Prof. dr hab. Bronisław Marciniak
Wydział Chemii
marcinia@amu.edu.pl

Poznań, dnia 26 listopada 2024

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Ożóg
pt. ”Nowe układy chemiluminogenne wywodzące się z grupy estrów akrydyniowych - synteza, struktura, fizykochemia, optymalizacja pod kątem zastosowań analitycznych”

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Agnieszki Ożóg pt. ”Nowe układy chemiluminogenne wywodzące się z grupy estrów akrydyniowych - synteza, struktura, fizykochemia, optymalizacja pod kątem zastosowań analitycznych” wykonana została w Katedrze Chemii Fizycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego w Poznaniu pod kierunkiem prof. UG dr hab. Karola Krzymińskiego, promotora doktoratu. Rozprawa dotyczy aktualnej i o dużym znaczeniu dla chemii i medycyny tematyki, a mianowicie poznania mechanizmu utleniania estrów akrydyniowych prowadzącego do generowania chemiluminescencji o potencjalnym wykorzystaniu w diagnostyce medycznej i analityce.

Praca doktorska prezentuje obszerny materiał eksperymentalny i stanowi opracowanie naukowe o dużym znaczeniu poznawczym i aplikacyjnym. Została przedstawiona w formie tradycyjnej rozprawy i zawiera: wstęp teoretyczny, stanowiący wprowadzenie do własnych badań, cel badań, metodykę badawczą,

prezentację wyników wraz z dyskusją, podsumowanie oraz wnioski, a także streszczenie w języku polskim i angielskim oraz bibliografię. Praca zawiera także bardzo przydatny dla czytelnika wykaz najczęściej stosowanych skrótów, a także 8 złączników stanowiących kopie publikacji wchodzących w skład doktoratu (współautorskie publikacje obejmujące lata 2005-2016; Doktorantka przedstawiła swój wkład badawczy w rozdziale Wyniki). Rozprawa została przedstawiona na 132 stronicach; zawiera 60 rysunków, 7 tabel, 3 fotografie oraz spis cytowanej literatury - 130 pozycji literaturowych.

Szkoda, że Doktorantka nie przedstawiła swojej pracy doktorskiej w języku angielskim. Zamieszczenie obszernego streszczenia w języku polskim umożliwiłoby zapoznanie się z wynikami badań wszystkim zainteresowanym w kraju. W mojej opinii, prace doktorskie w naukach przyrodniczych i ścisłych na polskich uniwersytetach powinny w coraz większym stopniu być prezentowane w języku angielskim.

We wstępie teoretycznym Doktorantka przedstawiła podstawowe informacje dotyczące chemiluminescencji, kinetyki, wydajności kwantowej, metodyki pomiarów chemiluminescencji. Szczegółowo omówiła chemiluminescencję luminolu i jego pochodnych oraz pochodnych akrydyniowych, a także zastosowania chemiluminescencji w diagnostyce biomedycznej i analityce środowiskowej. Część ta została napisana w sposób poprawny, a prezentowany materiał został oparty na odpowiednio dobranych pozycjach literaturowych. W mojej opinii prezentacja omawianych w części literaturowej zagadnień jest w zupełności wystarczającym wprowadzeniem do przedstawianych dalej problemów badawczych. Szczególnie pozytywnie oceniam podrozdział 2.9 dotyczący zastosowania chemiluminescencji prezentujący w sposób jasny, a jednocześnie skrótowy, znaczniki i indykatory chemiluminescencyjne w diagnostyce biomedycznej (uwzględniając także osiągnięcia pracowników Katedry Chemii Fizycznej Uniwersytetu Gdańskiego). a także w analityce środowiskowej (co zostało podsumowane w Tabeli 4).

Głównym celem pracy, jak pisze Doktorantka w rozdziale 3. „Cel Badań", było „poznanie struktury, właściwości fizykochemicznych oraz cech chemiluminogennych obiecującej z punktu widzenia potencjału aplikacyjnego klasy związków zawierających chemiluminogenne kationy 10-metylo-9-(fenoksykarbonylo)-akrydyniowe". Jak zaznaczyła, literatura dotycząca chemiluminogennych estrów akrydyniowych, choć bogata, dotyczy głównie ich zastosowań w analityce. W konsekwencji badania prezentowane w doktoracie powinny doprowadzić do zaproponowania całościowego mechanizmu utleniania estrów akrydyniowych w roztworach wodnych wraz z wykazaniem wpływu struktury kationów, środowiska oraz warunków eksperymentalnych na obserwowaną chemiluminescencję.

