 1) czy Doktorant brał pod uwagę, możliwość tworzenia innej topologii niż ta przedstawiona na schemacie 24 przy równomolowych ilościach obu komponentów, np. heliakalnego foldameru składającego się z dwóch cząsteczek liganda i dwóch anionów. Ponieważ nie przedstawiono widma MS a podobnego typu kompleks Doktorant uzyskał dla liniowego receptora L2 wydaje się, że taka możliwość powinna również być wzięta pod uwagę; 2) w jaki sposób sfera koordynacyjna anionów siarczanowych została 'zaspokojona' w kompleksie o stechiometrii 1:2. Kolejnym etapem prac były wyznaczenie stałych wiązań dla wyżej wspomnianych anionów, a uzyskane wartości potwierdziły preferencyjne wiązania anionów siarczanowych przez receptor liniowy L1, natomiast uzyskane wartości były ok. 2.5 razy niższe w porównaniu ze stałą uzyskaną dla katenanu K1. Również selektywność katenanu okazała się być lepsza. To świadczy o tym, iż liniowy receptor pomimo łatwiejszej drogi jego syntezy nie jest w stanie efektywnie konkurować z topologicznie znacznie bardziej złożonym katenanem. Czy Doktorant pokusiłby się o wyjaśnienie preferencyjnego kompleksowania anionów siarczanowych przez [2]katenan używając parametrów termodynamicznych? W kolejnej części pracy Doktorant przeprowadził analogiczne syntezy i analizy dla drugiego liniowego receptora, oznaczonego jako L2, który w przeciwieństwie do poprzednio omawianego zawierał sztywny łącznik pomiędzy jednostkami karbazolowymi. Tu analiza uzyskanych wyników była niejednoznaczna a stechiometria uzyskanych kompleksów zdecydowanie bardziej skomplikowana. Pomimo przeprowadzenia wielu analiz w roztworze oraz w ciele stałym w tym analizy rentgenograficznej monokryształu, można odnieść wrażenie, iż ta część pracy wymaga dalszych badań. Chciałbym natomiast jednoznacznie podkreślić, iż kontynuacja tej



Prof. UAM dr hab. Artur R. Stefankiewicz

tel.: +48618291678; e-mail: ars@amu.edu.pl

Laboratorium Nanostruktur Funkcjonalnych

<http://arsgroup.amu.edu.pl>

tematyki jest jak najbardziej wskazana, gdyż potencjał tego typu architektur supramolekularnych jest bardzo duży.

Ostatnim aspektem badań opisanych w pracy mgra Krzysztofa Bąka było opracowanie metody transportu anionów przez dwuwarstwy lipidowe za pomocą receptorów zawierających jednostki 1,8-diaminokarbazolu. Tę część pracy wykonano we współpracy z grupą prof. Roberto Quesady oraz Prof. Aleksandra Krosa. Doktorant w ramach prowadzonych badań wyselekcjonował popularny wskaźnik tj. lucygeninę jako cząsteczkę monitorującą transport anionów do jednowarstwowych liposomów typu LUV i GUV. Poprzez szereg analiz m.in. spektrofluorymetrycznych, konfokalnej mikroskopii fluorescencyjnej jak również $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ NMR, Doktorant wykazał, iż fluorescencja lucygeniny może być wygaszana także przez szereg oksoanionów, w tym przez biologicznie aktywne karboksylany oraz fosforany organiczne. Proces ten był możliwy dzięki niezwykle efektywnemu kompleksowaniu i transportowi szeregu anionów przez relatywnie proste receptory na bazie 1,8-diaminokarbazolu. Niebagatelnym osiągnięciem jest zastosowanie syntetycznego receptora w transporcie anionowej formy niezwykle popularnego leku tj. aspiryny przez dwuwarstwy lipidowe. Ponadto, Doktorant pokazał, że nawet tak skomplikowane struktury jak katenan K2 mogą być z powodzeniem zastosowane do transportu jonów nawet tak hydrofilowych jak siarczan. Powyższe wyniki pokazują nie tylko bardzo duży potencjał aplikacyjny zastosowanej metodologii lecz przede wszystkim niezwykle kreatywność Doktoranta i jego opiekunów naukowych Stwierdzam, że Doktorant w pełni wywiązał się z postawionych zadań, a swoje dokonania z pewnością zawdzięcza ogromnemu zaangażowaniu w proces badawczy. Tematyka pracy została dobrze pomyślana, przedstawiony materiał badawczy jest spójny i wartościowy naukowo a zakreślony plan badań był konsekwentnie realizowany przez mgra Krzysztofa Bąka.

Reasumując, chciałbym wskazać, że podjęte przez Doktoranta badania dotyczą najbardziej aktualnej problematyki w jednej z najprężniej rozwijających się dziedzin współczesnej nauki – chemii supramolekularnej anionów. Odzwierciedleniem nowości naukowej i efektywności sformułowanych zadań są już opublikowane prace w specjalistycznych i renomowanych czasopismach o cyrkulacji międzynarodowej jakimi z



Prof. UAM dr hab. Artur R. Stefankiewicz

tel.: +48618291678; e-mail: ars@amu.edu.pl

Laboratorium Nanostruktur Funkcjonalnych

<http://arsgroup.amu.edu.pl>

pewnością są *Chem. Commun.*, *Eur. J. Org. Chem.* czy *Org. Biomol. Chem.*. Mogę tylko przypuszczać, iż kolejne prace obejmujące rezultaty zawarte w tej dysertacji są w przygotowaniu, a wysoka jakość i nowatorskość uzyskanych danych dają nadzieję na opublikowanie ich w najbardziej prestiżowych czasopismach. Krótko mówiąc, serdecznie gratuluję Panu Krzysztofowi Bąkowi doskonałych wyników i życzę powodzenia w świetnie zapowiadającej się karierze naukowej.

Oceniając zawartość merytoryczną, jakość i poziom pracy naukowej uważam, że, omawiana rozprawa spełnia wszelkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę o Tytule i Stopniach Naukowych. Wnoszę więc do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie Pana mgra Krzysztofa Bąka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, ze względu na wysoką ocenę merytoryczną pracy doktorskiej, rzetelne i systematyczne wykonanie, nowatorskie rozwiązania i duże znacznie otrzymanych rezultatów w rozwoju chemii supramolekularnej anionów wnioskuję o jej wyróżnienie.

Poznań, dnia 28 luty 2019 roku

Artur Stefankiewicz