



Prof. dr hab. Maciej Stobiecki

Poznań 22.01.2016

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anny Troć  
pt. „Badanie struktury wybranych grup związków organicznych i ich kompleksów z  
wykorzystaniem techniki pomiaru mobilności jonów sprzężonej ze spektrometrią mas”,  
wykonanej w Instytucie Chemii Organicznej, Polskiej Akademii Nauk  
w Warszawie**

**Charakterystyka tematyki badawczej**

W ocenianej rozprawie doktorskiej przedstawione zostały wyniki badań nad zastosowaniami analitycznymi spektroskopii ruchliwości jonów jako dodatkowego czynnika rozdziału mieszanin substancji organicznych, będących związkami izobarycznymi lub różnego rodzaju izomerami, przy wykorzystaniu do identyfikacji oraz charakterystyki strukturalnej spektrometrów mas. Metoda badania ruchliwości jonów w sprzężeniu z spektrometrami masowymi jest w chwili obecnej wykorzystywana do analiz zarówno wysokocząsteczkowych biopolimerów, jak i niskocząsteczkowych substancji pochodzenia naturalnego jak i syntetycznego.

Aktualnie jest dostępnych komercyjnie na rynku aparatury analitycznej szereg tandemowych spektrometrów mas (CID MS/MS) wyposażonych w komory do badania mobilności jonów uzyskiwanych po wzbudzeniu cząsteczek (jonizacji), umożliwiającymi dodatkowy rozdział zjonizowanych cząsteczek na skutek różnych przekrojów czynnych i ruchliwości w określonych warunkach doświadczalnych związków organicznych będących izomerami konstytucyjnymi lub optycznymi.

Możliwości rozróżnienia metodami analitycznymi substancji o określonym, tym samym składzie elementarnym oraz bardzo zbliżonych własnościach fizykochemicznych, ze względu na ich budowę przestrzenną, przy zachowaniu odpowiedniej czułości, ma olbrzymie znaczenie dla rozwoju badań w zakresie szeroko pojętych nauk biologicznych (biologia systemów, biomedycyna, farmacja, nauki rolnicze).

W swoich pracach pani Troć podjęła działania aby wyjaśnić/określić wpływ szeregu parametrów (temperatury, ciśnienia, przebiegu procesu jonizacji – przyłączenie protonu albo kationu metalu, gazu buforowego, dodatek substancji kompleksujących lub związków chiralnych) na możliwości rozdzielenia mieszanin związków w analizowanych próbkach. W tym celu wykorzystywała metodę spektrometrii ruchliwości jonów w połączeniu ze spektrometrem mas, przy zastosowaniu rozwiązania polegającego na wykorzystaniu techniki wędrującej fali (T-Wave IMS) przy użyciu spektrometru mas firmy Waters model SYNAPT G2-S HDMS. Przedmiotem jej badań były związki organiczne należące do kilku różnych klas związków organicznych, częściowo produktów naturalnych. Jako substancje modelowe zostały wybrane: flawonoidy (katechiny, flawany, flawony i izoflawony), związki  $\beta$ -laktamowe, swoje badania przeprowadziła również na kompleksach kwasu foliowego z cyklodekstrynami oraz kaliksalenów i ich dimerycznych asocjatów.

### **Ocena rozprawy doktorskiej**

Rozprawa doktorska została napisana w tradycyjnym układzie na 162 stronach. Pierwszy rozdział zatytułowany Wstęp i cel pracy zawiera zwięzłe przedstawienie możliwości wykorzystania sprzężenia ze spektrometrem mas analizatorów pomiaru ruchliwości jonów (Ion Mobility – IM), szczególne zainteresowanie doktorantki wzbudziło podczas formułowania celów pracy wykorzystanie tej metody analitycznej do badań substancji pochodzenia naturalnego, głównie substancji niskocząsteczkowych i łączenia wyników przeprowadzonych eksperymentów z wynikami obliczeń teoretycznych dotyczących przekrojów analizowanych jonów. W zakończeniu tej części pracy zawarty jest spis publikacji, które ukazały się w piśmiennictwie naukowym na podstawie wyników uzyskanych podczas przygotowywania pracy doktorskiej. Należy podkreślić bardzo wysoki współczynnik oddziaływania czasopism w których ukazały się prace.

Kolejny, obszerny rozdział to przegląd literatury, w którym omówione zostały zagadnienia aparaturowe, a także możliwości wykorzystania różnych czynników i zjawisk lub

procesów przy określonych przekrojach czynnych jonów) badanych związków, wpływających na skuteczność rozdziału jonów związany z ich ruchliwością. Omówione zostały również wyniki prac poświęconych analizie strukturalnej różnych grup związków organicznych oraz ich kompleksów i związanych z tym zagadnieniem metod obliczeń kwantowo-chemicznych, pozwalających na weryfikację wyników analiz przeprowadzonych metodami fizykochemicznymi.

W rozdziale trzecim zostały omówione wyniki prac własnych przeprowadzonych podczas przygotowania rozprawy. Kandydatka wykonała badania na dwóch podklasach flawonoidów: katechinach zawierających centra chiralne oraz izomerach położeniowych flawonoli, flawonów oraz izoflawonów. Kolejne grupy związków stanowiły: diastereoizomery  $\beta$ -laktamów, niekowalencyjne kompleksy kwasu foliowego z cyklodekstrynami oraz kaliksany i ich dimeryczne połączenia. W opisanych w rozprawie doświadczeniach Doktorantka przeprowadziła szereg eksperymentów na wybranych grupach związków, wykazując możliwości wpływu warunków przeprowadzenia doświadczenia na rozdział jonów w spektrometrze ruchliwości jonów dzięki zmianom czynnika jonizującego (proton, kation metalu), rodzaju i ciśnienia gazów w komorze mobilności. Przeprowadzone doświadczenia i obliczenia teoretyczne charakteryzowały się dużą zgodnością wyników eksperymentalnych z danymi uzyskanymi przy wykorzystaniu kwantowo-chemicznych metod obliczeniowych.

