



UNIwersYTET  
WARSAWski

Wydział Chemii



Warszawa, 17.08.2020

prof. dr hab. Andrzej Kudelski  
Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego  
email: akudel@chem.uw.edu.pl  
tel: +22-55 26 401

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Moniki Anny Hałat o tytule:  
„Ramanowska aktywność optyczna związków biologicznie czynnych:  
od małych monomerów po złożone układy supramolekularne”  
wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Małgorzaty Barańskiej**

Przedłożona mi do recenzji praca doktorska mgr Moniki Anny Hałat została wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w grupie prof. dr hab. Małgorzaty Barańskiej. Praca liczy 178 stron i zawiera rozdziały: streszczenie pracy w języku polskim i angielskim, wstęp teoretyczny, opis celu prowadzonych badań, opis wykorzystanych metod spektroskopowych i stosowanych procedur przygotowania próbek, opis uzyskanych wyników i ich dyskusja, rozdział podsumowujący, spis cytowanej literatury oraz spis prac własnych.

Celem pracy doktorskiej magister Hałat była analiza przy wykorzystaniu zaawansowanych technik spektroskopii chiralooptycznych struktury kilku wybranych układów chiralnych. Mgr Hałat oparła analizę struktury badanych układów na zmierzonych widmach ramanowskiej aktywności optycznej (ROA) i elektronowego dichroizmu kołowego (ECD). W pracy przedstawiano również standardowe widma ramanowskie i standardowe widma absorpcji w zakresie UV-VIS. Warto podkreślić, że stosowana przez mgr Hałat spektroskopia ROA jest techniką bardzo trudną eksperymentalnie. Intensywność sygnału w widmie ramanowskiej aktywności optycznej jest kilka rzędów wielkości mniejsza niż intensywność sygnału w odpowiednim widmie Ramana. Z tego powodu akumulacja standardowego widma ROA (w przypadku pomiarów, w których nie pojawia się wzmocnienie rezonansowe) trwa często kilkanaście lub nawet kilkadziesiąt godzin. Z

doświadczeń recenzenta wynika, że wymagany jest również ciągły i pracochłonny nadzór nad spektrometrem – w wyniku wystąpienia nawet bardzo drobnych przesunięć w ustawieniu elementów optycznych można uzyskać fałszywe widma ROA. Dlatego też, na początku swojej recenzji chciałbym podkreślić, że zmierzenie tak dużej liczby dobrej jakości widm ROA pokazanych w pracy doktorskiej mgr Hałat jest już samo w sobie znacznym osiągnięciem.

Bezpośrednio po streszczeniu pracy doktorskiej umieszczony został obszerny wstęp teoretyczny, w którym znajduje się między innymi krótkie wprowadzenie do metod spektroskopowych i przedstawienie podstawowych informacji o chiralności cząstek i układów supramolekularnych. Do wstępu teoretycznego nie mam istotnych uwag, choć znalazłem kilka drobnych pomyłek / niejasnych fragmentów tekstu, na przykład:

- we wzorze 1.1 (patrz strona 13), który definiuje absorbancję, przed logarytmem brakuje znaku minus lub też należy zamienić miejscami I i I<sub>0</sub>,

- regułą mówiącą o dozwolonej zmianie składowej z-owej orbitalnego momentu pędu (koniec strony 13, początek strony 14) proponuję sformułować bardziej ściśle,

- na stronie 18 mgr Hałat napisała: *„Rozpraszanie światła ma charakter dwufotonowy i opiera się na zachodzących, niemal jednocześnie, dwóch procesach jednofotonowych: absorpcji fotonu wzbudzającego oraz spontanicznej emisji fotonu rozproszonego (po około 10<sup>-4</sup> sek.)”* Byłbym bardzo wdzięczny gdyby mgr Hałat w trakcie publicznej obrony swojej pracy doktorskiej podała źródło gdzie znalazła taką wartość (według mnie niezgodną ze stanem faktycznym) czasu opóźnienia „aktu emisji” w stosunku do „aktu absorpcji” w trakcie powstawania nieelastycznie rozproszonego fotonu,

- na stronie 74 mgr Hałat napisała: kwas hialuronowy *„posiada dużą masę cząsteczkową, sięgającą od 10<sup>3</sup> do 10<sup>4</sup> kDa o długości w zakresie 2-25 mm”*. Byłbym bardzo wdzięczny za wyjaśnienie o jakiej długości jest w tym zdaniu mowa.

