

## RECENZJA

pracy doktorskiej magister Eweliny Wielgus pt. „Zastosowanie spektrometrii mas w badaniach wybranych chiralnych połączeń heterocyklicznych”, wykonanej w Środowiskowym Laboratorium Badań Fizykochemicznych Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, pod kierunkiem prof. dr. hab. Marka J. Potrzebowskiego (promotor pomocniczy: dr Marek Sochacki)

Spektrometria mas jest obecnie jedną z najważniejszych metod analitycznych, stosowanych nie tylko w chemii, ale i wielu innych dziedzinach nauki. Ma też ogromne znaczenie praktyczne jako metoda badania czystości produktów codziennego użytku oraz analizy zanieczyszczeń środowiska. Szczególnie ważną rolę spektrometria mas odgrywa w chemii organicznej i bioorganicznej, gdzie służy do identyfikacji związków znanych oraz – jako metoda pomocnicza – do ustalania struktury cząsteczek związków nowych. Nowoczesne metody jonizacji, uzupełnione metodami kontrolowanej fragmentacji i dokładnego pomiaru masy jonów, pozwalają badać praktycznie dowolne związki organiczne, nawet o bardzo złożonych cząsteczkach. Praca doktorska mgr Wielgus dotyczy bardzo interesującego aspektu zastosowań spektrometrii mas w analizie związków organicznych, jakim są badania związków, których cząsteczki są chiralne. W szczególności, w sytuacji gdy cząsteczka zawiera co najmniej dwa centra stereogeniczne, bardzo ważnym zagadnieniem jest rozróżnianie diastereoizomerów. Wybór tematu pracy doktorskiej mgr Wielgus uważam więc za w pełni uzasadniony.

Cele swojej pracy Doktorantka przedstawiła w zwięzłym rozdziale zatytułowanym „Cel i zakres pracy”. Pracując w Środowiskowym Laboratorium Badań Fizykochemicznych Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN, współpracowała ona z różnymi zespołami naukowymi w ramach różnych projektów badawczych. Do swojej pracy doktorskiej wybrała trzy z nich. Pierwszym było zastosowanie spektrometrii mas do rozróżniania diastereoizomerycznych pochodnych 1,2-diaminoalkanofosfonianów dietylu, co wymagało głębokiej analizy procesów fragmentacji jonów molekularnych tych związków. Drugi temat dotyczył analizy porównawczej procesów fragmentacji pochodnych azydometylo- i hydroksymetylooksazolidynonu. Wreszcie w ramach trzeciego tematu mgr Wielgus zamierzała wykorzystać spektrometrię mas jako jedną z metod badania produktów reakcji w fazie stałej wybranych krótkich peptydów. Każdy z trzech tematów jest interesujący i warty zbadania, aczkolwiek jedynym elementem, który wiąże je ze sobą, jest zastosowanie różnych technik spektrometrii mas. W związku z tym trudno jest uznać pracę za w pełni spójną tematycznie. Ta niespójność przejawia się również tym, że każda z trzech części wyników własnych jest poprzedzona krótkim przeglądem literaturowym, dotyczącym tylko tej części. Takie zróżnicowanie tematyki miało też swoje pozytywne strony, ponieważ

umożliwiło Doktorantce zaprezentowanie swoich umiejętności w szerszym zakresie zagadnień współczesnej chemii.

Wyniki swoich badań mgr Wielgus opisała w liczącej 157 stron rozprawie. Składa się ona z części typowych dla tego rodzaju opracowań. Rozpoczynają ją: wykaz dorobku naukowego Doktorantki, wykaz akronimów i skrótów stosowanych w pracy oraz krótkie wprowadzenie w tematykę rozprawy. Następne 42 strony zajmuje część literaturowa. W jej pierwszej części mgr Wielgus opisała najczęściej stosowane obecnie metody jonizacji i analizatory masy. Nie ustrzegła się przy tym, niestety, kilku istotnych błędów. Wymienię tutaj pominięcie techniki desorpcji laserowej (LDI) przy omawianiu metod analizy powierzchni ciał stałych (str. 11) oraz niepoprawny schemat źródła jonów ESI (rys. 2 na str. 14) – pominięto w nim bardzo istotną przerwę pomiędzy kapilarą a skimerem. Przy okazji: jest to niepoprawnie przerysowany schemat oryginalnego, obecnie już niestosowanego źródła ESI Johna Fenna,. Druga, znacznie ciekawsza część przeglądu literatury, jest poświęcona zastosowaniom spektrometrii mas do rozróżniania enancjomerów i diastereoizomerów. Jest to solidnie opracowany przegląd, opublikowany już przez Doktorantkę w „Wiadomościach Chemicznych”, w którym znalazłem tylko nieliczne błędy. Najważniejszy z nich dotyczy opisu efektów izotopowych, wpływających na względną intensywność pików odpowiadających jonom kompleksów z udziałem związku deuterowanego i niedeuterowanego (strony 22 i 23). Autorka rozprawy błędnie nazywa obserwowany efekt kinetycznym efektem izotopowym, podczas gdy jest to w tym przypadku efekt termodynamiczny, czyli wpływający na położenie stanu równowagi. W oryginalnych publikacjach, które Doktorantka cytuje, nigdzie nie jest użyte słowo „kinetyczny”. Podsumowując tę część rozprawy należy stwierdzić, że spełnia ona wszystkie wymagania stawiane tego rodzaju opracowaniom.