W kolejnym rozdziale zostały przedstawione wnioski płynące z przeprowadzonych eksperymentów nad różnicami w mobilności jonów związków będących izomerami lub kompleksami analizowanymi podczas przygotowywania rozprawy doktorskiej oraz podsumowanie przedstawianych w rozprawie badań. W opinii oceniającego szczególnie interesującym jest wniosek iż prowadzenie analiz struktur przestrzennych jonów metodą IM MS w połączeniu z obliczeniami teoretycznymi jest skuteczniejszą metodą określania struktur od innych metod fizykochemicznych, to znaczy magnetycznego rezonansu jądrowego czy też krystalografii rentgenowskiej.

Ostatni rozdział rozprawy stanowi część eksperymentalna, w której opisane zostały stosowana aparatura oraz procedury wykonywania analiz na spektrometrze mas, a także opis programów wykorzystywanych podczas prowadzonych obliczeń teoretycznych wykonanych dla wszystkich badanych grup związków pod kątem określenia teoretycznych przekrojów czynnych i porównania tych wyników z danymi uzyskanymi podczas analiz fizykochemicznych dla tych samych grup substancji.

W czasie wykonywania doświadczeń z różnymi klasami związków, rozcieńczone, brane do analiz roztwory badanych związków były przygotowywane w różnych rozpuszczalnikach: metanolu lub mieszaninach woda metanol, przy zachowaniu takich samych lub zbliżonych stężeń substancji rozpuszczanych. Moje pytanie dotyczy składu procentowego rozpuszczalników, czy ten parametr mógł mieć wpływ na uzyskiwane wyniki doświadczeń? Skądinąd wiadomo, że skład rozpuszczalników w roztworze w czasie infuzji próbki do spektrometru mas podczas stosowania jonizacji poprzez elektrorozpraszanie ma zasadniczy wpływ na stosunek intensywności jonów  $[M+H]^+$  oraz  $[M+Na]^+$ .

W rozprawie został również zamieszczony obszerny spis literaturowy, a także na pierwszych stronach pracy zamieszczony został wykaz używanych skrótów. Muszę stwierdzić, że wprowadzony system cytowania znacznie skrócił przygotowany spis literatury, ale nie ułatwił oceny przydatności poszczególnych prac jako odnośników do omawianych zagadnień.

Należy podkreślić, iż w swoim dorobku naukowym Pani mgr Anna Troć posiada trzy publikacje w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, o znacznym współczynniku oddziaływania, dwie z nich posiadają IF powyżej 5. Zaakceptowanie tych artykułów przez *Analytical Chemistry* i *Chemistry—A European Journal* świadczy o dużym znaczeniu poznawczym dla środowiska naukowego przeprowadzonych przez Panią Troć badań.

Wyniki prac Doktorantki mogą mieć bardzo duże znaczenie dla poszerzenia możliwości wykorzystania techniki spektrometrii mas podczas wysokoprzepustowych badań metodami LC/MS próbek materiału biologicznego w dziedzinie biologii systemów (w naukach biologicznych, biomedycznych oraz rolniczych), podczas holistycznego podejścia do opisu problemów związanych z przebiegiem różnych procesów biologicznych. W związku z tym, pewien mój niedosyt podczas czytania rozprawy był związany z brakiem odniesień w tekście doktorantki do wykorzystania obserwowanych różnic w ruchliwości jonów wynikających z odmiennych przekrojów czynnych rozdzielanych jonów substancji będących izomerami lub izobarami i związane z tym możliwości wykorzystania kolejnego wymiaru rozdziału związków (poza chromatografią cieczową) do rejestracji widm CID MS/MS pozwalających na precyzyjniejszą charakterystykę strukturalną badanych związków. Ma to kapitalne znaczenie przy analizie związków będących izomerami, a nie podlegających rozdzielaniu metodami chromatografii cieczowej. Może mieć to znaczenie w naukach biologicznych i biomedycznych podczas wysokoprzepustowych, celowanych analiz LC/MS/MS próbek materiału biologicznego uzyskiwanego podczas badań nad

oddziaływaniem na organizmy (rośliny, zwierzęta) różnych czynników zewnętrznych (stresów) pod kątem zmian profili metabolitów wtórnych. Przykładem mogą być między innymi związki klasy flawonoidów oraz ich pochodnych glikozydowych, charakteryzujących się ściśle określoną rolą oraz ich aktywnością biologiczną.

### **Wniosek końcowy**

Podsumowując, przedstawiona do recenzji praca stanowi istotny wkład w poznanie zagadnień związanych z możliwościami analitycznego wykorzystania technik spektrometrii mas w badaniach strukturalnych niskocząsteczkowych związków organicznych, a także oddziaływań pomiędzy wybranymi klasami substancji. Niezwykle istotnym czynnikiem jest fakt, że poza pracami analitycznymi doktorantka zajęła się obliczeniami teoretycznymi, które pozwoliły na weryfikację uzyskanych wyników doświadczalnych. Prezentowane w rozprawie doktorskiej wyniki badań wnoszą interesujący wkład do wiedzy nad możliwościami wykorzystania technik spektrometrii mas w sprzężeniu z inną metodą analizy –spektroskopia ruchliwości jonów.

Wnioskuje więc o przyjęcie rozprawy doktorskiej przez Wysoką Radę Naukową Instytutu Chemii Organicznej PAN w Warszawie oraz dopuszczenie autorki, mgr Anny Troć do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnoszę o wyróżnienie rozprawy.

Maciej Stobiecki

