



Wrocław, 08 sierpnia 2019 r.

Dr hab. Katarzyna Ślepokura

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr inż. Urszuli Izabeli Maciołek
zatytułowanej

„Rola cząsteczek kwercetyny w chemii supramolekularnej”

Przedstawiona do oceny praca została wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Marii Skłodowskiej-Curie w Lublinie pod promotorstwem prof. dr hab. Anny E. Koziół i opieką dr. Ewarysta Mendyka, pełniącego rolę promotora pomocniczego. Praca dotyczy aktualnego zagadnienia z zakresu chemii supramolekularnej, tj. syntezy i charakterystyki materiałów o nowych (w zamierzeniu lepszych) właściwościach fizykochemicznych otrzymywanych ze znanych podjednostek na drodze ich współkryształizacji z komponentami organicznymi lub nieorganicznymi. Przedmiotem badań Pani mgr Maciołek były kokryształy i inne kryształy wieloskładnikowe kwercetyny – flawonoidu o udokumentowanej aktywności biologicznej, lecz o ograniczonym – m.in. ze względu na słabą rozpuszczalność w wodzie – zastosowaniu. Zainteresowanie flawonoidami nie słabnie od ponad trzech dekad, a w XXI wieku znacznie się nasiliło. W badaniach nad kokryształizacją flawonoidów kwercetyna zajmuje szczególne miejsce. W 2011 roku opisano układ kwercetyna–kofeina (1/1) o czternastokrotnie zwiększonej rozpuszczalności w porównaniu z dihydratem kwercetyny. Jeszcze pięć lat temu znane były struktury krystaliczne zaledwie jedenastu kokryształów flawonoidów. Dziś w bazie krystalograficznej Cambridge struktur kokryształów samej tylko kwercetyny znajdziemy 37. Podjęcie się zadania mającego na celu lepsze poznanie roli tego flawonoidu w formowaniu i stabilizacji jego wieloskładnikowych kryształów uważam za w pełni uzasadnione.

Dysertacja ma formę klasycznej, obszernej (278 stron) rozprawy uzupełnionej o wykaz dorobku naukowego (publikacje naukowe, rozdziały w monografiach, wystąpienia konferencyjne, aktywność organizacyjna, seminaryjna i inne osiągnięcia) oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Podzielona jest na osiem rozdziałów. Dołączono też wersję elektroniczną pracy oraz pliki CIF zawierające dane krystalograficzne 21 omówionych w pracy struktur krystalicznych. Na podkreślenie zasługuje staranna redakcja pracy, napisanej w sposób bardzo estetyczny, zrozumiały, logiczny i w zdecydowanej większości poprawnym językiem (drobne potknięcia i nieścisłości wymieniam na końcu recenzji), wzbogaconej licznymi rysunkami, tabelami, wykresami i zdjęciami.

Po krótkim *Wstępie* (rozdział 1) Doktorantka precyzyjnie definiuje *Cel pracy* (rozdział 2) jako syntezę i charakterystykę (strukturalną, spektroskopową i morfologiczną) oraz ocenę stabilności termicznej nowych kokryształów kwercetyny z koformerami posiadającymi grupy funkcyjne zawierające atomy azotu oraz z kilkoma znanymi lekami. Zakres prac badawczych został rozszerzony o sole sodowe, potasowe i amonową sulfonowej pochodnej kwercetyny

oraz badania aktywności przeciwnowotworowej wybranych związków w stosunku do kilku linii komórek nowotworowych. (Ostatnie zadanie było realizowane we współpracy z Zakładem Wirusologii i Immunologii UMCS.)

