



**WYDZIAŁ
CHEMII**

Uniwersytet Łódzki

Katedra Chemii Organicznej

Łódź, dnia 10 kwietnia 2023 r.

RECENZJA ROZPRAWY ZATYTUŁOWANEJ

„Projektowanie, synteza i badanie właściwości responsywnych polimerów z funkcją termo-uwalniania”

Złożonej przez Panią magister Magdalenę Paluch w celu uzyskania stopnia naukowego doktora nauk chemicznych

Recenzowana rozprawa doktorska została przygotowana w Zakładzie Chemii Biopolimerów Instytutu Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk pod kierunkiem Pana dr hab. Marcina K. Chmielewskiego prof. ICHB PAN oraz Pana dr Marcina Jarka (promotora pomocniczego).

Zainteresowania naukowe Pana dr hab. Marcina K. Chmielewskiego obejmują zagadnienia związane z chemią kwasów nukleinowych, projektowaniem termolabilnych grup ochronnych, termo-responsywnych znaczników fluorescencyjnych, katalizatorów oraz otrzymania nowych funkcjonalnych materiałów do zastosowań w szeroko rozumianych naukach biologicznych.

Recenzowana rozprawa doktorska dobrze wpisuje się w powyższe obszary, dotyczy bowiem badań nad syntezą i właściwościami fizykochemicznymi nowych termowrażliwych polimerów z ugrupowaniem 2-pirydynylowym.

Rozprawa doktorska została przygotowana w formie 172 stronicowej dysertacji podzielonej na 10 zasadniczych części. Są to: 1) *Streszczenie* w języku polskim, 2) *Streszczenie (Abstract)* w języku angielskim, 3) *Dorobek naukowy*, 4) *Objaśnienie skrótów*, 5) *Założenia i cel pracy*, 6) *Część literaturowa*, 7) *Badania własne i dyskusja wyników*, 8) *Najważniejsze wyniki*, 9) *Część eksperymentalna* oraz 10)

tTel. 42 635 57 50

ul. Tamka 12, 91-403 Łódź

e-mail: kchemorg@uni.lodz.pl

www.chemia.uni.lodz.pl/kchorg

Bibliografia. Ich lektura pozwala czytelnikowi na zapoznanie się z celami i uzasadnieniem podjętych badań, ich znaczeniem w aspekcie danych literaturowych, omówieniem wyników badań własnych wraz z podsumowaniem oraz zestawieniem bibliografii.

W sekcji *Dorobek naukowy* dysertacja zawiera spis publikacji oraz listę doniesień konferencyjnych w których Pani magister Magdalena Paluch jest współautorką, informacje o projekcie w ramach którego prowadziła swoje badania oraz odbytym stażu zagranicznym. W dysertacji nie znalazłem oświadczeń współautorów publikacji mówiących o ich wkładzie w daną publikację oraz pełnego CV naukowego mówiącego o kolejnych etapach kariery naukowej Pani magister. Zastosowany przez doktorantkę układ dysertacji uważam za logiczny i umożliwiający czytelnikowi łatwy dostęp do poszukiwanych informacji.

W rozdziale zatytułowanym *Założenia i cel pracy* autorka określiła cele swoich badań. Nadrzędnym celem było opracowanie metod syntezy termo-Responsywnych polimerów które w odpowiedzi na wzrost temperatury ulegają wewnątrzcząsteczkowej reakcji cyklizacji. Jej konsekwencją miało być powstanie polimeru z ujemnie naładowanym łańcuchem głównym oraz uwolnienie do środowiska zewnętrznego cząsteczek modelowych związków bicyklicznych o charakterze kationowym. W ujęciu szczegółowym autorka postawiła sobie za cel otrzymanie polimerów z termolabilnym ugrupowaniem 2-pirydynylowym, przeprowadzenie ich charakterystyki fizykochemicznej przy zastosowaniu szerokiej palety technik eksperymentalnych (NMR, IR, UV-Vis, MS, TGA, DSC, GPC/SEC) oraz badania procesu uwalniania z polimerów niskocząsteczkowych związków bicyklicznych w warunkach podwyższonej temperatury i zmiennych parametrów pH i obecności substancji jonowych.

