



Białystok, 08.08.2019 r

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Roberta Czochary
pt. „Otrzymywanie, stabilność termiczna oraz właściwości antyoksydacyjne
sfunkcjonalizowanych pochodnych fulerenu C₆₀”

Praca doktorska Pana mgr Roberta Czochary została wykonana w Pracowni Technologii Organicznych Materiałów Funkcjonalnych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Grzegorza Litwinienko.

Dorobek badawczy Doktoranta w zakresie przedstawionej pracy stanowią cztery artykuły naukowe, wszystkie opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym i dobrym współczynniku oddziaływania IF. Dodatkowo jedna praca została zaakceptowana do druku. Część badań była przedmiotem zgłoszenia patentowego. Doktorant jest również współautorem 20 wystąpień konferencyjnych (postery i komunikaty) prezentowanych na konferencjach i seminariach o zasięgu ogólnopolskim i międzynarodowym.

Praca dotyczy badania właściwości nowych, kowalencyjnych koniugatów fulerenu C₆₀ z małowcząsteczkowymi związkami organicznymi zawierającymi grupy aminowe lub hydroksylowe (związane z pierścieniem aromatycznym). Do badań Doktorant wybrał fulereny, które charakteryzują się efektywnym przyłączaniem rodników alkosylowych i alkilowych oraz pochodne fenoli, które są zdolne do redukcji rodników nadtlenkowych. Za cel Doktorant postawił sobie sprawdzenie wpływu inhibicji otrzymanych związków w trzech rodzajach procesów: wysokotemperaturowego utleniania lipidów oraz węglowodorów; autooksydacji węglowodorów aromatycznych oraz utleniania estru kwasu tłuszczowego w środowisku wodnym.

Zagadnienia podjęte w rozprawie doktorskiej mgr Roberta Czochary bardzo dobrze wpisują się w nowoczesne trendy badawcze: poszukiwania antyoksydantów posiadający szeroko zakresową aktywność przeciwrodnikową.

Dostarczona do recenzji praca obejmuje 178 stron maszynopisu, w tym: „Cel pracy” stanowiący również wprowadzenie (2 strony) – cel pracy został dodatkowo przedstawiony w „Części eksperymentalnej” w podrozdziale II.1 pod nazwą „Idea i plan badań”, „Przegląd literatury” (42 strony), „Część

eksperymentalną” (84 strony), „Dyskusję wyników” (29 stron) oraz „Wnioski końcowe” (2 strony). W skład pracy wchodzi również: „Wykaz skrótów” (1 strony), „Bibliografia” (11 stron, z imponującą ilością 349 pozycji piśmiennictwa) oraz streszczenia w języku polskim i angielskim wraz z dorobkiem naukowym oraz załączniki, w których doktorant zamieścił widma NMR, Termogramy TG oraz publikacje własne.

„Część literaturową” autor podzielił na dwa główne podrozdziały. Pierwszy poświęcił fulerenom, ze szczególnym zwróceniem uwagi na fuleren C_{60} . Omówił rozpuszczalność, aromatyczność oraz reaktywność tych struktur węglowych. Podał przykłady modyfikacji fulerenów poprzez: podstawienie atomów węgla heteroatomami; wprowadzenie cząsteczki lub jonu do jego wnętrza (funkcjonalizacja endoherdralna) oraz modyfikacje wynikające z przyłączenia różnych podstawników po zewnętrznej stronie fulerenu (funkcjonalizacja egzohedralna). Ze względu na mnogość istniejących metod autor krótko je omówił więcej uwagi zwracając na pokazanie sposobów modyfikacji fulerenów, które sam stosował w pracy. W drugim rozdziale, tej części pracy Pan mgr Czochara zamieścił informacje na temat procesów antyoksydacyjnych, w tym omówił reaktywne formy tlenu oraz mechanizm autoksydacji. Antyoksydanty autor podzielił na prewentywne i interwentywne. W punkcie widzenia celów i założeń pracy dokładnie omówił on mechanizm antyoksydacyjnego działania fenoli, które należą do grupy antyoksydantów interwentywnych, przerywających łańcuch reakcji rodnikowych. Kolejnym podjętym zagadnieniem, były parametry charakteryzujące aktywność antyoksydacyjną oraz sposoby wyznaczania tej aktywności, które zostały przedstawione w dwóch kolejnych podrozdziałach i stanowiły wstęp do rozdziału mechanizmy działania antyoksydantów. W następnych punktach omówione zostały metody analizy termicznej: termogravimetria i skaningowa kalorymetria różnicowa, które zostały wykorzystane do badania modyfikacji fulerenów (TGA) oraz stabilności oksydatywnej węglowodorów (DSC). W ostatnim rozdziale części literaturowej autor przedstawił właściwości antyoksydacyjne fulerenów, stwierdzając, że fulereny mogą wychwytywać rodniki alkilowe, co ogranicza ich potencjalne zastosowanie jako przeciwutleniaczy. Cecha ta była podstawą do modyfikacji fulerenów związkami fenolowymi i przedmiotem przedstawionej do rozprawy pracy.

