Siedlce, 18.11.2024 roku

Dr hab. Danuta Branowska prof. uczelni

Instytut Nauk Chemicznych

Ul. 3 Maja 54,

Uniwersytet w Siedlcach

Ul. Konarskiego 2

08-110 Siedlce

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pana mgra inż. Marcina Łuczyńskiego zatytułowanej „ Badania nad syntezą i właściwościami nowych pochodnych 1,3,4-oksadiazolu jako składników chelatów mikroelementowych".

Praca doktorska została zrealizowana pod kierunkiem Pani prof. dr hab. inż. Agnieszki Kudelko w Katedrze Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemii Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej w Gliwicach.

Recenzja została przygotowana na wniosek Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Politechniki Śląskiej Pani prof. dr hab. inż. Doroty Neugebauer (pismo RDNCh.512.9.2024).

Praca doktorska przedstawiona mi do recenzji zawiera klasyczne rozdziały charakterystyczne dla prac eksperymentalnych z podziałem na: część literaturową, część badawczą, podsumowanie i część eksperymentalną. Dysertacja to 179 stron: wstęp i cel pracy 1 strona, budowa, metody syntezy, właściwości i zastosowanie oksadiazoli z uwzględnieniem chelatów mikroelementowych to 40 stron. Cel pracy i badania nad syntezą symetrycznych i niesymetrycznych 1,3,4-oksadiazoli wraz z podsumowaniem to 47 stron. Opis szczegółowy procesów eksperymentalnych to 24 strony. Ponadto doktorant umieścił w pracy bibliografię składającą się ze 142 pozycji o zasięgu światowym. Dorobek naukowy autora, publikacje, udział w projektach, konferencjach zostały umieszczone na 3 stronach. Nieczęsto zdarza się wprowadzenie do pracy wszystkich widm potwierdzających poprawność wykonanych eksperymentów i zaprojektowanych syntez co stanowi 38 stron.

Oksadiazole to związki z grupy heterocyklicznych układów pięcioczłonowych z dwoma atomami azotu i jednym atomem tlenu. Według szeregu opracowań monograficznych to jedna z bardziej przebadanych klas związków heterocyklicznych. Dla potwierdzenia powyższych informacji chciałabym tutaj przytoczyć statystykę, którą opracowałam na potrzeby recenzji, ale również w celu zrozumienia kolejności wprowadzonych rozdziałów przez Doktoranta. Na podstawie bazy bibliometrycznej Web of Science na dzień 5.11.2024 roku pod słowem wyszukiwania topic – „oxadiazole" zarejestrowano 9747 dokumentów (od 1912 – 2025). Do 2005 roku liczba artykułów nie przekraczała 100, natomiast po 2005 ich ilość to 300-450 rocznie. Pod hasłem „1,2,3-oxadiazole" znalezionych zostało tylko 46 publikacji, jest to najmniej przebadana grupa oksadiazoli. „1,2,5-Oxadiazole" to 478 artykułów, a „1,2,4-oxadiazole" - 1500, pod słowem „1,3,4-oxadiazole" znalezionych zostało 5476 opracowań naukowych. Na podstawie przedstawionej analizy widać

olbrzymią rozbieżność pod względem zainteresowań naukowców tą grupą układów heterocyklicznych. Z analizy literatury wykonanej przez doktoranta można również dostrzec zróżnicowane zainteresowanie, które jest opracowane najobszerniej i najbardziej szczegółowo dla pochodnych 1,3,4-oksadiazoli, chociaż wynika to także z zainteresowań naukowych Promotorki Pani prof. dr hab. inż. A. Kudelko.

1,3,4-Oksadiazol jest ważną klasą heterocyklicznych układów, stanowi on główny budulec dla szerokiej grupy środków terapeutycznych o właściwościach przeciwcukrzycowych, przeciwbakteryjnych, przeciwzapalnych, przeciwgrzybiczych, przeciwdrgawkowych, przeciw HIV itp. Spośród pochodnych 1,3,4-oksadiazolu, 2,5-niesymetrycznie dipodstawione pochodne przyciągnęły znaczną uwagę ze względu na ich różnorodne właściwości lecznicze. 1,3,4-Oksadiazole znalazły również zastosowanie w rolnictwie ze względu na swoje właściwości chwastobójcze, owadobójcze i grzybobójcze oraz właściwości aplikacyjne w metalurgii jako materiały antykorozyjne. Autor nie omieszkał dodać rozdziału dotyczącego „chelatów mikroelementowych", co jest bardzo zrozumiałe ze względu na tytuł dysertacji zawierający te dwa słowa. Konstruktywny i rzetelny przegląd literatury światowej w tym zakresie zaowocował publikacją w Applied Sciences w 2022 roku autorstwa Doktoranta i Promotorki. Znaczący fragment części teoretycznej dotyczy metod syntezy 1,3,4-oksadiazoli. I tu chciałabym pochwalić doktoranta i zwrócić uwagę na jego zaangażowanie w opis, przemyślany, ale jednocześnie zwięzły, w postaci schematu grupującego metody pod kątem typu reakcji chemicznych. Nie budzi wątpliwości moja pozytywna opinia o nabytej wiedzy Doktoranta w tym obszarze zainteresowań, co zaowocowało umiejętnością jej wykorzystania przy projektowaniu nowych układów nieznanych w literaturze, ale również dało się zauważyć nabycie kompetencji Doktoranta przy rozwiązywaniu powstałych problemów syntetycznych w czasie realizacji zamierzonych celów pracy doktorskiej.