W mojej opinii, sformułowane przez doktorantkę założenia badawcze stoją w zgodzie z wymogami stawianymi pracom doktorskim a tematyka podjętych badań łączy dziedzinę chemii organicznej i chemii polimerów.

Następny rozdział rozprawy to *Część literaturowa*. Został on napisany na podstawie 137 publikacji i liczy 33 strony. Autorka omówiła w nim wybrane problemy chemii polimerów. W pierwszym podrozdziale przedstawione zostały zagadnienia związane z wykorzystaniem polimerów w medycynie a w szczególności polimery jako nośniki leków, hybrydowe koniugaty polimer – białko, i polimer – kwas nukleinowy. W drugim podrozdziale autorka zdefiniowała pojęcie polimerów responsywnych a następnie omówiła zagadnienia związane z konkretnymi przykładami tych polimerów czyli polimerami wrażliwymi na zmiany pH i temperatury. W dalszej części podrozdziału przedstawiono teorię Flory-Hugginsa oraz pojęcia dolnej i górnej krytycznej temperatury rozpuszczalności wraz konkretnymi przykładami polimerów je posiadających. W kolejnym podrozdziale autorka skupia narrację na metodach syntezy polimerów responsywnych. Wymieniana jest tu polimeryzacja z udziałem rodników aminoksylowych, polimeryzacja rodnikowa z przeniesieniem atomu i polimeryzacja z odwracalnym addycyjno-fragmentacyjnym przeniesieniem łańcucha (RAFT). Ze względu na jej znaczenie dla badań opisanych w dysertacji, polimeryzacja typu RAFT została bardziej szczegółowo omówiona na kolejnych stronach rozdziału. Autorka dyskutuje jej mechanizm oraz zależność struktura-aktywność dla czynników przeniesienia łańcucha szczególnie w odniesieniu do uniwersalnych czynników przeniesienia łańcucha opartych na pH-zależnym układzie pirydynowym. W następnym podrozdziale przedstawiono główne metody służące do oznaczania masy molowej polimerów. W tym aspekcie najwięcej uwagi poświęciła autorka przedstawieniu chromatografii wykluczenia (GPC/SEC) natomiast mniej szczegółowo omówione zostały metody oparte o spektrometrię mas. Ostatni, piąty, podrozdział poświęciła autorka omówieniu termolabilnych grup ochronnych ze szkieletem 2-*N*-pirydynylowym. Były one zasadniczo istotne z punktu widzenia jej pracy jednak ich omówieniu poświęcono jedynie niecałe trzy strony. Muszę przyznać, iż z tego względu czuję tu pewien niedosyt.

Podsumowując, omawiany rozdział dysertacji „Część literaturowa” oceniam bardzo dobrze. Wprowadza on merytorycznie czytelnika w tematykę pracy i przygotowuje go do lektury jej dalszej części. W odniesieniu do niego pragnę jedynie zwrócić uwagę na parę drobnych edytorskich niedociągnięć. Są to na stronie 27 niewłaściwy skrót dla frazy *drug delivery systems* – jest DSS a winno być DDS, na stronie 32 *metali* a nie *matali*, na stronie 51 *zależny* a nie *zależna*, na stronie 53 *metodą* a nie *metoda*. W podpisie pod rysunkiem 2 na stronie 33 brak odniesień do zastosowanych pod diagramami oznaczeń (a), (b) i (c).