W *Części literaturowej* (rozdział 3), do udokumentowania której posłużyła większość z 258 cytowanych pozycji literaturowych (*Literatura*, rozdział 8), Autorka w przystępny sposób dyskutuje wybrane zagadnienia z zakresu chemii supramolekularnej i budowy wieloskładnikowych kryształów zawierających kwercetynę (lub jej pochodne). Poza przedstawieniem aktualnego stanu wiedzy na temat klasyfikacji układów supramolekularnych, oddziaływań międzycząsteczkowych oraz syntonów supramolekularnych i ich roli w inżynierii krystalicznej, mgr Maciołek omawia kokryształy (w tym metody ich syntezy i badania oraz zastosowanie) na tle innych kryształów wieloskładnikowych (soli, solwatów, roztworów stałych, kompleksów inkluzyjnych i układów łączących cechy poszczególnych klas). Połowę tego czterdziestostronicowego rozdziału stanowi szczegółowa analiza struktur krystalicznych solwatów i kokryształów kwercetyny oraz jej sulfonowych pochodnych dotychczas zdeponowanych w *Cambridge Structural Database*. Dotyczy ona zarówno rodzaju obserwowanych wewnątrz- i międzycząsteczkowych wiązań wodorowych, jak i roli, jaką w nich pełnią poszczególne grupy hydroksylowe i grupa karbonylowa kwercetyny, a także topologii oddziaływań kwercetyna–kwercetyna i motywów strukturalnych tworzonych w wyniku asocjacji cząsteczek flawonoidu. Tę część przeglądu literatury uważam za szczególnie wartościową, ponieważ kreśli ona pewne tendencje supramolekularne kwercetyny, dając tło do dalszych rozważań. Zabrakło mi w tym miejscu natomiast krytycznego spojrzenia i dyskusji problemów nomenklaturowych kryształów wieloskładnikowych. Uważam to za co najmniej przydatne chociażby wobec wciąż podejmowanych prób opracowania spójnego nazewnictwa (np. M. Gryl i in., *Acta Cryst.*, **2019**, B75, 53) oraz wobec wynikającej z tego konieczności sprecyzowania reguł przyjętych w przedstawianej pracy. Co prawda, w rozdziale 5.2 Doktorantka stwierdza, że klasyfikacja otrzymanych faz krystalicznych „jest trudna i niejednoznaczna” oraz deklaruje, że nazywając je stosowała zasady jednego z wcześniej przedstawionych systemów klasyfikacji kryształów wieloskładnikowych. Jednak w zestawieniu z dość skomplikowanymi nazwami podanymi w tabeli na tej samej stronie, które – nie ukrywam – odebrały mi nieco przyjemności z czytania pracy, nie sposób oprzeć się wrażeniu, że można było nowe związki nazwać prościej niż np. „monoetanol monohydrat etanol[bis(kwercetyna)]naproksenosód (1:1:1:2:1:1)” (nawet z użyciem własnego systemu). Pragnę podkreślić, że powyższa uwaga nie jest krytyką. Chcę jednocześnie zwrócić uwagę, że dwa kryształy zamieszczone w tabelach 3.2.1.3, 3.2.1.1.1 i 3.2.1.1.2 nie są kokryształami: ten oznaczony w CSD kodem NIXLUC jest solwatem, LEFSAS to kryształ soli (nazwa koformera, a w rzeczywistości kationu, podana w tabeli 3.2.1.3 jest niepoprawna).

Część doświadczalna pracy (rozdział 4) zawiera m.in. opis syntez kokryształów i innych wieloskładnikowych układów kwercetyny i jej 5'-sulfonowej pochodnej oraz stosowane metody badawcze (wraz z ich krótkim omówieniem). Chcę podkreślić, że ilość technik użytych do oceny czystości i charakterystyki otrzymanych materiałów jest imponująca: analiza elementarna, spektroskopia fluorescencji rentgenowskiej (XRF), mikroskopia optyczna w świetle spolaryzowanym, skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM), rentgenowska analiza strukturalna (XRD) i dyfraktometria proszkowa (PXRD; również w funkcji temperatury), spektroskopia w podczerwieni w technice osłabionego całkowitego wewnętrznego odbicia (FTIR ATR), spektroskopia Ramana, analiza termogravimetryczna sprzężona ze spektrometrią mas i spektroskopią w podczerwieni (TGA-MS-FTIR) w połączeniu z różnicową termogravimetrią (DTG) i skaningową kalorymetrią różnicową (DSC) oraz obliczenia teoretyczne.

Kwercetyna została zakupiona w brytyjskiej firmie produkującej suplementy diety. Trzy sole kwasu kwercetyno-5'-sulfonowego mgr Maciołek otrzymała według zmodyfikowanej metody literaturowej. Późniejszą wymianę cząsteczek rozpuszczalnika przeprowadziła metodą solwotermalną. Koformery benzofuranylopirydynowe zostały zsyntezowane w Katedrze i Zakładzie Biochemii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. W ramach eksperymentu pilotażowego Doktorantka sprawdziła ponad 90 związków pod kątem możliwości ich kokryształizacji z kwercetyną w wyniku współmielenia w młynku kulowym z dodatkiem rozpuszczalnika. Ciekawi mnie, dlaczego do syntezy mechanochemicznej wybrała acetonitryl. Czy wypróbowała inne rozpuszczalniki (których rola nie ogranicza się przecież do bycia medium dyfuzji molekularnej)? Kolejna wątpliwość dotyczy samej metody syntezy. Mechanosynteza, jako w zasadzie bezrozsączalnikowa i dość szybka, jest najkorzystniejsza, szczególnie na początkowych etapach pracy, ale różnica w rozpuszczalności koformerów nie uniemożliwia otrzymywania kokryształów na drodze współkryształizacji z roztworu. Z opisu nie wynika, czy drobnokrystaliczne materiały uzyskane w wyniku mielenia były używane jako zarodek w późniejszych kokryształizacjach z roztworów. Jeśli nie – nie można mówić o „kryształizacji uzyskanej fazy z roztworów w celu otrzymania monokryształów”, a raczej o niezależnej syntezie roztworowej (którą wcześniej mgr Maciołek odrzuciła).

Najbardziej obszerną częścią pracy (177 stron) jest rozdział 5, pt. *Wyniki badań*. Został on podzielony na trzy główne podrozdziały. W pierwszym (5.1) Autorka przedstawia charakterystykę strukturalną i supramolekularną substratów. Opisuje struktury krystaliczne wyznaczone w trakcie realizacji pracy: bezwodnej kwercetyny (**QUE**), której do tej pory w literaturze brakowało, koformerów benzofuranylopirydynowych (**BZFP** i **EBZFP**) i o-dianizydyny (**O-DIA**).