Najbardziej obszerną częścią pracy jest rozdział „Część eksperymentalna”. Podzielony on został na pięć podrozdziałów. W pierwszym po raz kolejny Doktorant przedstawił cel i założenia pracy oraz plan badań. Kolejne zawierały opis aparatury i metodyki pomiarów; opis syntez, metodykę oczyszczania i wydzielenia oraz identyfikację pochodnych fulerenowych. Rozdział piąty, tej części pracy zawierał badania aktywności antyoksydacyjnej z udziałem uzyskanych przez Doktoranta sfunkcjonalizowanych egzohedralnie fulerenów. Wpływ na procesy wysokotemperaturowego utleniania lipidów Pan mgr Czochara postanowił określić badając utlenianie kwasu stearynowego, kwasu linolenowego oraz polietylenu o dużej gęstości wykorzystując do tego celu skaningową kalorymetrię różnicową. Badania niskotemperaturowych procesów autoksydacji kumenu i styrenu prowadzone były w obecności tlenu, w układzie homogenicznym w rozpuszczalnikach organicznych. Trzecia część badań dotyczyła wyznaczenia aktywności antyoksydacyjnej linolanu metylu w obecności sześciopodsawionej pochodnej fulerenu VIII, która jako jedyna była

rozpuszczana w wodzie. Badania prowadzono w układzie emulsyjnym w którym ester nienasyconego kwasu znajdował się w formie miceli przy pH = 4 i 7.

„Dyskusja wyników” rozpoczyna się krótkim wstępem uzasadniającym podjęcie badań przedstawionych w rozprawie. Doktorant omówił sposób wprowadzania i łączenia grup fenolowych na powierzchni fulerenów. Jako pierwszą zastosował on metodę Prado polegającą na łączeniu związków fenolowych z fulerem przez pierścień pirodymowy w wyniku reakcji metyloglicyny z odpowiednim aldehydem. W ten sposób autor uzyskał pięć pochodnych z różnymi wydajnościami, w tym jedną podwójnie podstawioną (pochodna chromanu). Kolejne dwie pochodne charakteryzowały się bezpośrednim połączeniem fulerenu z pierścieniem aromatycznym fenolu. Związek VI Pan mgr Czochara uzyskał w wyniku zastosowania metody Zhu, która polegała na reakcji ksylenu z C₆₀, katalizowanej chlorkiem glinu. Rozdzielenie produktów dokonał on metodą chromatografii kolumnowej wydzielając frakcję zawierającą tetrapodstawioną pochodną fulerenu VI. Związek VII (pentapodstawioną pochodną fulerenu) Doktorant otrzymał metodą zaproponowaną przez Nakamurę w wyniku reakcji Grignarda odpowiednio zabezpieczonej, od strony grupy hydroksylowej, pochodnej fenolu z fulerem i jej odebzpieczeniem w kolejnym etapie. Związkiem VIII była zmodyfikowana sześcioma grupami fenolowymi pochodna fulerenu, tym razem pierścień fenolowy połączono ze szkieletem węglowym przez grupę aminową. Ilość grup modyfikujących fuleren C₆₀ Doktorant określał za pomocą analizy termogravimetrycznej wykorzystując różnicę w temperaturach rozpadu szkieletu węglowego fulerenu i wprowadzonych niskocząsteczkowych organicznych grup funkcyjnych.

Uzyskane związki jak również fenole będące substratami w stosowanych reakcjach Doktorant badał w procesach utleniania kwasu stearynowego, linowego i polietylenu o dużej gęstości. Stwierdził on, że uzyskane pochodne fulerenów są efektywnymi inhibitorami utleniania kwasu stearynowego w temperaturze od 50 - 200°C. W przypadku kwasu linolenowego nie zaobserwował on takiej tendencji z wyjątkiem pochodnej VIII, która wykazywała umiarkowane właściwości przeciwutleniające. Pan mgr wyjaśnił to małą wartością stosunku stałej szybkości inhibicji do stałej propagacji reakcji utleniania kwasu. Polietylen poddawany wysokotemperaturowemu utlenianiu wykazywał stabilność w obecności zarówno fulerenu jak i pochodnych II, II, VI, VII. Doktorant dodatkowo potwierdził, że efektywność stabilizująca zależy od stężenia tych związków. Wyznaczał on parametry kinetyczne utleniania, takie jak energia aktywacji oraz globalna szybkość reakcji utleniania za pomocą skaningowej kalorymetrii różnicowej.

Do badań autooksydacji w układach homogenicznych styrenu i kumenu w temperaturze 30°C mgr Czochara wykorzystał wszystkie zsyntezowane pochodne fulerenu oraz 4-hydroksydifeniloaminę. Stwierdził, że zarówno niezmodyfikowane cząsteczki C₆₀ jak i pochodne nie zawierające grupy fenolowej nie wykazywały efektu hamującego procesy utleniania styrenu i kumenu. Pochodne fenolowe spowalniały proces autooksydacji tych węglowodorów, a wśród nich najbardziej aktywny okazał się związek VIII.