Badania własne to najobszerniejsza część pracy. Została podzielona na dwa główne rozdziały, ze względu na charakter i budowę syntetyzowanych struktur. Badania własne to opis szeregu eksperymentów wykonanych przez Doktoranta, pokazujących jego dojrzałość naukową oraz umiejętność w poszukiwaniu najlepszych rozwiązań problemów badawczych. Praca projektowa dotyczyła syntezy dwóch rodzajów związków chemicznych o budowie symetrycznej i niesymetrycznej, oczywiście z grupy tytułowych pochodnych 1,3,4-oksadiazoli zawierających ugrupowanie bis(karboksymetylo)aminowe jako ligandów dla kompleksowania metali o potencjalnym znaczeniu biologicznym. Doktorant rozpoczął próby w tym zakresie od syntezy układów symetrycznych, co jest bardzo logiczne ze względu na fakt, iż reakcje chemiczne przebiegają dla obecnych labilnych grup w szkielecie w analogiczny sposób, wymagając jedynie nadmiarów wprowadzanych reagentów. Związkami wyjściowymi dla tej grupy układów były handlowo dostępne chlorki kwasowe bromoalkilowe o zróżnicowanej liczbie atomów węgla, od jednego do czterech atomów w grupie alkilowej, dając 4 nowe modele do kolejnych etapów reakcji. Procesy z wodzianem hydrazyny przyniosły Autorowi, jak sądzę, pierwsze rozczarowania, gdyż wydajności otrzymanych diacylohydrazyn były niesatysfakcjonujące, co doktorant zauważył i rozpoczął poszukiwania i optymalizacji tych procesów używając różnych zasad, jak i rozpuszczalników. W efekcie poszukiwań diacylohydrazyny zostały otrzymane z wydajnościami w zakresie 65 – 79% jako czyste jednorodnie związki.

Drugi etap w syntezie symetrycznych pochodnych 1,3,4-oksadiazoli był przeprowadzony w obecności tlenochlorku fosforu. Ten cyklodehydratujący reagent spełnił swoją rolę, prowadząc do utworzenia 4 nowych struktur 2,5-dialkilowych pochodnych oksadiazoli z obecnymi atomami bromu w pozycjach terminalnych grup metylowych, etylowych, propylowych i butylowych. Produkty zostały otrzymane z wydajnościami 40-76%. Kolejny etap to reakcja podstawienia z nukleofilami azotowymi, a

w szczególnym przypadku to reakcja z kwasem iminodioctowym. Pomimo wykonanych wielu eksperymentów z różnymi zasadami i rozpuszczalnikami, nie udało się otrzymać pochodnych 2,5-dialkilo-1,3,4-oksadiazoli. W tym miejscu chciałabym zapytać Doktoranta, czy nie próbował zastosować silniejszych zasad np. wodorku sodu lub *tert*-butanolanu potasu, i dlaczego?

Bardzo dobrym pomysłem Doktoranta było przekształcenie kwasu iminodioctowego w ester, co wydłużyło zaprojektowaną syntezę o dodatkowe dwa etapy (estryfikacji i hydrolizy). Doktorant nie wyjaśnił dlaczego otrzymywał tylko dwa rodzaje estrów: etylowy i izopropylowy i stąd moje pytanie dlaczego taki wybór? Mogę się domyślać, że przyczyną była dosyć niska wydajność estru etylowego a biorąc pod uwagę jeszcze kolejne etapy do przeprowadzenia, ilość końcowego związku byłaby znikoma tym bardziej, że pierwsze modelowe reakcje podstawienia właśnie iminodioctanu dietylu z 2,5-(1-bromometylo)-oksadiazolami nie były zadawalające rzędu 20%. Modyfikacje Doktoranta dotyczące zmiany rozpuszczalnika, temperatury reakcji, nadmiaru użytych reagentów przyniosły pozytywne rezultaty gdzie produkt 6a otrzymano z doskonałą 91% wydajnością. Kolejny etap hydrolizy estru etylowego stał się momentem zaporowym w pracach eksperymentalnych i na tym prace zostały zawieszone. Doktorant zajął się realizacją analogicznych procesów do wcześniej omówionych stosując iminodioctan diizopropylu. Wydajności reakcji podstawienia - tworzenia izopropylowych pochodnych 1,3,4-oksadiazolu nie osiągnęły 90 %, ale oscylowały w zakresie 68-84% co jest również bardzo dobrym wynikiem preparatywnym.