Podrozdział 5.2 zawiera opis dziewięciu produktów współkryształizacji kwercetyny z koformerami benzenofuranylopirydynowymi (**QUE:BZFP**, **QUE:EBZFP**), fenantroliną (**QUE:FEN**), o-dianizydyną (**QUE:O-DIA**), kofeiną (**QUE:KOF**), kwasem pirydyno-3-sulfonowym (**QUE:PYRSUL**), chlorkiem ketaminiowym (**QUE:KethCl**) oraz solami sodowymi diklofenaku (**QUE:NaDik**) i naproksenu (**QUE:NaNap**). Pięć ostatnich zawiera cząsteczki rozpuszczalnika w sieci krystalicznej. Utworzenie nowych faz mgr Maciołek potwierdziła przy pomocy technik dyfrakcyjnych (PXRD, XRD), spektroskopowych (IR, Ramana) oraz metodami analizy termicznej (TG/DTG-DSC), co jest przyjętym schematem postępowania w tego typu badaniach na świecie i co świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki do prowadzenia badań naukowych. Urozmaicenie stanowi ilustrowany opis morfologii niekryształizowanych koformerów i kryształów otrzymanych po syntezie roztworowej, sporządzony na podstawie obserwacji przy użyciu mikroskopu optycznego z przystawką polaryzacyjną oraz skaningowego elektronowego (SEM). W przypadku **QUE:NaDik** zaobserwowano spiralę wzrostu.

Porównanie dyfraktogramów proszkowych produktów uzyskanych w mechanosyntezach z teoretycznymi dyfraktogramami wygenerowanymi na podstawie danych strukturalnych monokryształów otrzymanych w wyniku rekryształizacji wykazało, że są to różne fazy krystaliczne (np. w przypadku **QUE:BZFP**, **QUE:EBZFP**, **QUE:O-DIA**, **QUE:KOF** czy **QUE:NaNap**) lub takie same albo o bardzo zbliżonej strukturze (np. **QUE:FEN**) lub też stanowią mieszaninę fizyczną koformerów (np. **QUE:PYRSUL**). Zastanawia mnie, dlaczego Autorka nie zdecydowała się na wykonanie dyfraktogramów proszkowych dla materiałów po rekryształizacji. Pozwoliłoby to potwierdzić tożsamość i ocenić czystość fazową preparatów.

Utworzenie międzycząsteczkowych wiązań wodorowych typu QUE–koformer w produktach po syntezach roztworowych zostało potwierdzone m.in. analizą specyficznych dla każdego układu pasm diagnostycznych na widmach FTIR-ATR. Trzeba podkreślić, że część spektroskopowa badań została przeprowadzona z dużą uwagą i dokładnością. Oprócz szczegółowego omówienia położenia i ewentualnego przesunięcia wybranych pasm charakterystycznych, dla każdego widma zostało dołączone ich przypisanie określonym drganiom.

Analiza termiczna otrzymanych połączeń potwierdziła utworzenie nowych faz krystalicznych (i ewentualną obecność w nich rozpuszczalnika) oraz wykazała większą stabilność termiczną bezwodnych kokryształów, które są trwałe do ok. 200 °C (197-225 °C), w porównaniu ze stabilnością czystych koformery, które topią się co najmniej kilkadziesiąt stopni Celsjusza „wcześniej” (poza kwercetyną, która po odwodnieniu jest trwała do ok. 320 °C). Kokryształy solwatowane są mniej trwałe niż odpowiednie koformery. Nie rozumiem, dlaczego Doktorantka nazywa topnieniem zarówno dehydratację, jak i późniejsze topnienie FEN (s. 102). Po czym wnioskowano, że **NaDik** po stopieniu ulega rekrytalizacji (jednocześnie obserwuje się ubytek masy)? Czy pierwszemu etapowi rozkładu termicznego **QUE:NaNap** (z obserwowanym ubytkiem masy) nie towarzyszy żadna anomalia na krzywej DSC?

Opis struktur krystalicznych otrzymanych układów, wyznaczonych przy pomocy monokrystalicznej rentgenowskiej analizy strukturalnej, koncentruje się na analizie upakowania cząsteczek/jonów w utworzonych kokryształach oraz oddziaływań międzycząsteczkowych angażujących poszczególne indywidua. Autorka słusznie zauważa, że budowa kokryształów **QUE:BZFP** i **QUE:EBZFP** wykazuje „duży stopień izostrukturalności”. Dla wygody ich łącznego opisu można było inaczej wybrać układ współrzędnych w jednym z nich (zamienić osie *a* i *c* miejscami), co jednak skutkowałoby niestandardowym ustawieniem osi. Nie znalazłam w tych strukturach warstw cząsteczek kwercetyny równoległych do płaszczyzny sieciowej (102). Można za to wyróżnić łańcuchy BC–BC–BC. Łańcuchy te (równoległe do osi *b* kryształów), połączone są oddziaływaniami typu asocjacji warstwowej ($\pi \cdots \pi$), co prowadzi do utworzenia warstw równoległych do (101) i ($10\bar{1}$) odpowiednio w **QUE:BZFP** i **QUE:EBZFP**. Podobnie w strukturze **QUE:O-DIA** cząsteczki QUE budują łańcuchy BC–BC–BC, ale innego rodzaju niż wyżej opisane. Chcę podkreślić, że oba wspomniane motywy to nowego typu asocjaty kwercetyny, utworzone z cząsteczek flawonoidu połączonych wiązaniami wodorowymi w sposób dotychczas nieobserwowany.

