

Prof. dr hab. Lechosław Latos-Grażyński
Członek rzeczywisty PAN
prof. zw. Uniwersytetu Wrocławskiego
Wydział Chemii
Uniwersytet Wrocławski
ul. F. Joliot-Curie 14
Wrocław 50 383
e-mail lechoslaw.latos-grazynski@chem.uni.wroc.pl
<http://lq.chem.uni.wroc.pl/>



Wrocław 15. 01. 2020

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. inż. Artura Kasprzaka

Materiały funkcjonalne oparte na magnetycznych nanokapsułach węglowych – synteza i zastosowanie w nanomedycynie, elektrochemii i katalizie heterogenicznej

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr. inż. Artura Kasprzaka zatytułowana ***Materiały funkcjonalne oparte na magnetycznych nanokapsułach węglowych – synteza i zastosowanie w nanomedycynie, elektrochemii i katalizie heterogenicznej*** mieści się w dynamicznie rozwijającym się nurcie badań, zmierzających do generowania oryginalnych materiałów węglowych. Promotorem rozprawy jest dr hab. Mariola Koszytkowska-Stawińska, prof. PW, a promotorem pomocniczym dr Magdalena Popławska.

Doktorant jako punkt wyjścia konstrukcji oryginalnych materiałów, a w naturalnej konsekwencji, jako obiekt eksplorowania ich właściwości, wybrał magnetyczne nanokapsułki węglowe o rdzeniu żelazowym (MNKW), w których rdzeń metaliczny osłonięty jest warstwą węglową. Fundamentalnym dla opracowania strategii było stwierdzenie, że węglowa osłona MNKW jest podatna na chemiczną dekorację odpowiednio dobranymi elementami o specyficznym zdefiniowanej funkcjonalności, takimi jak: β -cyklodekstryny, ferrocen, polietylenoimina czy też kwasy arylosulfonowe. W modyfikacjach musiały być bezwzględnie spełnione dwa warunki dotyczące zachowania strukturalnej integralności monokapsuły oraz utrzymania jej cech ferromagnetycznych. Połączenie cech magnetycznych (rdzeń) oraz odpowiedniej funkcjonalizacji chemicznej powierzchni w konsekwencji prowadzić powinno, zdaniem doktoranta, do wygenerowania skutecznie działających materiałów o oczekiwanych zastosowaniach w bardzo w sumie zróżnicowanych obszarach zastosowań takich jak kataliza heterogeniczna, medycyna czy też konstrukcja elektrochemicznych biosensorów.

W moim odczuciu zaproponowane cele badawcze rozprawy doktorskiej mgr inż. Artura Kasprzaka są bardzo ambitne i niewątpliwie charakteryzują się wysokim stopniem trudności. Sprowadzić je można do czterech zasadniczych nurtów badawczych zmierzających do:

- opracowania oryginalnych metod funkcjonalizacji magnetycznych nanokapsułek (MNKW), w tym z wykorzystaniem mechanochemii

- syntezy katalizatorów heterogenicznych typu MNKW skutecznych w syntezie 1,1'-bifenyli i podstawionych benzimidazoli
- opracowania metod syntezy modyfikowanych nanokapsułek MNKW, zdolnych do kontrolowanego tworzenia kompleksów inkluzyjnych z 5-fluorouracylem o potencjalnych zastosowaniach medycznych
- elektrochemicznej detekcji metaloprotein.

Wybór poszczególnych tematów dyktowany był planowanymi zastosowaniami w nanomedycynie, w konstrukcji biosensorów ale także w klasycznej syntezie organicznej. Niewątpliwie powodzenie całego projektu badawczego uzależnione było, w opinii recenzenta, od fundamentalnego etapu – wygenerowania nowych materiałów funkcjonalnych, opartych na magnetycznych nanokapsułach węglowych (publikacje D3, D5 D6, D7, D8, D9). W poszukiwaniach efektywnych procedur generowania MNKW o racjonalnie planowanych właściwościach, doktorant twórczo zastosował szereg klasycznych metod chemii organicznej, zmodyfikowanych odpowiednio do potrzeb konstrukcji MNKW. Zastosowane strategie syntetyczne uwzględniały następujące reakcje, prowadzące do utworzenia wiązań kowalencyjnych w budowywanego fragmentu z powierzchnią nanokapsułu:

- 1,3-dipolarną cykloaddycję N-tlenków nitryli
- 1,3-dipolarną cykloaddycję ylidów azometinowych
- addycję rodników arenowych do powierzchni węglowej
- tworzenie wiązań amidowych
- aminowanie redukcyjne.