Opis uzyskanych wyników mgr Hałat rozpoczęła od omówienia widm ROA wodnych roztworów kilku wybranych mono-, di-, tri- oligo- oraz polisacharydów. Warto podkreślić, że dla wielu układów są to pierwsze opisane w literaturze widma ROA, zaś dla innych układów udało się uzyskać widma o znacznie lepszej jakości niż widma, które dotychczas były dostępne w literaturze. Ta część doktoratu mgr Hałat pozwoliła między innymi na weryfikację poprzednio opisanych w literaturze markerów spektroskopowych dla tego typu związków.

W drugim rozdziale poświęconym prezentacji uzyskanych wyników eksperymentalnych przedstawiono i przeanalizowano widma ECD i ROA różnych supramolekularnych agregatów zeaksantyny. W tym rozdziale mgr Hałat pokazała, między

innymi, że enancjomer (3R,3'R) zeaksantyny tworzy w uwodnionych rozpuszczalnikach organicznych agregaty o helisie prawoskrętnej (zarówno agregaty H jak i J), podczas gdy enancjomer zeaksantyny (3S,3'S) tworzy agregaty o helisie lewoskrętnej.

W trzecim rozdziale poświęconym na opis uzyskanych wyników mgr Hałat przedstawiła widma chiralooptyczne mikrokryształów karotenoidów zbudowanych w około 95% z achiralnego  $\beta$ -karotenu i w około 5% z chiralnych karotenoidów ( $\alpha$ -karotenu i luteiny). Stwierdzono, że pomimo relatywnie niewielkiej zawartości komponentu chiralnego mierzone chiralooptyczne widma ECD i ROA są intensywne. Sugeruje to, że dla tych układów nastąpił proces indukcji chiralności cząsteczek  $\beta$ -karotenu przez obecne w mikrokryształach niewielkiej ilości składników chiralne. W celu potwierdzenia tej hipotezy otrzymano kilka modelowych agregatów z różnych karotenoidów achiralnych i chiralnych. W tych przypadkach również zaobserwowano analogiczny efekt: dodatek niewielkiej ilości komponentu chiralnego powodował uzyskiwanie intensywnych widm ECD i ROA. Oznacza to, że dodatek nawet relatywnie niewielkiej ilości komponentu chiralnego do „matrycy” achiralnej może prowadzić do tworzenia chiralnych układów zbudowanych w znacznym stopniu z achiralnych bloków budulcowych. Jest to według mnie najciekawsze osiągnięcie przedstawione w ocenianej pracy doktorskiej.

W czwartym rozdziale poświęconym na opis uzyskanych wyników i ich dyskusję, przedstawiono między innymi wyniki dla układów supramolekularnych zbudowanych z achiralnych cząsteczek kantaksantyny i chiralnych polisacharydów. Mgr Hałat stwierdziła, że z samych achiralnych cząsteczek kantaksantyny tworzą się achiralne agregaty, podczas gdy agregat utworzony w obecności chiralnego polisacharydu może być chiralny. Mgr Hałat pokazała również, że sygnał ECD dla tak tworzonego agregatu pojawia się dopiero po pewnym czasie od zmieszania roztworu kantaksantyny i chiralnego polisacharydu i że widma ECD zarejestrowane dla układów kantaksantyna – hialuronian sodu oraz kantaksantyna – heparyna pochodzą tylko od zagregowanych cząsteczek achiralnego ksantofilu jakim jest kantaksantyna.