W kolejnym rozdziale zatytułowanym *Badania własne i dyskusja wyników* autorka prezentuje wyniki swoich badań. W pierwszej kolejności przeprowadziła ona syntezy trzech alkoholi 2-aminopirydynowych oznaczonych na schemacie 6 numerami **3a-c**. Połączenia te zostały otrzymane na drodze reakcji 2-bromopirydyny (**1**) z alkoholami (**2a-c**). Reakcje przebiegały w *N,N*-dimetyloformamidzie jako rozpuszczalniku i przy zastosowaniu promieniowania mikrofalowego z wydajnościami 25-45%. Wybór wyjściowych alkoholi **2a-c** nie był przypadkowy, a uzasadniony chęcią otrzymania pochodnych **3a-c** w których inicjowana termicznie reakcja cyklizacji przebiegała by z różnymi szybkościami. Oprócz czynnika elektronowego autorka uwzględniła również czynnik wpływający na wielkość powstającego pierścienia w bicyklicznej cząsteczce produktu cyklizacji. I tak alkohole **2a** i **2b** prowadzą do pierścieni pięciocłonowych podczas gdy **2c** do produktu sześciocłonowego. Otrzymane produkty **3a-c** zostały scharakteryzowane z zastosowaniem spektroskopii NMR, spektrometrii mas (ESI). W omawianym fragmencie pracy reakcje 2-bromopirydyny **1** z alkoholami **2a-c** określa autorka jako reakcje addycji (przyłączenia). Nie mogę się tu z tym twierdzeniem zgodzić. Są to bowiem reakcje substytucji (podstawienia) lub inaczej *wymiany* o charakterze nukleofilowym. W kolejnym etapie badań na drodze reakcji związków **3a-c** z chlorkiem akryloilu doktorantka otrzymała monomery **4a-c** z wysokimi wydajnościami 74-81%. Kolejny, trzeci, podrozdział *Badania własnych i dyskusji wyników* relacjonuje

badania autorki nad syntezą tytułowych polimerów responsywnych. W celu ich otrzymania zastosowano reakcje polimeryzacji rodnikowej z addycyjno-fragmentacyjnym przeniesieniem ładunku (RAFT). W celu znalezienia najoptymalniejszych warunków polimeryzacji (właściwych proporcji inicjatora, czynnika przeniesienia łańcucha, czasu polimeryzacji, ilości rozpuszczalnika i temperatury) autorka prowadziła najpierw pilotażowe reakcje polimeryzacji z zastosowaniem handlowo dostępnego monomeru *N*-izopropylakrylamidu (NIPAM). Jako czynnik przeniesienia łańcucha stosowała DDMAT a jako inicjator ACHN. Przeniesienie optymalnych warunków polimeryzacji znalezionych dla monomeru NIPAM nie oznaczało jednak sukcesu w polimeryzacji monomeru **4a**. Okazało się bowiem, iż zamiast oczekiwanego produktu o wysokiej masie cząsteczkowej, powstawał bicykliczny związek **6a⁺** który doktorantka wyizolowała i scharakteryzowała spektroskopowo w postaci soli z anionem kwasu dichlorooctowego. Zastosowanie do reakcji tego kwasu nie skutkowało zatrzymaniem reakcji cyklizacji. Natomiast użycie chlorowodoru zatrzymywało cyklizację ale równocześnie wpływało na zahamowanie samego procesu polimeryzacji. Bardziej optymistyczny wynik uzyskała doktorantka stosując kwas *p*-toluenosulfonowy. Hamował on powstawanie cyklicznego związku **6a⁺** umożliwiając równocześnie polimeryzację (choć konwersja monomeru wynosiła jedynie około 10 % po 10 godzinach). Wobec tych obserwacji autorka zdecydowała zmienić czynnik przeniesienia łańcucha z DDMAT na uniwersalny reagent do polimeryzacji RAFT. Przed przystąpieniem do eksperymentów z udziałem monomeru **4a**, doktorantka przeprowadziła pilotażowe eksperymenty z handlowo dostępnym monomerem NIPAN oraz estrem metylowym kwasu 2-(metylo(pirydyn-4-ylo)karbamotionylio)propionowego (sRAFT) jako reagentem polimeryzacji RAFT. Reakcje te zakończyły się sukcesem a otrzymane polimery PNIPAM_(sRAFT) zostały otrzymane w postaci bezbarwnych sypkich ciał stałych. Zastosowanie reagenta sRAFT do kwasowej polimeryzacji **4a** również zakończyło się sukcesem – po trwającej 12 godzin reakcji polimeryzacji doktorantka otrzymała oczekiwany polimer PMPyAEA (**5a**) co potwierdziły