Badania w układzie heterogenicznym Doktorant przeprowadził dla heksapodstawionej pochodnej fulerenu VIII i aminofenolu oraz PHMC jako substancji referencyjnej. Jedynie związek VIII wykazywał

rozpuszczalność w warunkach pomiarowych, czyli układzie emulsyjnym woda - ester metylowy kwasu linolowego stabilizowanym Tritonem X-100. Pomiarów prowadzono przy pH 4 i 7 obserwując różnice we właściwościach antyoksydacyjnych. W środowisku obojętnym oba związki hamowały utlenianie linolanu metylu. Dodatkowo Pan mgr Czochara wykazał, że oba związki wykazują synergizm z PHMC w zarówno w roztworze o odczynie kwasowym jak i obojętnym.

Podsumowując, uważam, że w wyniku przeprowadzonych badań autor uzyskał bardzo ciekawe wyniki eksperymentalne. Doktorant otrzymał 7 różnych pochodnych fulerenu C₆₀. Różniły się one obecnością grup fenolowych lub pochodnych aminowych. Różna była również ilość grup fenolowych wynikająca z uzyskania di-, terta-, penta- i hekso-zmodyfikowanych fulerenów. Czy różna ilość grup funkcyjnych może wpływać na właściwości antyoksydacyjne szkieletu fulerenowego? W układzie pojawiły się dodatkowe wiązania podwójne, pierścienie chromanowe, grupy metylowe w pozycji orto do grupy hydroksylowej, inne były sposoby łączenia fulerenu z małowcząsteczkowymi związkami organicznymi. W pracy zabrakło hipotez badawczych dotyczących wyboru związków modyfikujących C₆₀. Brakuje również dyskusji na temat wpływu wspomnianych czynników strukturalnych, na aktywność antyoksydacyjną lub jej brak. Proszę o komentarz w tej kwestii.

Do tekstu rozprawy zakradła się pewna liczba nieściśłości i błędów, z których kilka z obowiązku recenzenta wymieniam. Str. 130 „stabilności oksydatywnej czystej STA” powinno być czystego STA. Str. 132 „difenyloamina” powinno być difenyloaminy. Str. 134 „zgodne” powinno być „zgodny”. Str. 152 „różne stała szybkości”. Brak kropki na końcu zdania str. 136.

Moje zastrzeżenia budzi pisownia nazw związków organicznych i zastosowanie „pauzy” – myślnika, czyli długiej kreski. Zgodnie z zasadami stosowanym w nazewnictwie związków organicznych liczebniki i oznaczenia literowe powinny być łączone przez „łącznik” – dywiz, czyli najkrótszą kreskę. Np. jest „2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylowy” powinno być 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylowy. W niektórych nazwach Doktorant stosuje dywiz np. „ester metylowy kwasu *cis,cis*-9,12- oktadekadienowego” jednakże po 12 nie powinno być spacji. Pragnę zwrócić uwagę, że podpisy pod wykresami w załącznikach 1-2 zawierają nazwy związków zapisane prawidłowo.

Nazwy polimerów: Triton X-100 – prawidłowa nazwa powinna brzmieć 4-(1,1,3,3-tetrametylobutylo)fenylopoli(glikol etylenowy). Str. 21 jest polichlorek winylu powinno być poli(chlorek winylu). Funkcjonująca nazwa zwyczajowa AIBN to 2,2'-azobisizobutyronitryl a nie „2,2'-azobisizobutyronitryl”.

Pragnę zwrócić uwagę na szatę graficzną manuskryptu. Praca została bardzo starannie wykonana. Dotyczy to zarówno staranności tekstów jak i przygotowania wykresów i rysunków. Imponująca jest ilość cytowanych pozycji literaturowych i biegłość Doktoranta w posługiwaniu się literaturą przedmiotu w celu potwierdzenia stawianych hipotez i wysuwanych wniosków. Zakres wykonanej, przez Doktoranta, pracy badawczej, tj. przygotowanie różnych pochodnych fulerenu C₆₀, oraz badania fizykochemiczne i antyoksydacyjne wymagał interdyscyplinarnej wiedzy teoretycznej i umiejętności preparatywnych. Pan

mgr Czochara wykazał się znajomością różnorodnych technik na podstawie, których potrafił opracować wyniki i wyciągnąć wnioski.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska Pana mgr. Roberta Czochary zawiera elementy nowości naukowej, co zostało również udokumentowane artykułami opublikowanymi w czasopismach o zasięgu międzynarodowym znajdujących się na liście filadelfijskiej i zgłoszeniem patentowym. Stanowi ona ważny wkład w rozwój badań nad opracowaniem nowej klasy przeciwutleniaczy na bazie fulerenów, antyoksydantów i zachodzących podczas utleniania procesów rodnikowych. Na podkreślenie zasługuje kompleksowość przeprowadzonych badań. Zamieszczone uwagi stylistyczne nie mają wpływu na bardzo dobrą ocenę merytoryczną badań przedstawionych w pracy. Natomiast przedstawione komentarze wynikają z zainteresowania opisanymi wynikami rozprawy.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca Pana mgr. Roberta Czochary spełnia wymagania „Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym...” z dnia 18 marca 2011 r i zwracam się do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie mgr. Roberta Czochary do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Agnieszka Z. Wilczewska