Po raz kolejny dojrzałość naukową Pana Marcina Łuczyńskiego można zaobserwować podczas przeprowadzania reakcji hydrolizy estrów izopropylowych alkilowych pochodnych 1,3,4-oksadiazoli. Oczywiście Doktorant powinien wziąć pod uwagę w tych procesach opcję otwarcia pierścienia oksadiazolowego, na co sam zwracał uwagę w części teoretycznej. Należy także zwrócić uwagę na fakt, że hydroliza kilku grup estrowych może wiązać się z wytworzeniem się mieszaniny produktów o różnej liczbie wolnych grup karboksylowych. Trudność otrzymania grup karboksylowych badanych związków w ilości czterech wymagało od Doktoranta wielu prób co w końcowym efekcie zostało zrealizowane ale tylko dla dwóch związków 7b i 7d. Wszystkie otrzymane nowe związki zostały potwierdzone metodami spektroskopowymi NMR (magnetycznego rezonansu jądrowego ^{1}H i ^{13}C) i HR MS (wysokorozdzielczej spektrometrii mas). Z przeprowadzonej analizy dołączonych widm stwierdzam, że struktury nowych związków są poprawne. Obecne ugrupowania bis(karboksymetylo)aminowe obniżają znacznie rozpuszczalność produktów co ma niekorzystny wpływ na proces oczyszczania i analizę końcowych związków ze względu na ich polarny charakter. Spośród czterech izomerów estrów izopropylowych ostatecznie doktorant otrzymał dwie pochodne z dobrymi wydajnościami: 54% dla pochodnej 2,5-dimetylo-bis(karboksymetylo)aminowej 1,3,4-oksadiazolu i 68% dla pochodnej 2,5-dipropylo-bis(karboksymetylo)aminowej 1,3,4-oksadiazolu.

Druga część badań własnych Doktoranta dotyczyła realizacji syntezy, niesymetrycznych pochodnych 1,3,4-oksadiazolu. Zaprojektowany schemat realizacji składał się z 6 etapów. Optymalizacja procesów z prowadzonych wcześniej procedur otrzymywania symetrycznych pochodnych 2,5-dialkilowych 1,3,4-oksadiazoli bis(karboksymetylo)amin oraz nabyte doświadczenie naukowe jest zauważalne przy realizacji poszczególnych fragmentów tej syntezy. Głównymi reagentami był benzhydrazyd otrzymany w reakcji benzoesanu z wodzianem hydrazyny, a ten w dalszej kolejności reagował z chlorkiem 4-bromometylo)benzoilu lub z chlorkami: bromoacetylu, propionylu, butanoilu. Wydajności otrzymanych niesymetrycznych *N,N'*-diacylohydrazyn były wysokie od 46 – 78% przy stosowaniu procedur opracowanych dla pierwszej części eksperymentów układów symetrycznych. Procesy cyklodehydratacyjne dla 5 nowych związków 13a-e zostały wykonane z udziałem tlenochlorku fosforu; tylko w jednym przypadku nie otrzymano produktu cyklizacji. Tlenek fosforu (V) spełnił rolę czynnika cyklizującego dla 2-(2-bromoetylo)-5-fenylo-1,3,4-oksadiazolu z 32%