Szczegółowe cele badawcze dotyczyły m.in. optymalizacji dróg syntezy badanych pochodnych akrydynowych i ich soli akrydyniowych, uzyskanie monokryształów i analizy ich struktury metodą dyfraktometryczną, poznania i opisania ich właściwości spektralnych absorpcyjnych i emisyjnych (IR, NMR, UV-Vis, fluorescencja) oraz widm masowych, ilościowego opisania ich chemiluminescencji (kinetyki zaniku i wydajności emisji), a także wskazanie użyteczności badanych układów chemiluminogennych w analityce. Podjęte w rozprawie cele badawcze uważam za ambitne i w pełni uzasadnione naukowo, co Doktorantka wykazana w dalszych rozdziałach rozprawy doktorskiej.

Rozdział 4 rozprawy „Metodyka Badań", składa się z czterech części. W pierwszej części zostały przedstawione struktury badanych związków (27 soli akrydyniowych oraz 27 ich prekursorów akrydynowych) wraz z numeracją związków stosowanych w rozprawie. Następne części rozdziału 4 zawierają opis stosowanych materiałów, metody syntezy i izolacji badanych związków oraz stosowaną aparaturę, metody badawcze i procedury pomiarowe. Na podkreślenie zasługuje różnorodność zastosowanych metod spektroskopowych takich jak: rentgenografia strukturalna monokryształów, spektrometria mas, spektroskopia elektronowa absorpcyjna i emisyjna, spektroskopia oscylacyjna i spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego. Podobnie jak poprzednie rozdziały

rozdział „Metodyka Badań” oceniam pozytywnie. Doktorantka w swoich badaniach zastosowała poprawnie dobrane metody badawcze, co w konsekwencji doprowadziło do osiągniecia zamierzonych celów badawczych.

Naturalną konsekwencją rozdziału 4 rozprawy „*Metodyka Badań*”, jest rozdział 5 „Wyniki”. Doktorantka w sposób systematyczny przedstawia i analizuje w nim uzyskane wyniki dotyczące: (1) syntezy estrów akrydyniowych i ich prekursorów, (2) potwierdzenia składu chemicznego, budowy i czystości uzyskanych związków, (3) struktury i oddziaływań międzycząsteczkowych w krystalicznej fazie stałej wybranych czterech soli akrydyniowych i jednego prekursora akrydynowego, (4) elektronowej spektroskopii UV-Vis (absorpcyjnej i emisyjnej) wybranych związków w różnych rozpuszczalnikach, wsparte obliczeniami teoretycznymi (5) spektroskopii oscylacyjnej wybranych związków oraz (6) cech chemiluminescencyjnych badanych związków. Jest to najważniejszy podrozdział rozprawy doktorskiej przedstawiający w sposób jasny i systematyczny zdolności cheminoluminogenne badanych 27 soli akrydyniowych z różnego typu podstawnikami we fragmencie fenylowym.

Rozdział 5 „Wyniki” oceniam pozytywnie, a w szczególności:

(1) prezentowaną na str. 87-90 dyskusję wpływu rozpuszczalnika na widma absorpcji i fluorescencji umożliwiającą oszacowanie zmian momentu dipolowego podczas wzbudzenia oraz analizę właściwości fotofizycznych badanych związków, ale przede wszystkim
(2) podrozdział 5.6 (str. 93- 107) z ilościową analizą chemiluminescencji badanych związków.

Rozdział 6 zawiera podsumowanie wyników badań uzyskanych w pracy doktorskiej, które przedstawione zostały w sposobów jasny i precyzyjny, choć w mojej opinii niekiedy zbyt skrótowy. Podobna pozytywna ocena dotyczy rozdziału 7 „Wnioski”, Jednakże, w mojej opinii rozdziały 6. „Podsumowanie” oraz 7. „Wnioski” mogły być prezentowane wspólnie, co ułatwiłoby czytanie rozprawy.

Do najważniejszych osiągnieć rozprawy zaliczam:

1. Zoptymalizowanie warunków syntezy i przeprowadzenie syntez kilkudziesięciu soli akrydyniowych i ich prekursorów.
2. Stosując analizę rentgenograficzną określenie struktury oraz oddziaływań międzycząsteczkowych dla kilku wybranych związków soli akrydyniowych w krystalicznej fazie stałej (Tabele 6 i 7).
3. Poznanie i opisanie właściwości absorpcyjnych i emisyjnych 8 wybranych kationów 10-metylo-9-(fenoksykarbonylo)akrydyniowych i ich prekursorów akrydynowych wsparte wynikami obliczeń kwantowo-mechanicznych. Wykazanie, że absorpcja kationów akrydyniowych nie zakłóca generowanej z ich udziałem chemiluminescencji.
4. Wykonanie widm w podczerwieni kilku wybranych soli akrydyniowych i ich prekursorów akrydynowych oraz skorelowanie liczb falowych dla wybranych drgań normalnych (np. drgania zginającego $C_{(15)}$-$O_{(17)}$- $C_{(18)}$ lub drgania rozciągającego C=O odpowiednio z parametrami fizykochemicznymi podstawników w położeniu 2 pierścienia fenylowego lub ze wzrostem ładunków cząstkowych na atomach węgla w położeniach C(9). Korelacje te mogą być pomocne do wstępnej oceny podatności kationów akrydyniowych na utlenianie generujące chemiluminescencję.
5. Wykazanie występowania chemiluminescencji dla 27 badanych soli akrydyniowych utlenianych nadtlenkiem wodoru w alkalicznych roztworach wodnych i alkoholowych. Badania obejmowały wyznaczenie i analizę profili czasowych świecenia i kinetyki chemiluminescencji oraz wyznaczenie wydajności kwantowej chemiluminescencji (Φ_{Cl}) , względnej użyteczności (RU) badanych związków, określenie wpływu stężenia utleniacza, użytej zasady, pH roztworu oraz wskazanie przydatności badanych układów w analityce. Stwierdzono, że badane układy wykazują niskie wartości wydajności kwantowej chemiluminescencji $\Phi_{Cl} \sim 10^{-2}$ einsteina/mol, co w świadczy o znacznym udziale reakcji ciemnych nie prowadzących do chemiluminescencji.

6. Wyznaczenie wartości względnej użyteczność RU badanych związków (Rysunek 53), co pozwoliło na wytypowanie kilku kationów akrydyniowych (RU > 90%) jako optymalne indykatory znaczników chemiluminescencyjnych. Znalezienie liniowej relacji pomiędzy liczbą emitowanych fotonów w chemiluminescencji a stężeniem chemiluminogenów w zakresie 10^{-10}-10^{-5} mol/dm^3 daje możliwość zastosowania badanych układów w analityce.

Badania mgr Agnieszki Ożóg zawarte w rozprawie doktorskiej, przyniosły niewątpliwie wiele nowych i oryginalnych wyników rozszerzających wiedzę dotyczącą chemiluminescencji związków akrydyniowych. Ważnym podkreślenia jest mulidyscyplinarny charakter przeprowadzonych badań oraz umiejętne zastosowanie różnorodnych metod badawczych począwszy od syntezy związków, i otrzymywania monokryształów poprzez badania spektroskopowe i rentgenograficzne, obliczenia kwantowo-mechaniczne do szczegółowych badań ilościowych chemiluminescencji.

Na zakończenie z obowiązku recenzenta chciałbym przedstawić kilka uwag krytycznych.

Pierwsza dotyczy prezentacji w doktoracie wyników obliczeń semiempirycznych metodami takimi jak AM1 i CNDO/S (załącznik 7). Szkoda, że Doktorantka nie powtórzyła tych obliczeń (dla potrzeb doktoratu) stosując dostępne współcześnie metody obliczeniowe takie jak ab initio lub DFT.

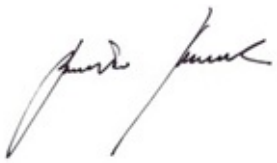
Druga uwaga dotyczy drobnych pomyłek, w tym edytorskich, nie wpływających na jakość rozprawy, np. takich jak:

- str. 62, wiersz 4: brak w rozprawie Schematu 1 (związki przestawiono na Rysunku 35)
- str. 88, wiersz 5: w miejsce Rysunek 39 powinno być Rysunek 41
- str. 83, Fotografia 3, wymaga krótkiego opisu wyjaśniającego co prezentuje fotografia
- str. 97, Rysunek 46A: podpis na osi x w języku angielskim

- str. 104, wiersz 7 od dołu: w miejsce Rysunek 52 powinno być Rysunek 53.

Jak wynika z przedstawionej oceny rozprawy Doktorantka należy do grupy naukowców umiejących z powodzeniem uczestniczyć w badaniach z zastosowaniem różnorodnych metod i technik badawczych. Jest współautorem artykułów naukowych opublikowanych głównie w renomowanych, specjalistycznych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, co świadczy o Jej umiejętności pracy w zespole badawczym. Realizacja przez Doktorantkę dobrze zaplanowanych badań mających zarówno charakter badań podstawowych jak i aplikacyjnych, a także Jej rozwój naukowy zasługują na pozytywną ocenę. Jestem przekonany, że wyniki badań zaprezentowane w rozprawie doktorskiej stanowią materiał do dalszego rozpowszechnienia, np. w postaci artykułu przeglądowego.

Reasumując stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Agnieszki Ożóg odpowiada swoim poziomem naukowym i metodycznym wymaganiom ustawowym i zwyczajowym stawianym pracom doktorskim. Upoważnia mnie to do postawienia wniosku o przyjęcie pracy i dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Bronisław Marciniak