analizy spektroskopowe w tym widma 2D NMR. Wobec sukcesu polimeryzacji monomeru **4a**, w następnej kolejności doktorantka przeprowadziła polimeryzacje z zastosowaniem monomeru **4b** oraz **4c** w różnych warunkach eksperymentalnych. Dwunastogodzinna reakcja monomeru **4b** w kwaśnym środowisku (kwas PTSA) charakteryzowała się 96 % konwersją i prowadziła do otrzymania oczekiwanego polimeru PBPYAEA **5b** w postaci różowego ciała stałego. Również 12-godzinna polimeryzacja monomeru **4c** w środowisku PTSA zachodziła z wysoką konwersją (95 %) i nie wymagała dalszych optymalizacji. Otrzymany w jej rezultacie polimer PMPYAPA **5c** był różowo zabarwionym ciałem stałym. Co więcej polimeryzacja **4c** była również możliwa w warunkach obojętnych (bez PTSA) oraz przy zastosowaniu DDMAT jako czynnika przeniesienia łańcucha. Proces ten wymagał trochę więcej czasu (16 godzin) ale przebiegał z przy równie wysokim 95 % stopniu konwersji. Wnioskiem który wysnuła doktorantka było stwierdzenie, iż w przypadku monomeru **4c** niechciany proces wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji przebiega wystarczająco wolno, iż nie przeszkadza to w reakcji polimeryzacji. W odniesieniu do omawianego fragmentu pracy znalazłem jedynie trzy mało znaczące błędy które z obowiązku recenzenta muszę wyłuszczyć. Pierwszy z nich to dość niefortunne sformułowanie „endogennego atomu azotu” (strona 74). Słowo „endogeny” należy bardziej do domeny biologicznej niż chemicznej a azot (atom azotu) może być egzocykliczny lub endocykliczny raczej niż „endogeny”. Na stronie 75 określenie „białego” powinno być zastąpione przez „bezbarwnego”. Również na tej samej stronie symbol **4a** powinien być wyróżniony „boldem”.

Podrozdział 4 dysertacji poświęcony jest charakterystyce fizykochemicznej otrzymanych polimerów oraz analizie procesu wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji wspomaganą temperaturą (uwalniania modelowego związku cyklicznego). Oprócz wymienionych już technik NMR, w celu charakterystyki otrzymanych materiałów polimerowych doktorantka stosowała spektroskopię w podczerwieni. Umożliwiła ona potwierdzenie obecności w badanych próbkach grup estrowej i aminowej. W celu określenia mas molowych otrzymanych cząsteczek polimerowych autorka zastosowała chromatografię wykluczenia (GPC/SEC).



Początkowo napotkała ona problemy związane z prawidłowym doбором fazy ruchomej której konsekwencjami były mało symetryczne profile sygnałów daleko odbiegające od idealnych krzywych Gaussa oraz zafałszowane masy molowe uzyskane dla modelowego/komercyjnego polimeru PNIPAM. Ostatecznie doktorantce udało się pokonać napotkane problemy poprzez zastosowanie THF z dodatkiem 1% bromku tetrabutylamoniumowego. Generalnie analiza GPC/SEC otrzymanych przez autorkę polimerów **5a-c** i **8c** wskazała na ich relatywnie wysoką polidispersyjność. Polimerem o największym współczynniku polidispersyjności był związek **8c** ($D = 1.94$) a najmniejszym **5b** ($D = 1.49$). Wysoką polidispersyjność **8c** tłumaczy autorka poprzez fakt tworzenia się jonu obojnego między terminalną grupą karboksylową polimeru a zasadowym ugrupowaniem 2-pirydynyłowym łańcucha bocznego. W następnym podrozdziale dysertacji opisano wyznaczenie wartości dolnej krytycznej temperatury rozpuszczalności dla referencyjnego polimerów PNIPAM_{DDMAT} i PNIPAM_{SRAFT}. Wyznaczone wartości były zbliżone do wartości literaturowych przy czym polimer z grupą końcową DDMAT miał o 32°C niższą wartość LCST od polimeru PNIPAM_{SRAFT}. Fakt ten tłumaczony jest przez autorkę poprzez obecność w polimerze PNIPAM_{SRAFT} długiego niepolarnego łańcucha alkilowego a co za tym idzie większej zdolności polimeru do tworzenia agregatów. Dodatkowo doktorantka wykazała, iż wysokie stężenie protonów ma istotny wpływ na solwatację oraz wartość dolnej krytycznej temperatury rozpuszczalności (w środowisku kwasowym wartość LCST dla polimeru PNIPAM_{SRAFT} o prawie 4°C niższa od wartości wyznaczonej w wodzie). Przejście fazowe z układu jedno do dwufazowego w środowisku kwaśnym było procesem wolniejszym niż gdy zachodziło w wodzie. W aspekcie omawianego fragmentu badań doktorantki pewną porażką była niemożliwość zarejestrowania przez nią krzywych pozwalających uzyskać wiarygodne wartości LCST dla polimerów **5a-c**. W tym miejscu mam prośbę o kilka słów komentarza dotyczącego przyczyn dla których rejestracja krzywych dla polimerów 2-pirydynowych **5a-c** zakończyła się niepowodzeniem. Pomiary termogravimetryczne (TGA) które wykonała