Podrozdział 5.2 kończy dyskusja wyników uzyskanych dla połączeń omawianych w tej części pracy. Autorka zauważa, że cząsteczki kwercetyny przeważnie są płaskie (z jednym wyjątkiem) i częściej przyjmują konformację *syn* wokół wiązania C1'–C2. Należy jednak podkreślić, że ze względu na występowanie aż czterech krystalograficznie niezależnych cząsteczek QUE w kryształach **QUE:NaNap**, Autorka znacząco zmieniła dotychczasową statystykę w tym zakresie. Prace mgr Maciołek pozwoliły w końcu zaobserwować „subtelne konformery” przewidziane kilka lat wcześniej przez Dubeya i Desiraju, a nawet koformer dotychczas w literaturze niewzmiankowany. Co ciekawe, wyjątkowe, niebrane nawet pod uwagę, względne położenie hydroksylowych atomów H3' i H4' jest wynikiem międzycząsteczkowych oddziaływań QUE–FEN w kokryształach. Na tym etapie pracy Doktorantka podsumowuje też oddziaływania międzycząsteczkowe i motywy strukturalne będące wynikiem asocjacji cząsteczek kwercetyny. Dodatkowo, podkreśla rolę badań spektroskopowych i metod analizy termicznej w identyfikowaniu nowych faz krystalicznych, wykazując tym samym komplementarność tych technik wobec badań krystalograficznych. Zwraca uwagę na fakt, że wszystkie otrzymane fazy krystaliczne są trwałe w temperaturze pokojowej, a ich względne stabilności termiczne zależą

głównie od obecności cząsteczek rozpuszczalnika w sieci. Wysoko cenię tę część badań. Wniosły one wartościową, nową wiedzę na temat nie tylko możliwości supramolekularnych kwercetyny, ale także jej budowy w ciele stałym. Wyniki te wpisują się znakomicie w wartki nurt badań strukturalnych nad połączeniami flawonoidów.

Podrozdział 5.3 zawiera opis ośmiu nowych połączeń kwasu kwercetyno-5'-sulfonowego (HQSA), tj. czterech soli sodowych (I-IV), trzech potasowych (V-VII) oraz soli amonowej (VIII). Dla jednego z nich – soli potasowej, w której cząsteczki wody zostały wymienione na cząsteczki acetonu (VI) – nie udało się otrzymać monokryształów, a jedynie preparat mikrokryształiczny. Skład i czystość związków I i V, będących substratami w późniejszych syntezach solwotermalnych, Doktorantka określiła przy pomocy analizy elementarnej, XRF i TGA. Dla wszystkich faz krystalicznych zamieszczono zdjęcia z mikroskopu optycznego z przystawką polaryzacyjną oraz SEM. Obserwacje tą drugą techniką pozwoliły zarejestrować powolną desolvatację kryształów soli, objawiającą się powstawaniem pęcherzy (w I, IV i V), rozwarstwianiem się kryształów (w II i III) lub perforacją (w VII i VIII) i dodatkową deformacją ścian (w VII). Uważam, że w skorelowaniu obserwacji z budową wewnętrzną kryształów pomogłoby wywskaźnikowanie ścian kryształów.

W tej części pracy zamieszczone są również wyniki badań aktywności przeciwnowotworowej kwercetyny oraz soli I i V w stosunku do kilku linii komórek nowotworowych. Testy wykazały, że sole hamują podział komórek nowotworowych, a także indukują ich apoptozę, wykazując jednocześnie niską toksyczność wobec komórek prawidłowych.

Dzięki monokryształicznej analizie strukturalnej związków I-V, VII i VIII mgr Maciołek określiła konformację anionów QSA⁻, sposób ich koordynacji do kationów sodowych i potasowych lub oddziaływania z kationami amonowymi, zdefiniowała otoczenie koordynacyjne kationów metali, w tym liczbę koordynacyjną, kształt poliedrów koordynacyjnych (co szczególnie w przypadku kryształów potasowych z LK = 8, nie zawsze jest proste), określiła budowę kryształów pod względem wymiarowości tworzonych struktur polimerycznych oraz opisała rolę rozpuszczalników (wody w I, IV, V i VIII, acetonu w II i DMSO w III i VII) w stabilizacji struktur badanych kryształów. Wykazała m.in., że w kryształach II, III, IV i VII występują wstępowe jednostki koordynacyjne, które, głównie za sprawą wiązań wodorowych (ale także oddziaływań typu asocjacji warstwowej ($\pi \cdots \pi$), np. w II i III), tworzą struktury warstwowe.

