



Recenzja rozprawy doktorskiej

***Ramanowska aktywność optyczna związków biologicznie czynnych: od małych monomerów po złożone układy supramolekularne***

wykonanej przez Panią magister Monikę Annę Hałat

pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Małgorzaty Barańskiej  
w Zespole Obrazowania Ramanowskiego

w Zakładzie Fizyki Chemicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Małgorzaty Barańskiej w Zespole Obrazowania Ramanowskiego na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Zespół ten od wielu lat specjalizuje się w badaniach spektroskopowych różnych układów chemicznych jak również biologicznych oraz dysponuje najwyższej klasy wyposażeniem aparaturowym. Temat recenzowanej pracy doktorskiej doskonale wpisuje się w zakres badawczy Zespołu, jednocześnie wkraczając w obszary dotąd niezbadane gwarantuje wysoką wartość naukową prezentowanych w niej wyników. W przedstawionych przez Doktorantkę badaniach strukturalnych dla wybranych związków biologicznie czynnych na szczególną uwagę zasługuje określenie ich aktywności optycznej. Pomiar widm ramanowskiej aktywności optycznej dla złożonych układów supramolekularnych, które stanowiły jeden z głównych celów pracy, były zadaniem ambitnym i trudnym, dlatego w tym punkcie należy podkreślić również rolę promotora – Pani Profesor Małgorzaty Barańskiej, która dysponuje obszerną wiedzą i doświadczeniem w zakresie zaawansowanych spektroskopowych technik chiralooptycznych.

Recenzowana rozprawa liczy 178 stron maszynopisu podzielonego na dziewięć głównych rozdziałów ułożonych według typowego ale moim zdaniem optymalnego układu. Praca zawiera bogaty spis literatury składający się z 207 pozycji, które stanowią wartościowe źródła naukowe i w pełni pokrywają dyskutowane zagadnienia. Pracę rozpoczyna krótkie streszczenie w języku polskim i angielskim, w którym w sposób zwięzły i przejrzysty dowiadujemy się o głównym celu pracy, badanych układach, metodach eksperymentalnych i

najważniejszych osiągnięciach pracy. Treści zawarte we *Wstępie teoretycznym* doskonale przygotowują czytelnika do zrozumienia właściwości strukturalnych (w tym aktywności optycznych) badanych układów oraz uzyskanych wyników. W sposób przejrzysty i wyczerpujący przedstawiono wykorzystanie metod spektroskopowych (spektroskopii UV-Vis, rezonansowej spektroskopii ramanowskiej (RR), elektronowego dichroizmu kołowego (ECD) jak również wysoce zaawansowanej metody rezonansowo wzmocnionej ramanowskiej aktywności optycznej (RROA)) w badaniu chiralności na poziomie molekularnym i supramolekularnym dla wybranych węglowodanów i karotenoidów oraz w badaniu indukcji chiralności w układach supramolekularnych zbudowanych z achiralnych cząsteczek domieszkowanych związkami chiralnymi. We *Wstępie* znalazł się również oddzielny rozdział poświęcony procesowi agregacji prowadzącemu do rezonansowego wzmocnienia ramanowskiej aktywności optycznej, tzw. efektowi AIRROA, który w roku 2016 został po raz pierwszy opisany przez prof. Barańską i jej współpracowników.

Jako główny cel w IV rozdziale pracy Doktorantka postawiła sobie analizę aktywności optycznej oraz struktury dla małych cząsteczek chiralnych jak również dla złożonych układów o supramolekularnej chiralności. Kolejnym celem było przybliżenie procesu indukcji chiralności w wybranych układach supramolekularnych oraz pogłębienie aktualnego stanu wiedzy na temat indukowanego agregacją rezonansowego wzmocnienia ROA. W moim przekonaniu, każdy z wytyczonych celów został w pełni zrealizowany.

W *Części eksperymentalnej* pracy Doktorantka przedstawiła wyczerpujący opis preparatyki badanych układów oraz metodyki pomiarów spektroskopowych. Należy w tym punkcie zaznaczyć, że jedna z głównych metod badawczych, jaką Doktorantka wykorzystywała w swych badaniach to technika RROA, która wykracza daleko poza standardowe pomiary spektroskopowe i wymaga od osoby wykonującej pomiary i interpretującej otrzymane wyniki głębokiej wiedzy popartej doświadczeniem. Z przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej, mogę wnioskować, że Doktorantka doskonale opanowała techniki pomiarowe i zastosowała je precyzyjnie. Wysoka jakość otrzymanych wyników i ich szczegółowa interpretacja znalazły uznanie w opublikowanych z udziałem Doktorantki, trzech artykułach naukowych w renomowanych międzynarodowych czasopismach naukowych.