Znaczna część reakcji prowadzona była w roztworach, w klasycznych dla tego typu procedur warunkach, z wykorzystaniem wpływu działania ultradźwięków. W tym miejscu należy podkreślić istotny element nowości naukowej. Mianowicie, doktorant wprowadził nową dla tej problematyki metodologię syntetyczną, prowadząc szereg reakcji w warunkach mechanochemicznych.

Moją uwagę zwróciła również złożona strategia (publikacja D2) zmierzająca do otrzymania nośnika użytecznego w budowie nanoteranostyków. Polegała ona na pierwotnym kowalencyjnym przyłączeniu polimeru polietylenoiminy (PEI) do MNKW z utworzeniem wiązania amidowego bądź aminowego. W kolejnych etapach azoty aminowe PEI wykorzystano do utworzenia łącznika karbaminianowego z β -cyklodekstryną, a w następnym kroku łącznika amidowego z kwasem foliowym. Zastosowana tutaj oryginalna metoda blokowania niekorzystnego efektu inkluzji kwasu foliowego do β -cyklodekstryny, polegająca na zastosowaniu nietypowego motywu blokującego odwracalnie wnękę β -cyklodekstryny tj. ferrocenu, zwraca uwagę swoją skutecznością i wyjątkową elegancją.

Otrzymane materiały węglowe konsekwentnie scharakteryzowano typowymi dla tego obszaru badawczego metodami fizykochemicznymi takimi jak:

- spektroskopia oscylacyjna w podczerwieni z transformacją IR (FT-IR)
- analiza termogravimetryczna (TGA)
- transmisyjna spektroskopia elektronowa (TEM)
- spektroskopia fotoelektronów w zakresie promieniowania X (XPS)
- dynamiczne rozpraszanie światła (DLS)
- turbidymetria
- woltoamperometria cykliczna
- rejestracja pętli histerezy magnetycznej (pomiar magnetyzacji).

Podsumowując ten etap oceny stwierdzam, że różnorodność wykorzystanych metod syntetycznych pozwoliła na wykreowanie całej gamy pochodnych MNKW, różniących się naturą wiązania kowalencyjnego między płaszczem węglowym a blokami funkcjonalnymi ulokowanymi na powierzchni. Zastosowane podejścia doprowadziły do przyłączenia na powierzchni węglowej ugrupowań alifatycznych, aromatycznych, ferrocenu, cukrów czy też makrocząsteczek. W ten sposób wygenerowano aż dwadzieścia pięć racjonalnie skonstruowanych materiałów o właściwościach zdeterminowanych przez dobór powierzchniowej dekoracji.

W sumie ten fragment rozprawy uważam za najbardziej znaczący naukowo.

Bardzo wysoko oceniam również wyniki związane z wykorzystaniem odpowiednio skonstruowanych MNKW w interesujących obszarach zastosowań w chemii organicznej. W tym przypadku na uznanie zasługuje zastosowanie materiałów modyfikowanych ferrocenem jako katalizatorów w syntezie 1,1'-bifenyli (D1). Nanokatalizator wykazuje wysoką skuteczność przejawiającą się wysokimi wydajnościami reakcji prowadzonych w relatywnie łagodnych warunkach. Zwraca uwagę łatwość usuwania katalizatora z mieszaniny reakcyjnej związana z wykorzystaniem właściwości magnetycznych monokapsułów. Inna modyfikacja, polegająca na wprowadzeniu na powierzchnię MNKW ugrupowań 4-sufofenylowych, dała w wyniku skutecznie działający katalizator kwasowy, którego potencjał katalityczny znakomicie zilustrowano w syntezie całej klasy podstawionych benzimidazoli (D5).

Naturalną konsekwencją rozwoju metod zmierzających do generowania funkcjonalnych materiałów są dobrze zaplanowane prace nad ich zastosowaniami. Niewątpliwie w tym nurcie poszukiwań mgr inż. Artur Kasprzak uzyskał wyniki istotne z punktu widzenia nanomedycyny oraz konstrukcji biosensorów. W realizacji tych celów badawczych istotną była współpraca z grupami badawczymi o ekspertyzie naukowej ulokowanej odpowiednio w nanomedycynie czy też w elektrochemii.