Odniosłam wrażenie, że w niektórych przypadkach Doktorantka, opisując architekturę kryształów pod względem wymiarowości tworzonych sieci polimerycznych, analizowała oddziaływania koordynacyjne łącznie z wiązaniami wodorowymi. Osobiście postąpiłabym inaczej i sieci koordynacyjne omawiałabym przed wiązaniami wodorowymi. Wtedy należałoby uznać, że związki I i V, z punktu widzenia koordynacji, są polimerami dwuwymiarowymi, w których dimeryczne jednostki Na₂O₁₀ lub K₂O₁₄ połączone są anionami kwercetyno-5'-sulfonianowymi, co prowadzi do utworzenia warstw (równoległych do (100) w I i do (011) w V) o różnej architekturze. Wiązania wodorowe łączą warstwy w sieć trójwymiarową, o której mgr Maciołek pisze w pracy.

Polianionowy charakter wstęp w kryształach IV jest równoważony przez kationy wodorodietanolowe utworzone z dwóch cząsteczek etanolu, pomiędzy którymi „uwięziony” został proton (w sposób analogiczny do kationu Zundela). Trzeba podkreślić, że zlokalizowanie atomów wodoru w kryształach przy użyciu metod rentgenowskich nie zawsze jest łatwe i zaproponowanie takiego modelu wymagało od Doktorantki dużej intuicji chemicznej. (Odległość między atomami tlenu sąsiednich, związanych środkiem symetrii, cząsteczek EtOH

jest niewielka – ok. 2.44 Å.) Chcę podkreślić, że będzie to jeden z pierwszych takich kationów w bazie krystalograficznej Cambridge.

Dla soli I-VII mgr Maciołek przedyskutowała położenie poszczególnych pasm spektralnych na widmach spektroskopii w podczerwieni i Ramana w zależności od rozpuszczalnika obecnego w sieci kryształu. Powiązała położenie pasm grupy karbonylowej i sulfonowej ze sposobem ich związania w sieci kryształu oraz otoczeniem koordynacyjnym kationów w badanych związkach. Analiza FTIR-ATR dihydratu soli amonowej (VIII) sprowadzała się do identyfikacji kationów i cząsteczek wody oraz analizy drgań grupy karbonylowej i sulfonowej.

Dla sieci krystalicznych soli I-III wykonano teoretyczne obliczenia rozkładu ładunków topologicznych atomów w molekułach. Wykazały one – spodziewanie – że ładunek dodatni lokuje się na atomach sodu, a ujemny jest rozłożony równomiernie na sulfonowych atomach tlenu.

Dla związków I i V przeprowadzono kompleksową i bardzo skrupulatną analizę termiczną TG/DTG-DSC. Dodatkowo, w celu identyfikacji produktów gazowych i pośrednich produktów stałych rozkładu termicznego, próbki preparatów poddano badaniom łączoną techniką TGA-MS-FTIR (w atmosferze utleniającej i w helu) oraz zarejestrowano dyfraktogramy proszkowe w funkcji temperatury (aż do 800 °C dla I i do 400 °C dla V). Ustalono m.in., że związek I (niezależnie od atmosfery) jest trwały do ok. 80 °C, po czym traci wodę, a następnie amorfizuje. W atmosferze powietrza, w temperaturze ok. 286 °C próbka krystalizuje dając mieszaninę, której składnikiem jest bezwodna kwercetyna o strukturze innej niż ta opisana w rozdziale 5.1. (Ciekawi mnie, czy i jak na krzywych przejawiała się degradacja pochodnej sulfonowej QUE.) W temperaturze 600 °C w próbce zidentyfikowano Na₂SO₄, co zostało potwierdzone przez porównanie dyfraktogramu proszkowego z zawartością proszkowej bazy danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+. W ten sam sposób zidentyfikowano produkty pośrednie termicznego rozkładu związku w atmosferze helu – acetylenek sodu Na₂C₂ i sadzę. Analiza TGA-MS-FTIR potwierdziła uwalnianie wody w pierwszym oraz H₂O, CO, CO₂, SO₂ i COS w drugim etapie rozkładu związku I (niezależnie od atmosfery). W helu, przy ok. 400 °C obserwowano śladowe ilości związków aromatycznych, które nie były obecne w produktach rozkładu związku I w powietrzu. Na podobnym poziomie szczegółowości przedstawiono wyniki dla związku V.

Chcę podkreślić, że wnikliwość, jaką wykazała się Doktorantka na tym etapie badań, jak i sposób interpretacji i prezentacji ich wyników, zasługują na wyróżnienie i mogą być inspiracją dla innych. Oczywistym tego przejawem jest wyizolowanie nowej odmiany bezwodnej kwercetyny. Model przyjęty dla struktury QUE-320 wymaga jednak komentarza, którego zabrakło mi w pracy. Struktura jest niskiej jakości, co jest zrozumiałe zważywszy na sposób otrzymywania kryształów. Parametr sieci *c* jest duży (prawie 48 Å), co może dodatkowo utrudniać redukcję danych dyfrakcyjnych. W takiej sytuacji zarówno do pomiaru, jak i obróbki danych trzeba podchodzić z ostrożnością, często w sposób niestandardowy. Obecność w modelu czterech cząsteczek w jednostce asymetrycznej, ich geometria i względne ułożenie, a także intensywności refleksów zawartych w pliku CIF, sugerują możliwość przyjęcia mniejszej komórki sieciowej. Wydaje się, że dwukrotne zmniejszenie parametrów *a* i *b* pozwoli przejść do czterokrotnie mniejszej komórki (typ grup przestrzennych *P2/c*). Być może jednak mniejsza komórka charakteryzuje tylko strukturę podstawową, której nadstrukturę opisuje poprawnie wybrana większa komórka.