Rozdział *Wyniki i dyskusja* przedstawia w sposób systematyczny badania strukturalne ze szczególnym uwzględnieniem aktywności optycznej poszczególnych klas związków. Pierwszym etapem badań Doktorantki była analiza rezonansowych widm ramanowskich i widm ROA dla kolejno pentoz (D-rybozy i 2-deoksy-D-rybozy), heksoz (D-glukozy i 2-deoksy-D-glukozy), disacharydów (D-maltozy i D-sacharozy), trisacharydów (D-rafinozy) oraz  $\gamma$ -cyklodekstryny i glikogenu jako przykładu polisacharydów. Uzyskane

wyniki pozwoliły uzupełnić oraz usystematyzować obecny stan wiedzy na temat struktury węglowodanów w roztworach wodnych. Doktorantka podkreśliła istnienie markerów spektroskopowych charakterystycznych dla każdej z przebadanych grup związków, na podstawie których podjęła próbę określenia rodzaju i formy pierścienia cukrowego, obecności anomerów  $\alpha$  i  $\beta$ , jak również konfiguracji wiązania glikozydowego czy konfiguracji absolutnej centrum anomerycznego. Z drugiej strony podkreśliła trudności w interpretacji widm ROA dla wodnych roztworów węglowodanów gdzie z powodu zmiennej i zależnej od wielu czynników zewnętrznych struktury cząsteczek cukrowych obserwuje się obecność licznych form i równowag.

W kolejnej części pracy Doktorantka na podstawie badań UV-Vis, ECD, RR i RROA przedstawiła szczegółową analizę struktury i właściwości chiralnoptycznych supramolekularnych agregatów zeaksantyny, która w formie monomerycznej jest chiralnym ksantofilem. Do najważniejszych w tej części pracy osiągnięć zaliczam wykazanie, że chiralność monomeru zeaksantyny na poziomie molekularnym determinuje rodzaj supramolekularnej chiralności agregatu. Doktorantka wykazała, że w uwodnionych rozpuszczalnikach organicznych ten sam enancjomer może budować dwa typy agregatów, zarówno H jak i J, ale ich helisowość, tzn. kierunek skrętu helisy, pozostaje ta sama. Należy również wspomnieć, że dla agregatów J zeaksantyny udało się zarejestrować efekt AIRROA.

Kolejnym ważnym i w mojej opinii bardzo interesującym zagadnieniem, którego realizacji podjęła się Doktorantka, był opis procesu indukcji chiralności na poziomie supramolekularnym w agregatach zbudowanych z mieszaniny achiralnych i chiralnych monomerów. Motywacją do rozpoczęcia tego typu badań były naturalne kryształy korotenoidowe, które pomimo dominacji w ich składzie cząsteczek achiralnych, wykazują silną aktywność optyczną rejestrowaną na widmie ECD w postaci intensywnych dwuznakowych efektów Cottona. W celu wyjaśnienia tego zjawiska Doktorantka poddała badaniom chiralnoptycznym szereg modelowych układów otrzymanych zgodnie z tzw. regułą „sierżanta i żołnierzy”, gdzie chiralny związek jako „sierżant” kontrolował achiralne cząsteczki „żołnierzy”. Do badań wybrała układy o następującym składzie:  $\beta$ -karoten (achiralny)/ $\alpha$ -karoten (chiralny),  $\beta$ -karoten (achiralny)/astaksantyna (chiralna) oraz  $\beta$ -karoten deuterowany (achiralny)/astaksantyna (chiralna). Za najważniejsze osiągnięcie tej części pracy uważam wykazanie, że rola chiralnych cząsteczek „sierżanta” sprowadza się do indukcji przez nie aktywności optycznej na poziomie supramolekularnym agregatu a achiralne związki „żołnierzy” określają kierunek skrętności helisy układu. Należy również zwrócić uwagę, że i tym razem dla wszystkich mieszanych układów modelowych zarejestrowano efekt AIRROA.

W ostatniej części badań Doktorantka sprostowała kolejnym wyzwaniom eksperymentalnym, które stanowiły skomplikowane i duże w rozmiarach supramolekularne systemy agregatów achiralnych cząsteczek

kantaksantyny w obecności chiralnych cząsteczek kwasu hialuronowego czy heparyny. Na ich podstawie ponownie postawiła wniosek, mówiący że agregacja achiralnych cząsteczek w obecności chiralnych związków prowadzi do indukcji chiralności na poziomie supramolekularnym powstałego agregatu.