W tym nurcie na podkreślenie zasługują wyniki dotyczące właściwości materiału „hybrydowego” opartego o platformę MNKW, sfunkcjonalizowanego kolejno PEI, β -cyklodekstryną i kwasem foliowym (D2). Wykazano, że materiał ten działać może jako platforma zdolna do przenoszenia 5-fluorouracylu (modelowy lek przeciwnowotworowy). Wykazuje on również zdolność, istotną z punktu widzenia medycznych zastosowań, do kontrolowanego uwalniania 5-fluorouracylu. W mocno entuzjastycznej konkluzji doktorant stwierdza, że materiały tego typu odegrają rolę nanoteranostyków, skutecznych w terapiach przeciwnowotworowych. W moim osądzie jest to jedno z osiągnięć łatwo weryfikowalnych przez wymagające środowisko naukowe i odpowiedni odzew będę śledził z uwagą w literaturze przedmiotu.

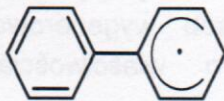
Z punktu widzenia poszukiwań biosensorów na zauważenie zasługuje konstrukcja elektrochemicznych sensorów ceruloplazminy z wykorzystaniem MNKW modyfikowanych ferrocenem (D6).

Nie jest moim zadaniem wymienianie wszystkich osiągnięć prezentowanych w ośmiu oryginalnych publikacjach. Najbardziej istotne podkreśliłem powyżej. W tym punkcie swojej opinii stwierdzam, że osiągnięcia naukowe mgr inż. Artura Kasprzaka są oryginalne, znaczące naukowo i część merytoryczna rozprawy z bardzo dużym nadmiarem spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim

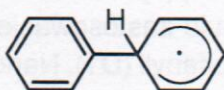
Powyższa, wyjątkowo wysoka ocena części merytorycznej rozprawy stanowi dobry punkt wyjścia dla uwag krytycznych związanych z analizą i dyskusją wyników. W trakcie obrony oczekuję od doktoranta komentarza dotyczącego zagadnień przedstawionych poniżej.

1

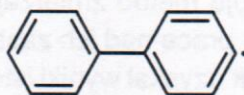
Doktorant podjął próbę opisu mechanizmu otrzymywania 1,1'-bifenylu. Mechanizm ten został zaprezentowany na rysunku 3 (D1, str. 413). Przedstawiony na tym rysunku wzór rodnikowej formy pośredniej jest niewłaściwy.



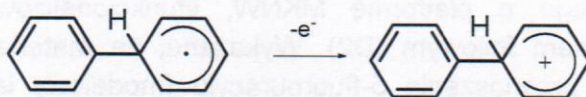
Natomiast we wprowadzeniu do rozprawy na rysunku 16 (str. 46), pokazującym jeszcze raz przebieg procesu ta forma przejściowa prezentowana jest w sposób poprawny.



W formule prezentacji tej rozprawy doktorskiej podstawową rolę odgrywają oczywiście publikacje i ewentualna korekta błędu w wprowadzeniu nie jest dostępna potencjalnym czytelnikom artykułu. Korekty wymaga również punkt c opisu przebiegu reakcji (wprowadzenie, str. 45). Mianowicie na rysunku 16 nie została przedstawiona struktura rodnika bifenyli.



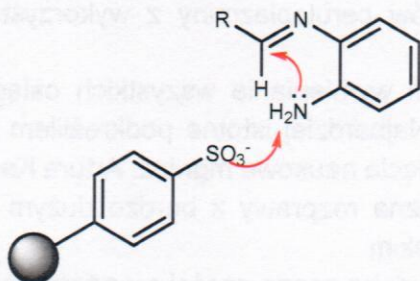
Natomiast widoczna jest rodnikowa forma pośrednia, która zgodnie z proponowanym opisem, przechodzi na drodze jednoelektronowego utlenienia w klasyczną dla chemii arenów kationową formę Wheland'a, której nie pokazano na rysunku 3.



Następca dysocjacja protonu daje w wyniku 1,1'-bifenyl.

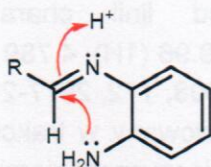
2

Korekty wymaga również mechanizm syntezy R-benzimidazoli (D5, rys. 3). Trudno jest racjonalnie oczekiwać, że w przypadku katalizy kwasowej dojdzie do zamknięcia pierścienia, zgodnie z mechanizmem przedstawionym w publikacji D5, odpowiadającym katalizie zasadowej (przedstawiam jedynie dyskutowany etap).