Podrozdział 5.3 zakończony jest dyskusją wyników uzyskanych dla połączeń kwasu kwercetyno-5'-sulfonowego. Dotyczy ona zarówno samego anionu QSA⁻, jak i jonów Na⁺, K⁺ i NH₄⁺, ze szczególnym uwzględnieniem otoczenia koordynacyjnego i architektury kryształów. Autorka, w sposób analogiczny do tego w poprzednim podrozdziale, podsumowuje wyniki analiz spektroskopowych i termicznych.

Ostatnia część rozprawy doktorskiej mgr Maciołek to *Podsumowanie i wnioski* (rozdział 6). Na dwóch stronach Autorka wypunktowuje najważniejsze spostrzeżenia wynikające z przeprowadzonych badań.

Uwagi

- 1) Zgodnie z zaleceniami IUPAC (*Compendium of Chemical Terminology*, tzw. *Gold Book*), w wielu miejscach rozprawy słowo „kompleks” mogłoby być zastąpione przez np. „związek koordynacyjny”, „jednostka koordynacyjna”. Z pewnością natomiast niewłaściwe jest nazywanie otoczenia jonów NH₄⁺ jego sferą koordynacyjną.
- 2) W nazwach niektórych faz niepotrzebnie jest dublowana informacja o stechiometrii przez używanie przedrostków zwielokrotniających (np. „trisolwat”) i liczb podawanych w nawiasach na końcu nazwy, np. (3:1:1). Z kolei na rys. 3.1.1.4 brakuje informacji o proporcjach składników.
- 3) Stosowanie w nazwach faz łącznie słów „solwat” i „etanol” oraz „trisolwat” i „acetonitryl” jest niepoprawne.
- 4) W spektroskopii Ramana pasm nie powinno się nazywać „pasmami absorpcji”.
- 5) Dotyczy opisu rentgenowskiej analizy strukturalnej w *Części doświadczalnej*:
 - Nie wynika z niego (1) jakimi metodami korygowano intensywności refleksów o poprawki wynikające z efektu absorpcji; (2) jakie więzy zastosowano podczas udokładniania atomów wodoru. (Z analizy tekstu głównego pracy, *Suplementu* i plików CIF, wynika, że termin „więzy” został użyty zarówno do więzów tzw. sztywnych – ang. *constraints*, jak i więzów miękkich – ang. *restraints*.); (3) w jaki sposób udokładniano niektóre atomy wodoru. (Procedury opisane w tabelach S1, S2, S4, S5-S8 dla wybranych atomów H w **QUE**, **QUE:O-DIA**, **QUE:KOF**, **QUE:KetHCl**, **QUE:NaDiK**, **II-VIII**, **BZFP** i **EBZFP** nie odpowiadają rzeczywistości.)
 - Parametry przemieszczenia atomów węgla grup etylowych w **QUE:EBZFP**, atomów C (i O) cząsteczek etanolu w **QUE:PYRSUL** i **QUE:NaNap** oraz atomów C cząsteczek DMSO w **VII** sugerują, że można próbować modelować ich nieuporządkowanie. Czy podjęto takie próby? (W **VII** byłoby to szczególnie zasadne, ponieważ w dwóch cząsteczkach DMSO atomy siarki są już udokładniane w dwóch pozycjach każdy.)
 - Długość fali Cu K α podana w tekście głównym pracy wynosi 1.5406 Å, natomiast w *Suplemencie* – 1.54184 Å.
 - Parametry sieci dla **QUE**, **BZFP**, **O-DIA**, **QUE:FEN**, **QUE:PYRSUL**, **QUE:NaDiK**, **VII** i **VIII** podane w *Suplemencie* (a także w rozdziale 5) i w plikach CIF różnią się precyzją. Te ostatnie wydają się mieć zbyt małe odchylenia standardowe.
 - Dotyczy tabel S1-S8: w niektórych tabelach brakuje liczby więzów miękkich; większość z przypisów do tabel S1-S5, S7 i S8 jest niepotrzebna; „Rigaku” to nazwa producenta dyfraktometrów, nie dyfraktometru; wartości kątów w tabelach S9-S14 podano w stopniach (nie w Å); ponieważ jon Na⁺ w kryształach **IV** leży na środku

symetrii – w tabeli S12 wystarczyło podać 6 wartości kątów (zamiast 15); w tabeli S13 brakuje kodów symetrii; wzory sumaryczne i masy molowe podane w tabelach S5 i S7 dla kryształów **QUE:NaNap**, **IV** i **VII** są nieprawidłowe i powinny być odpowiednio: $C_{48}H_{47}NaO_{20}$ i 966.84 g/mol (wtedy $Z = 2$), $C_{34}H_{35}NaO_{24}S_2$ i 914.73 g/mol (szczególnie że $Z = 1$) oraz $C_{21}H_{30}KO_{13}S_4$ i 657.79 g/mol (gdy $Z = 4$). [Poprawnie przyjęte przez Doktorantkę wzory związków w tekście głównym pracy, jak i stosowne komentarze na s. 154 i 221, jasno wskazują, że błędne wpisy w tabelach są wynikiem jedynie braku odpowiedniej redakcji pliku INS.]