Pełną prezentację otrzymanych wyników zamyka rozdział *Podsumowanie*, w którym Autorka pracy w sposób przejrzysty i wyczerpujący podsumowuje najważniejsze osiągnięcia pracy. W mojej opinii jedynie podsumowanie badań nad szeregiem wodnych roztworów węglowodanów mogło zostać bardziej rozbudowane. Dyskusja o uniwersalności prezentowanych markerów spektroskopowych, które w pracy charakteryzowane były głównie w kontekście analizy strukturalnej i chiralooptycznej dla konkretnej grupy związków cukrowych, stanowiłaby cenne źródło informacji w badaniach nad kolejnymi układami cukrowymi.

Wartość merytoryczną, sposób przeprowadzenia pomiarów oraz analizę i interpretację wyników oceniam bardzo wysoko. Nie mam istotnych krytycznych uwag do tych części, a te które poniżej przedstawię z dużym prawdopodobieństwem mogą wynikać z błędów redakcyjnych, które przy redagowaniu obszernych prac doktorskich często są nieuniknione.

Strona 90. W ostatnim zdaniu jest mowa o ujemnym sygnale przy  $455\text{ cm}^{-1}$ , z rysunku 6.1 i tabeli 4 wynika, że położenie tego pasma dla D-rybozy powinno być przy  $445\text{ cm}^{-1}$ .

Strona 98. Przy opisie widma RS D-maltozy, Doktorantka wspomina o przyroście intensywności pasma przy  $1332\text{ cm}^{-1}$ , podczas gdy na widmie D-maltozy (rysunek 6.3) pasmo to ma swoje maksimum przy  $1342\text{ cm}^{-1}$ .

Strona 99. W pierwszym zdaniu drugiego akapitu jest mowa o paśmie z maksimum przy  $999\text{ cm}^{-1}$ , podczas gdy na widmie ROA dla D-maltozy (rysunek 6.3) pasmo to leży przy  $990\text{ cm}^{-1}$ .

Praca napisana jest poprawnym i przejrzystym językiem, bardzo staranna pod względem graficznym a drobne błędy edytorskie, których kilka przykładów wymienię poniżej, nie pomniejszają jej wartości naukowej.

Użycie niewłaściwej formy wyrazów pojawiło się na stronie 99 „Zakres niskich liczb falowych...”, na stronie 100 „...”, obserwane również w przypadku widma ROA...”, na stronie 102 „...dla widma wodnego roztworu D-izomaltozy.”, itd.

Na rysunku 9.2 jest „DFM”, chyba powinno być DMF?

Użycie „skrótów myślowych”, jako przykład, na stronie 120 „Otrzymane widma RROA zawierają przede wszystkim chiralne pasma związane z ...” oraz na stronie 151 „...była obserwacja chiralnego pasma HOOP na widmie RROA...”

Objaśnienia stosowanych skrótów powinny pojawić się tylko w miejscu ich pierwszego użycia a w dalszej części tekstu należy konsekwentnie z nich korzystać. Wielu stosowanym w pracy skrótom wielokrotnie towarzyszą powtarzające się ich objaśnienia, np. dla glikozaminoglikanu o skrótce GAG, ten sam skrót z objaśnieniem można znaleźć we *Wstępie* jak i w *Podsumowaniu*.

Wymienione powyżej drobne uwagi nie wpływają na bardzo wysoką ocenę przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej. Pani magister Monika Hałat, przedstawiła bardzo wartościową rozprawę doktorską, w której zawarła imponującą ilość wartościowych wyników, poparła je dobrze udokumentowaną i trafną analizą. Potwierdzeniem tego jest dotychczasowy dorobek publikacyjny Doktorantki, na który składają się trzy prace opublikowane w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej o sumarycznym współczynniku oddziaływania IF z roku 2019 nieco powyżej 18, w których Pani Hałat jest pierwszym autorem. Poza pracami bezpośrednio związanymi z tematem pracy doktorskiej Pani Hałat jest również współautorem trzech innych publikacji i rozdziału w monografii. Uważam, że przedstawiona praca doktorska Pani Moniki Hałat z nadmiarem spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim. Gratulując tak wartościowych osiągnięć uprzejmie proszę o rozważenie mojego wniosku o uznanie prezentowanej rozprawy doktorskiej jako wyróżniająca.

Podsumowując, stwierdzam, że złożona rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016 r. poz. 882 i 1311) oraz art. 179 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r., przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669) i wnioskuję o dopuszczenie Pani Moniki Hałat do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