Do eksperymentów przeprowadzonych przez mgr Hałat i do interpretacji uzyskanych przez nią wyników nie mam żadnych istotnych uwag merytorycznych – w tym miejscu warto podkreślić, że ogromna większość prezentowanych w pracy doktorskiej wyników została już zweryfikowana przez recenzentów wiodących czasopism naukowych, o czym bardziej szczegółowo napiszę w dalszej części mojej recenzji. Byłbym jednak wdzięczny gdyby mgr Hałat w czasie publicznej obrony swojej pracy doktorskiej wyjaśniła dlaczego podaje położenie pasm ramanowskich z tak dużą dokładnością, co można stwierdzić na przykład na

podstawie lektury tego zdania ze strony 165: „Dla obu układów supramolekularnych ZXT zaobserwowano przesunięcie pasma  $\nu_1$  w kierunku niższych liczb falowych względem widma monomeru – dla agregatów H o  $5\text{ cm}^{-1}$  oraz dla agregatów J o  $4\text{ cm}^{-1}$ ”, podczas gdy rozdzielczość spektralna wykorzystywanego przez mgr Hałat spektrometru ramanowskiego (de facto spektrometru ROA) ChiralRaman-2X™ wynosi tylko  $7\text{ cm}^{-1}$  (patrz strona 80).

W pracy znalazłem pewną liczbę literówek i innych drobnych błędów językowych (nieraz prowadzących do napisanie niepasującej do danego zdania formy gramatycznej danego wyrazu), których nie warto jednak wymieniać ponieważ te drobne niedociągnięcia w niczym nie przeszkadzały mi w lekturze pracy. Na koniec chciałbym podkreślić wspaniałą jakość zamieszczonych w pracy rysunków – strona graficzna tej pracy jest według mnie na najwyższym poziomie.

Pracę doktorską mgr Hałat oceniam bardzo wysoko. Nie mam wątpliwości, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną kandydatki w zakresie chemii, tak więc, przedstawiona rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016 r. poz. 882 i 1311) jak również art. 179 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669). W mojej ocenie wiele wyników uzyskanych przez mgr Hałat wnosi rzeczywisty wkład w lepsze zrozumienie układów chiralnych. Na przykład, w moim odczuciu bardzo cenna jest obserwacja, że dla mikrokryształów karotenoidów zbudowanych w około 95% z achiralnego  $\beta$ -karotenu i w około 5% z chiralnych karotenoidów ( $\alpha$ -karotenu i luteiny) mierzone chiralooptyczne widma ECD i ROA są intensywne, co oznacza, że dodatek relatywnie niewielkiej ilości komponentu chiralnego do „matrycy” achiralnej może prowadzić do tworzenia chiralnych układów zbudowanych w znacznym stopniu z achiralnych bloków budulcowych. Warto podkreślić, że wyniki te zostały opublikowane w jednym z najbardziej prestiżowych na świecie czasopism chemicznych, tj. *Angewandte Chemie International Edition*, o współczynniku oddziaływania  $IF=12,959$ , co również potwierdza bardzo dużą wartość naukową tego osiągnięcia. Mgr Hałat jest pierwszą autorką tej publikacji. Część pozostałych wyników uzyskanych w trakcie realizacji pracy doktorskiej mgr Hałat opublikowała również jako pierwsza współautorka w dwóch innych bardzo dobrych czasopismach naukowych: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* (o współczynniku oddziaływania  $IF=3,232$ ) i *Journal of Raman Spectroscopy* (o

współczynnika oddziaływania  $IF=2,000$ ). Poza wymienionymi powyżej publikacjami bezpośrednio związanymi z pracą doktorską, mgr Hałat jest także współautorką 3 innych publikacji w bardzo dobrych czasopismach międzynarodowych oraz rozdziału w monografii wydanej przez prestiżowe wydawnictwo Springer. Osiągnięcia naukowe mgr Hałat są więc zdecydowanie wyróżniające jak na obecny etap jej kariery naukowej. Dlatego też, jeśli mgr Hałat spełniła również inne warunki wymagane do uzyskania wyróżnienia pracy doktorskiej, z pełnym przekonaniem występuję do Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Uniwersytetu Jagiellońskiego o wyróżnienie pracy doktorskiej magister Moniki Anny Hałat.



prof. dr hab. Andrzej Kudelski