6) Dotyczy interpretacji i omówienia oddziaływań międzycząsteczkowych w kryształach:

- Z opisu nie wynika, jakie odległości Doktorantka miała na myśli pisząc o „odległościach $\pi \cdots \pi$ ” lub „odległościach między aromatami” (między środkami pierścieni czy między środkiem jednego pierścienia a płaszczyzną drugiego). W końcu oddziaływania typu asocjacji warstwowej występują nie tylko między równoległymi układami aromatycznymi.
- Trudno mi się zgodzić, że „kontakty” $D-H \cdots A$ ($D = C, O, N$; $A = O, N$), w których odległość $H \cdots A$ jest znacznie większa od sumy promieni van der Waalsa atomów H i A (nawet 3.00 Å w tabeli 5.3.2.2.2.2), a kąt $D-H \cdots A$ przyjmuje wartość ok. 100° (a nawet 91° w tabeli 5.2.4.3.1), należy nazywać wiązaniami wodorowymi. Według mnie w kryształach **BZFP** i **EBZFP** nie ma klasycznych wiązań wodorowych, a ich struktura jest stabilizowana dużą ilością oddziaływań $C-H \cdots \pi$. Podobnie w strukturach kokryształów występują tego typu kontakty. W kryształach **QUE:KOF** niewykluczone jest występowanie oddziaływań $lp(O) \cdots \pi$ (wolna para elektronowa atomu tlenu grupy karbonylowej \cdots elektrony π układu aromatycznego). W kokryształach **QUE:PYRSUL**, oprócz omówionych w pracy oddziaływań, występują także kontakty typu $lp(S-O) \cdots \pi$. Odległość $O \cdots$ środek pierścienia wynosi w nich zaledwie 3.119(2) Å.

7) Pozostałe uwagi dotyczące prezentowania danych krystalograficznych:

- Tabele zawierające podstawowe informacje o kryształach omawianych w rozdziale 5.1 powinny zostać uzupełnione o temperaturę, w jakiej parametry sieci zostały wyznaczone (mimo że pełne wersje tabel umieszczono w *Suplemencie*). W kilku z nich brakuje też odchyień standardowych niektórych wartości.
- W podpisach rysunków przedstawiających struktury krystaliczne z uwzględnieniem elipsoid drgań termicznych dla atomów niewodorowych powinno się dodać informację o prawdopodobieństwie, z jakim je narysowano.
- Stwierdzenie, że koordynacyjne wstęgi w **III** biegną wzdłuż prostej sieciowej [110] byłoby bardziej precyzyjnym określeniem ich kierunku niż to, że są one „równoległe do płaszczyzny sieciowej ($1\bar{1}1$)”. W kryształach **VII** polimeryczne wstęgi budowane przez krystalograficznie różne kationy potasu K1 i K2 biegną wzdłuż kierunku [110], są więc względem siebie równoległe, nie prostopadłe.
- Etykiety atomów O(2SB) i O(3SB) w tabeli 5.3.2.2.2.2 zostały zamienione miejscami.

8) Przejrzystość pracy traci nieco w wyniku zastosowania zbyt dużej (w mojej ocenie) liczby poziomów listy numerowanej. Ponadto, sposób numerowania rysunków i tabel nie jest oczywisty. Przykładowo pierwszy rysunek w rozdziale 3.2.1.1.1 ma numer 3.2.1.1.1.1, ale w rozdziale 5.3.1.1.2.1 – 5.3.1.1.2.7.