Główną część rozprawy stanowi rozdział „Wyniki badań i ich dyskusja”, zajmujący 73 strony. Zgodnie z przyjętym planem pracy, jest on podzielony na trzy części poświęcone trzem zagadnieniom, które badała Doktorantka. W pierwszej z nich mgr Wielgus opisuje wyniki analizy rejestrowanych techniką EI widm masowych par diastereoizomerycznych *cis* i *trans* podstawionych w pozycji C5 grupami aryłowymi pochodnych (2-tioksimidazolidyn-4-ylo)fosfonianów dietylu w formie niezabezpieczonej oraz posiadających w pozycji N1 grupę *tert*-butoksykarbonylową. W celu uściślenia interpretacji wyników, Doktorantka zbadala także fragmentację związków podstawionych w wybranych pozycjach atomami deuteru. W celu ustalenia ścieżek fragmentacji badanych związków, a w szczególności scharakteryzowania różnic, które można powiązać z ich konfiguracją względną, mgr Wielgus wykorzystala zarówno analizę standardowych widm EI, jak i dokładne pomiary masy jonów oraz sprzężone techniki skanowania, pozwalające na jednoznaczne ustalenie schematów fragmentacji i zaproponowanie wzorów jonów fragmentacyjnych. Wyniki doświadczalne Doktorantka uzupełniła wynikami obliczeń entalpii swobodnej jonów molekularnych izomerów *cis* i *trans* związków bez grupy *tert*-butoksykarbonylowej na atomie azotu. Ta część rozprawy jest napisana poprawnie i wnioski wyciągnięte przez Autorkę są – z jednym wyjątkiem – logiczne. O ich jakości świadczy fakt, że zostały opublikowane w dwóch artykułach naukowych zamieszczonych w bardzo dobrych czasopismach z dziedziny spektrometrii mas. Moje wątpliwości wzbudza jedynie stwierdzenie znajdujące się na str. 65.

Doktorantka pisze, że ponieważ udział jonu molekularnego izomeru *cis* w całkowitym prądzie jonowym wynosi od 6,4% do 8,4%, a dla izomeru *trans* ta wartość wynosi od 1,9% do 3,8%, to jon molekularny izomeru *trans* jest trwalszy. Moim zdaniem jest dokładnie na odwrót: im wyższy jest udział jonu molekularnego w całkowitym prądzie jonowym, tym ten jon jest trwalszy. W skrajnych sytuacjach, kiedy w ogóle nie obserwuje się sygnału jonu molekularnego w widmie, czyli jego udział w całkowitym prądzie jonowym jest równy 0, świadczy to o jego bardzo niskiej trwałości, i odwrotnie, w sytuacji gdy jon molekularny dominuje w widmie, znaczy to, że jest on bardzo trwały i nie ulega łatwo fragmentacji. Oczywiście dotyczy to widm rejestrowanych w tych samych warunkach. Prawdopodobnie do przedstawionej w pracy konkluzji skłoniły Doktorantkę wyniki obliczeń, które wskazują na większą trwałość termodynamiczną jonu molekularnego izomeru *trans*. Należy jednak pamiętać, że trwałość ta nie dotyczy procesów fragmentacji, gdzie decyduje kinetyka. Oczekuję, że podczas obrony pracy Doktorantka ustosunkuje się do tego zarzutu. Przy okazji, na str. 67 jest niespójność: w tekście podane jest, że w obliczeniach DFT została wykorzystana baza funkcyjna 6-311G(d,p), a w Tabeli 6 podano, że geometrię jonów obliczano z wykorzystaniem bazy 6-31G(d), a energię z wykorzystaniem bazy 6-311+G(2d,p).

Druga część wyników własnych dotyczy porównania widm fragmentacyjnych dwóch półproduktów w syntezie linezolidu. Są to związki, w których w jednym z nich znajduje się grupa hydroksylowa, a w drugim grupa azydkowa. Od razu należy stwierdzić, że ta część nie pasuje ani do tytułu ani do pozostałych dwóch części rozprawy. Chiralność badanych związków nie ma żadnego wpływu na fragmentację ich jonów molekularnych, tak więc jest to po prostu badanie wpływu, jaki ma zamiana grupy hydroksylowej na azydkową na przebieg fragmentacji. Jeśli spojrzymy na tę część rozprawy z tego punktu widzenia, to należy stwierdzić, że Autorka poprawnie rozwiązała postawiony problem. Proponowane schematy fragmentacji są logiczne, bardzo słusznie została także przedyskutowana sprawa rozkładu termicznego azydku, który może poprzedzać fragmentację.