Ekstremalnie słaba sprzężona zasada kwasu arylosulfonowego ($pK_a = -2.5$), jaką jest jego anion i słabe właściwości kwasowe aminy ($pK_a = 30$) nie będą sprzyjały sugerowanej migracji protonu z utworzeniem anionu aryloamidkowego. Właściwy mechanizm powinien uwzględniać

kwasową aktywację utworzonego w pierwszym etapie reakcji, fragmentu iminowego (patrz poniżej).



3

Opisana w publikacji D2 procedura uwalniania 5-fluorouracylu z wnęki β -cyklodekstryny odgrywa kluczową rolę w oczekiwanych medycznych zastosowaniach odpowiednich MNKW. W publikacji przebieg tego procesu kontrolowano zmieniając pH roztworu. Proces był długotrwały, jego zakończenie następowało po 72 godzinach. W literaturze przedmiotu, dotyczącej zastosowania karbaminianów w projektowaniu leków, bądź też zastosowania odpowiednich pochodnych w chemii medycznej, jako istotny problem rozważa się konkurencyjne dla przebiegu pożądanego rozszczepienia łącznika karbaminowego (patrz "Organic Carbamates in Drug Design and Medicinal Chemistry", A. K. Ghosh, M. Brindisi *J. Med. Chem.* **2015**, 58, 2895–2940 oraz "Qualitative structure-metabolism relationships in the hydrolysis of carbamates" F. Vacondio, C. Silva, M. Mor, B. Testa *Drug Metabolism Reviews*, **2010**; 42, 551–589).

W konkretnym przypadku, analizowanym w tej rozprawie, rozszczepienie karbaminianowego łącznika prowadzić mogłoby do uwolnienia β -cyklodekstryny bądź też do uwolnienia kompleksu inkluzyjnego z 5-uracylem istotnie zwiększając złożoność układu. W trakcie obrony oczekuję komentarza doktoranta, dotyczącego tego aspektu.

4

W publikacji D6 wykorzystano materiały zawierające ferrocen do konstrukcji elektrochemicznych sensorów rozpoznających ceruloplazminę. Rozważono wpływ zewnętrznego pola magnetycznego na skuteczność analityczną skonstruowanych sensorów. Dokonano także pomiarów magnetyzacji w funkcji zewnętrznego pola magnetycznego tak dla finalnych materiałów jak i wyjściowych substratów – pochodnych ferrocenu tj. ferrocenokarbonylu i oksymu ferrocenokarbonylu. Jednoznacznie zadeklarowano, że pochodne te wykazują właściwości paramagnetyczne. Odpowiedni cytat publikacji D6 pozwoliłem sobie zacytować w recenzji w całości.

„The magnetization curves for ferrocenecarboxaldehyde (1) and ferrocenecarboxaldehyde oxime (2) are shown in Fig. 1C. Both derivatives have typical paramagnetic behavior with very low magnetization. Please note, that pristine ferrocene is diamagnetic, however the introduction of a ligand in the cyclopentadienyl ring changes the electronic structure of Fe atom and results in the occurrence of paramagnetism. This effect was in fact described in the literature (Akutsu et al., 2015; Aly et al., 1965). Interestingly, the specific magnetization of the oxime derivative (2) is ca. 1.4 higher in comparison to ferrocenecarboxaldehyde (1). This effect may be caused by the presence of longer ligand in the cyclopentadienyl ring, which plausibly stronger influences the electronic structure of the iron atom.”

Fragment ten wymaga zasadniczej korekty. Po prostu ferrocen i jego pochodne, w tym ferrocenokarbonyl, wykazują właściwości diamagnetyczne. Odnośniki podane w publikacji D6, wskazujące, zdaniem autorów, na istnienie precedensowych paramagnetycznych pochodnych ferrocenu (Akutsu et al., 2015; Aly et al., 1965), w gruncie rzeczy dotyczą produktów jednoelektronowego utlenienia ferrocenu z utworzeniem paramagnetycznego kationu ferroceniowego.

W przypadku jakichkolwiek wątpliwości należy dokonać analizy widm ^1H NMR odpowiednich związków. Znane w literaturze widmo ^1H NMR ferrocenokarbonylu jednoznacznie demonstruje układ linii charakterystyczny dla diamagnetycznych ferrocenowych pochodnych [δ (ppm) 9.96 (1H), 4.789 (2H), 4.599 (2H), 4.271 ppm (5H) (patrz Lousada, C. M. *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 2977-2987 i prace tam cytowane)].