wydajnością. Doktorant także przeprowadził próby zamknięcia pierścienia oksadiazolu w niekonwencjonalnych warunkach, tzn. w reaktorze mikrofalowym. Wydajności tworzonych produktów nie były zbyt rozbieżne, i tak dla ogrzewania klasycznego wydajności znajdowały się w przedziale 32-90% natomiast ogrzewanie mikrofalowe to wydajności 38-93%. Pan Łuczyński zaopatrzony w doświadczenia chemiczne przystąpił do reakcji substytucji nukleofilowej stosując iminodioctan diizopropylu, a nie iminodioctan etylu, pamiętając o problemach z następnym etapem hydrolizy ugrupowania estrowgo. Procedura reakcji podstawienia była weryfikowana pod względem stosowanych zasad i rozpuszczalników. Tworzące się związki estrowe niesymetrycznej pochodnej 1,3,4-oksadiazolu otrzymane były z wydajnościami od 49 do 93%. Proces hydrolizy ugrupowania estrowego w grupie niesymetrycznych pochodnych 1,3,4-oksadiazoli został przeprowadzony z powodzeniem dla pięciu nowych związków z wydajnościami 41- 51%. Wszystkie nowe związki zostały potwierdzone spektroskopowo ^{1}H i ^{13}C NMR, oraz spektrometrią mas wysokiej rozdzielczości. Na uwagę również zasługuje skrupulatność Doktoranta, który dokonał pomiaru R_f otrzymanych związków chemicznych z uwzględnieniem rodzaju eluenta.

Rolą recenzenta jest również wykazanie nieścisłości, a także wskazanie innych pomysłów czy rozwiązań niepowodzeń, które pomogłyby pomóc w uzyskaniu doskonalszej wersji pracy. I tak:

- wykaz skrótów powinien być jednak przedstawiony w wersji alfabetycznej a nie przypadkowej, szybciej znajdowałoby się potrzebne informacje

- wykaz skrótów jak i na str.6 - octan palladu powinien być zapisany jako $Pd(OAc)_2$

- str. 17 skoro są podane symbole literowe dla wiązań, to lepiej byłoby operować tymi symbolami, niż ponownie wprowadzać numery atomów w opisie

- str. 25 angielszczyzna typu: cyklizacja oksydatywna, chociaż na schemacie jest podana cyklizacja utleniająca, jest mniej preferowana

- str. 37, 38, 39, 40, 41, 42 schematy 44 - 54 raczej należałoby zapisać jako rysunek, schematy są zarezerwowane dla pokazania przebiegu procesów reakcji czy mechanizmów reakcji

- str. 37 inhibitowaniu receptora powinno być zapisane jako inhibicji receptora

- str. 54 schemat 59 brakuje: $(\ )_n$ wskazującego wielokrotność ugrupowania CH_2 chociażby ze względu na podane ilości tworzących się produktów 3a-d, 6a-e, 7a-d.

- str. 56 Tabela 3 – opis tabeli podaje związki 2a-d natomiast w tabeli są to 2b-e

- str. 59 brak uściśleń w wypowiedziach i tak np. „sygnał przy przesunięciu 10 ppm pochodzący od protonów" powinno być dodane dla protonu grupy aminowej

- str. 73 schemat 75 brakuje: $(\ )_n$ dla grupy metylenowej - CH_2 wskazującej jej wielokrotność dla związków 13b-e

- str. 78 schemat 80 zostały pomylone numery związków zamiast 10a, 10b-e, 11a, 11b, d,e i 11 c powinny być numery 12a, 12a-e, 13a, 13b, d,e i 13c.

-str. 85 i str. 88 dla tabel 20 i 22 wprowadzony podstawnik R nie ma uzasadnienia dla związków ze schematu 85 i 87 bo taki symbol tam nie jest wprowadzony

- str. 88, podpis związków na schemacie dotyczy 15a-e a nie 14a-e

Poza tym literatura jest zapisana w niekonwencjonalny sposób, inny niż jest przedstawiana standardowo tzn. chodzi tu o skróty vol., no., czy miesiąc wydania publikacji, których się nie podaje w

bibliografii. Czasami w literaturze podawany jest identyfikator DOI, a czasami go brakuje co powinno być ujednolicone.

Str. 123 w bibliografii w pozycji 11 powinien być zmieniony rok wydania na 2022 dla Comprehensive Heterocyclic Chemistry IV

Dla literatury pozycji 29 str. 125 oprócz wymienionej tam autorstwa prof. J. Suwińskiego i prof. W. Szczepankiewicza, powinien Pan podać najnowszą pozycję autorstwa prof. K. Walczaka i prof. W Szczepankiewicza z 2022 rozdział 5.06 str. 252-317 dotyczący 1,3,4-oksadiazoli.

Str. 129 dla pozycji literatury 74 i str 132 poz. 104 brakuje tytułu czasopisma.

Poza tym, symbol q to jest kwartet w związku z tym dla ugrupowania - CH_2CH_3 w spektroskopii NMR występują dwa multiplety w postaci trypletu i kwartetu a nie kwintetu, co błędnie zostało opisane w dysertacji (str. 63 i str. 67).

Natomiast grupa izopropylowa to również dwa sygnały, jednakże jeden to dublet a drugi septet (str. 63 i str. 67).