- 9) Kolejność pojawienia się w tekście odsyłaczy do niektórych tabel nie odpowiada ich numeracji (np. odsyłacz do tabeli 3.2.1.4 jest przed odsyłaczem do tabeli 3.2.1.2, a odsyłacz do tabeli 3.2.1.1.2.2 jest przed odsyłaczem do tabeli 3.2.1.1.2.1).
- 10) Uważam, że niekorzystne dla odbioru tekstu jest używanie znaku pauzy ze spacją z obu stron w zastosowaniach „pozamyślnikowych”, tj. typu „gość – gospodarz”, „jon – jon”, „QUE – QUE”, „69 – 113”, a szczególnie w zapisie wiązań chemicznych „C2 – C1”.
- 11) W zapisie wartości temperatury, między wartością numeryczną a jednostką brakuje odstępu.
- 12) W pracy występują akapity jednozdaniowe.
- 13) Słowa „właściwości” i „własności” są używane zamiennie w tym samym znaczeniu, tj. dla określenia cech. Stosowane są dwie różne formy dopełniacza słowa „ko-former”, tj. „ko-formera” i „ko-formeru”. Na s. 52 użyłabym słowa „topologia” zamiast „topochemia”, a wszystkie „mikrografie” zamieniłabym na „mikrofotografie”.
- 14) W podpisie pod rys. 3.1.1.1. (a) i (b) zamieniono miejscami.
- 15) Zamiast „(Zaworotko i in., 2011).” powinno być „(Smith i in., 2011).” (s. 37 i 40).
- 16) W pracy znalazłam szereg niefortunnnych/niejasnych sformułowań:
- „mogą się upakować ściśle tylko selektywnie cząsteczki gości” (s. 22),
 - „Stabilizacja translacji cząsteczek” (s. 22),
 - „w parach zasad nukleofilowych” zamiast „...nukleinowych” (s. 27),
 - „resztami w tych aminokwasach są: benzen, fenol oraz indol” (s. 28),
 - „wodór” zamiast „atom wodoru” (s. 29), „tlenu” zamiast „atomu tlenu” (s. 57),
 - „grupy funkcyjne znajdują w różnych związkach” (s. 31),
 - „Formy krystaliczne cząsteczek mogą być jedno- lub wieloskładnikowe.” (s. 31),
 - „Charakter wieloskładnikowych form krystalicznych powoduje znaczące nakładanie się pomiędzy solami, ko-kryształami i solwatami.” (s. 32),
 - „2781 kryształów soli” zamiast „20781 kryształów soli” (s. 32),
 - „Termin ko-kryształ nie był spopularyzowany aż do 1990 roku, w dużej mierze do czasu Etter” (s. 32),
 - „Składniki ko-kryształów w warunkach otoczenia związane są m.in. przez oddziaływania niekowalencyjne” (s. 33),
 - „Ko-kryształy farmaceutyczne można syntetyzować za pomocą farmaceutycznie dopuszczalnych ko-formerów” (s. 36),
 - „Co istotne, w obu konformacjach cząsteczki mają planarne pierścienie aromatyczne (A, B i C) i są one koplarnarne.” (s. 49),
 - „cząsteczka QUE wykazuje polimorfizm syntonu supramolekularnego.” (s. 49),
 - „W analizowanych dotychczas fazach krystalicznych cząsteczka QUE przyjmuje konformację I”. Często, ale nie zawsze. (s. 49),
 - „cząsteczki QUE mogą być otoczone tylko cząsteczkami ko-formera i/lub rozpuszczalnika [...], aż po możliwość tworzenia nieskończonych struktur trójwymiarowych.” (s. 51),
 - „płaszczyna ślizgowa” zamiast „...poślizgu” (s. 52, 54),
 - „98.0 – 102.0%” o czystości związku chemicznego (s. 59),
 - „w tyglach aluminiowych [...] w zakresie temperatur 30–1450 °C” (s. 62),

- „osad [...] krystalizowałam z nasyconych wodnych roztworów otrzymanych przez rozpuszczenie osadu w temperaturze 80°C. Następnie produkt zobojętniłam do pH około 3,50.” (s. 65),
- „Widok perspektywiczny cząsteczek ko-kryształów” lub „...ko-kryształu” lub „...cząsteczki ko-kryształu” (s. 82, 96, 106, 115,...),
- „leżą w położeniu” (s. 84),
- „powyżej temperatury topnienia następuje sublimacja” (s. 93),
- „Cząsteczki wody są ligandami mostkującymi poszczególne sfery koordynacyjne” (s. 146) oraz „Polimeryczna sfera koordynacyjna akwakationów sodu” (s. 248),
- „Rzut cząsteczek w strukturze kryształów QUE:NaDik” (s. 146),
- „grup metylenowych $\delta(\text{CH}_2)$ podstawionych do pierścienia fenyllooctowego anionu” (s. 149),
- „C–Cl w *m*-chlorobenzenie” (s. 149),
- „badania rozszerzyły krajobraz” (s. 167),
- „Procent stałej pozostałości w temperaturze 600°C” (s. 216),
- „w cząsteczce anionu” (s. 242).

Wnioski końcowe. Pracę doktorską Pani mgr Urszuli Izabeli Maciołek oceniam bardzo wysoko, a zamieszczone w recenzji uwagi tej oceny nie umniejszają. Na wyróżnienie zasługuje zarówno bardzo aktualna tematyka, dobór metod analitycznych oraz sposób prowadzenia badań i poziom szczegółowości interpretacji uzyskanych wyników, ale także niezwykle estetyczna forma pracy. Wyniki dotyczące aktywności przeciwnowotworowej zostaną wkrótce opublikowane (praca w recenzji). Druga publikacja, na temat struktury i spektroskopii soli sodowych, jest w przygotowaniu. Myślę, że zgromadzony materiał, o dużej wartości naukowej, pozwoli opublikować jeszcze co najmniej dwie prace.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny przez Radę Wydziału Chemii UMCS rozprawa doktorska mgr Urszuli Izabeli Maciołek zatytułowana „*Rola cząsteczek kwercetyny w chemii supramolekularnej*” z nadmiarem spełnia wymagania określone w art. 13 *Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) i wnoszę o przyjęcie rozprawy doktorskiej oraz dopuszczenie mgr Urszuli Izabeli Maciołek do publicznej obrony oraz o wyróżnienie rozprawy.

U. Słojan