Szczałkowy paramagnetyzm, obserwowany w trakcie badań nad ferrocenokarbonydem, można wiązać z magnetycznymi zanieczyszczeniami próbki. Zgodnie z informacją zawartą w materiałach dodatkowych publikacji D6, zbadano komercyjnie dostępny ferrocenokarbonyl. Otrzymany materiał zawierał aż 2% zanieczyszczeń (wartość deklarowana przez producenta) i był używany bez jakiegokolwiek oczyszczania. Alternatywnie, badana próbka mogła ulec częściowemu utlenieniu z utworzeniem paramagnetycznego kationu ferroceniowego.

Powyższe krytyczne uwagi, wynikające z jednej strony z moich zainteresowań naukowych a z drugiej strony z moich obowiązków recenzenta nie wpływają w żadnym stopniu na moją bardzo wysoką ocenę merytoryczną rozprawy doktorskiej.

Jako recenzent zobowiązany jestem do formalnej oceny rozprawy, w tym do skomentowania sposobu jej prezentacji.

Wyniki swoich prac, prezentujących materiał doktoratu doktorant przedstawił w ośmiu oryginalnych publikacjach w czasopismach wysoko ocenianych w obszarze badawczym objętym tematyką doktoratu (*Organic Process Research and Development*, *Chemistry Select*, *Dalton Transaction* (3); *Biosensors and Bioelectronics*; *Macromolecular Bioscience*; *Green Chemistry*). Dziewięć publikacji (*Chemical Communication*) ma charakter artykułu przeglądowego i znakomicie spełnia rolę klasycznego omówienia stanu literatury. W ośmiu z tych prac mgr inż. Artur Kasprzak jest autorem korespondencyjnym. Trzy z nich wyróżnione zostały przez redakcje czasopism odpowiednią graficzną prezentacją osiągnięcia naukowego na okładce. Niewątpliwie sam fakt, że materiał naukowy rozprawy uległ już ocenie wymagającego grona recenzentów znaczących czasopism naukowych, ułatwił moje zadanie jako recenzenta.

Szczerze mówiąc dorobek publikacyjny doktoranta zbliża się merytorycznie oraz pod względem liczby publikacji, dokumentujących osiągnięcia naukowe, do granic prezentowanych w rozprawach habilitacyjnych. Podobną opinię mogę wyrazić o całkowitym dorobku publikacyjnym jak i o wyniku analizy parametrów bibliometrycznych. Dla utrzymania tej tezy chciałbym podkreślić chciałbym zauważyć fakt odbycia przez doktoranta dwóch trzymiesięcznych staży naukowych w Japonii i kierownictwo grantami Etiuda i Preludium.

Zestaw dziewięciu publikacji poprzedzony został zwięzłym wprowadzeniem w języku polskim znakomicie ułatwiającym analizę bogatego materiału naukowego.

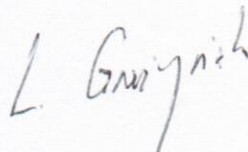
Stwierdzam także, że dostępne oświadczenia współautorów prac nie pozostawiły najmniejszej wątpliwości co do istotnej roli mgr. inż. Artura Kasprzaka w realizacji każdego etapu badań, prezentowanych w publikacjach dokumentujących doktorat i objętych moją oceną.

Konkludując stwierdzam, że recenzowaną rozprawę doktorską mgr inż. Artura Kasprzaka, zatytułowaną ***Materiały funkcjonalne oparte na magnetycznych nanokapsułach węglowych – synteza i zastosowanie w nanomedycynie, elektrochemii i katalizie heterogenicznej*** oceniam wyjątkowo wysoko jako jedną z najlepszych, w których pełniłem rolę recenzenta. Na moją ocenę wpłynął przede wszystkim fakt opracowania przez

doktoranta skutecznych metod otrzymywania funkcjonalnych materiałów z wykorzystaniem magnetycznych nanokapsuł węglowych.

Rozprawa spełnia z nadmiarem wymagania tak ustawowe (Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.)) jak i zwyczajowe, stawiane rozprawom doktorskim. W związku z tym wnoszę o dopuszczenie jej autora, mgr. inż. Artura Kasprzaka, do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie z racji wysokiej rangi wyników naukowych prezentowanych w rozprawie udokumentowanych publikacjami w znaczących czasopismach naukowych wnoszę o jej wyróżnienie.



Prof. dr hab. Lechosław Latos-Grażyński
Członek rzeczywisty PAN