W ostatniej części rozprawy mgr Wielgus opisuje wyniki uzyskane w trakcie badania reakcji w cieple stałym wybranych, małych peptydów za pomocą różnych technik analitycznych, takich jak spektrometria mas, magnetyczny rezonans jądrowy w cieple stałym oraz rentgenowska analiza strukturalna, różnicowa kalorymetria skaningowa i analiza termogravimetryczna. Reakcje przebiegające w fazie stałej są obecnie bardzo ważnym tematem badań, zwłaszcza jeśli dotyczą związków mających zastosowanie jako leki. W pierwszej części tego fragmentu swojej pracy Doktorantka kontynuowała rozpoczęte wcześniej badania reakcji w cieple stałym tripeptydu Tyr-Ala-Phe zawierającego zarówno L- jak i D-alaninę. Wykorzystując próbki użyte wcześniej do badań widm NMR w cieple stałym, w tym także związki znaczone izotopowo, wykazała, że podczas ogrzewania tych peptydów w cieple stałym tworzą się odpowiednie diketopiperazyny, a reakcja przebiega wewnątrzcząsteczkowo. W szczególności udowodnienie wewnątrzcząsteczkowego mechanizmu tworzenia diketopiperazyn stanowi przykład bardzo eleganckiego wykorzystania spektrometrii mas, wspomaganą znaczeniem izotopowym. Wyniki te zostały ostatnio opublikowane w prestiżowym czasopiśmie *J. Phys. Chem. B*. Badania reakcji peptydów w cieple stałym mgr Wielgus kontynuowała na przykładach dipeptydów, w tym popularnego

słodzika – aspartamu oraz peptydów Tyr-Ala i Phe-Phe. Również w przypadku tych związków w wyniku ogrzewania powstają odpowiednie diketopiperazyny. Dodatkowym elementem pracy była próba otrzymania nanorurek lub nanowłókien z aspartamu i peptydu Tyr-Ala (dla peptydu Phe-Phe takie formy były znane), która zakończyła się sukcesem w przypadku aspartamu.

Wyniki własne zamyka siedmiostronicowe podsumowanie i wnioski. Autorka rozprawy przedstawiła tu w zwięzły i przejrzysty sposób swoje najważniejsze osiągnięcia w ramach wykonywanej pracy doktorskiej. Kolejne 10 stron zajmuje część eksperymentalna rozprawy. Ze względu na to, że mgr Wielgus nie musiała syntezować badanych związków, ta część rozprawy jest krótka, ale zawiera wszystkie informacje niezbędne do odtworzenia wyników doświadczeń wykonanych przez Doktorantkę. Rozprawę kończy spis cytowanej literatury liczący 220 pozycji. Do pracy zostały dołączone wydruki czterech publikacji, których współautorka jest Doktorantka i w których opisano większość wyników prezentowanych w rozprawie.

Rozprawa doktorska mgr Eweliny Wielgus jest starannie opracowana pod względem edytorskim i czyta się ją bez trudności. Problemem są jednak dość liczne błędy językowe i stosowanie żargonu chemicznego. Uważam, na przykład, że kandydatka do stopnia doktora nauk chemicznych powinna poprawnie stosować terminy „liczba” i „ilość”, właściwie odmieniać obcojęzyczne nazwiska (nie wstawia się apostrofu przed końcowym „a” w dopełniaczu, jeśli nazwisko kończy się na spółgłoskę), a także nie pisać o „sygnałach węgla karbonylowych” (str. 111). To tylko kilka wybranych przykładów. Rozprawa doktorska to często ostatnie duże opracowanie naukowe pisane po polsku, w związku z czym powinna być także świadectwem dobrego opanowania naszego języka do opisu złożonych zagadnień naukowych.

Podsumowując niniejszą recenzję pragnę podkreślić, że praca doktorska Pani mgr Eweliny Wielgus dotyczy aktualnych problemów naukowych z dziedziny spektrometrii mas, a także reakcji w fazie stałej. Założony cel pracy Autorka osiągnęła. Uzyskane wyniki przedstawiła w czterech oryginalnych pracach opublikowanych w dobrych czasopismach, a część literaturowa dysertacji stała się podstawą przeglądu opublikowanego samodzielnie w Wiadomościach Chemicznych. Wyniki te były także prezentowane w formie plakatów na 10 konferencjach naukowych. Wrażenia z lektury rozprawy psują nieco dość liczne nieścisłości i błędy językowe, ale nie mam żadnych wątpliwości, że recenzowana rozprawa spełnia wymagania określone stosowną ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym, w związku z czym wnoszę do Rady Naukowej Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Eweliny Wielgus do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