Wprowadzone widma a w szczególności ich zdjęcia są słabo widoczne, trudno jest zauważyć typ multipletowości niektórych sygnałów.

W części ogólnej brak jest informacji jaką metodą HR MS były wykonane pomiary. Dopiero przy wynikach pomiarów w części eksperymentalnej jest podane ESI – electrospray ionization.

Dla związków 2b i 2d brak jest pomiaru HR MS tym bardziej iż są to nowe pochodne.

Zdarzają się też literówki np. str. 115 w nazwie związku 13c – 5-feynlo a powinno być – 5-fenylo.

Niefortunne sformułowania np. postęp reakcji śledzony może lepiej byłoby napisać postęp reakcji kontrolowano. Wdaje mi się również, że lepiej byłoby napisać zamiast sformułowania obserwowano zajście zastosować – obserwowano przebieg. Lepiej byłoby również pik molekularny zastąpić sformułowaniem jon molekularny.

Chciałabym również poznać odpowiedzi na kilka mnie nurtujących pytań z różnych części pracy.

W części eksperymentalnej str. 100 przy syntezie *N,N'*-diacylohydrazonów dodawano w porcjach, 2 ekwiwalenty chlorku kwasowego, czy to jest typowa procedura czy nie można dodać od razu dwukrotnej ilości tego odczynnika? I kolejne pytanie dlaczego procedury otrzymywania symetrycznych hydrazyn 2a-d i benzhydrazydu różnią się między sobą? Czy nie próbował Pan zastosować jednak bezwodnej hydrazyny do tych reakcji?

Czy przy identyfikacji związków zawierających fragmenty alkilowe przy interpretacji widm NMR ^1H nie jest możliwe określenie multipletowości poszczególnych sygnałów (ilości linii), ponieważ bardzo często używa Pan określenia multipletu (sygnały nieregularne bądź takie, w których trudno jest określić ilość linii określane są mianem multipletu) ? (Związki: 2d, 3c, 3d, 5a, 5b, 6d, 6e, 13e, 14a, 14b, 14c, 14d, 14e, czy jest możliwe podanie multipletowości w części alifatycznej podanych multipletów).

Czy Doktorant sprawdził aplikacyjność otrzymanych struktur pod kątem kompleksowania z metalami? Czy były wykonane jakiekolwiek eksperymenty wskazujące przydatność otrzymanych związków w powyższym zakresie?

Uwagi krytyczne zawarte w recenzji nie obniżają wartości merytorycznej i ogólnej pozytywnej oceny rozprawy. Tym bardziej, iż wyniki zostały opublikowane w wysoko punktowanych czasopismach międzynarodowych. Mają one charakter dyskusyjny i porządkowy, co powinno pomóc Autorowi podczas przygotowywania kolejnych artykułów do czasopism naukowych.

Reasumując można stwierdzić, że Doktorant opanował techniki laboratoryjne i pomiarowe, przeprowadził zaplanowane badania i uzyskał oryginalne wyniki zarówno o znaczeniu poznawczym jak i potencjalnie aplikacyjnym, o czym świadczy fakt, że wyniki zostały już zaprezentowane w trzech oryginalnych pracach zamieszczonych w renomowanych czasopismach o łącznym IF=9.8 (340 pkt MNiSW). Recenzowana rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego dotyczącego syntezy nowej grupy pochodnych o budowie symetrycznej i niesymetrycznej z wbudowanym centralnie pierścieniem 1,3,4-oksadiazolu. Z lektury dysertacji wynika, że Autor posiada szeroką wiedzę w dyscyplinie naukowej - nauki chemiczne oraz potwierdza to nabycie umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej z efektem końcowym osiągnięcia zamierzonych celów badawczych. Uzyskane przez Doktoranta wyniki wnoszą istotny wkład w rozwój syntetycznej chemii organicznej a w szczególności chemii 1,3,4-oksadiazoli. Pod względem edytorskim praca napisana starannie z kolorystycznymi akcentami a w szczególności ciekawie przedstawione rysunki z analizy strukturalnej NMR otrzymanych produktów. Zamieszczone w niniejszej recenzji uwagi krytyczne mają w większości charakter dyskusyjny oraz odnoszą się do uchybień natury wydawniczej. Należy podkreślić, że nie rzutują one istotnie na poprawny poziom naukowy rozprawy.

Dlatego stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca mgra inż. Marcina Łuczyńskiego pt. „ Badania nad syntezą i właściwościami nowych pochodnych 1,3,4-oksadiazolu jako składników chelatów mikroelementowych" spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018, poz. 1668 z późn. zm.) i wnoszę o dopuszczenie jej do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.

Podpisano odręcznie przez autora