doktorantka dla próbek polimerów **5a**, **5c** i **8c** wykazały podobne właściwości pierwszych dwóch polimerów. Zarejestrowane w zakresie temperatur od ok. 25 do 800 °C krzywe TGA polimerów **5a** i **5c** wskazały ich dużą stabilność termiczną do temperatur ~ 120 °C (**5a**) i ~ 170 °C (**5c**). Polimer **8c** posiadający inne niż **5a** i **5c** grupy końcowe charakteryzował się mniejszą od nich trwałością termiczną bowiem ubytek masy dla jego próbki zaobserwowano już w temperaturze pokojowej. W tym miejscu należy zwrócić uwagę iż określenie „temperatura pokojowa” nawet jeśli jest intuicyjnie zrozumiałe przez czytelnika to przy omawianiu danych eksperymentalnych których wartości zależą od temperatury winno być doprecyzowane przez podanie dokładnie początkowej temperatury pomiaru. Rozkład wszystkich trzech badanych termogravimetrycznie próbek następował w około 450°C. Pomiar skaningowej kalorymetrii różnicowej wykonanej dla polimeru **5a** były zgodne z wnioskami płynącymi z analizy TGA – do temperatury 120°C polimer nie ulegał żadnej przemianie fazowej (był stabilny). Dopiero w temperaturze 150°C obserwowana była szeroka anomalia świadcząca o procesie rozkładu. W istotnym z punktu widzenia reakcji wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji zakresie temperatur 10 – 90°C nie zarejestrowano żadnych anomalii cieplnych sugerujących zmiany stanu badanego polimeru. W kolejnym, 5 podrozdziale swojej dysertacji, autorka przedstawia wyniki swoich badań nad reakcją wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji i uwalniania modelowych związków bicyklicznych z polimerów **5a-c** i **8c**. Proces ten był monitorowany z zastosowaniem spektroskopii UV-Vis oraz NMR. Dla wygody (szybkość procesu) badane reakcje badane były w temperaturze 90°C. Procesowi ogrzewania próbek polimerów **5a-c** towarzyszyło batochromowe przesunięcie pasm absorpcji grupy 2-pirydynylowej oraz hipsochromowe przesunięcie pasm absorpcji grupy karbonylowej (intensywne wąskie pasmo przy wyższej energii). Przesunięcia te odzwierciedlają zdaniem autorki chemiczne przemiany polimerów jakimi są reakcja cyklizacji i eliminacji cyklicznych kationowych układów heterocyklicznych **6a-b⁺** i **9⁺**. W przypadku polimeru **5c** i uwolnionego z niego związku **9⁺** zaobserwowane przesunięcie batochromowe było mniejsze niż dla

analogicznych reakcji biegnących z wytworzeniem układów heterocyklicznych **6a-b⁺**. Dodatkowo czas potrzebny do całkowitego uwolnienia **9⁺** wynosił aż 22 godziny (temp. 90°C) wobec 2,5 godziny dla **6a⁺** i 3 godzin i 25 min dla **6b⁺**. Różnice te tłumaczy doktorantka wyższym zapotrzebowaniem energetycznym koniecznym do utworzenia sześcioczłonowego związku **9⁺** w porównaniu do pięcioczłonowych heterocykli **6a-b⁺**. W tym miejscu zastanawiam się czy wytłumaczenie to było również weryfikowane w jakiś inny sposób (obliczenia DFT)? Ciekawym wątkiem badań doktorantki było ustalenie wpływu pH na proces uwalniania związku **6b⁺** z polimeru **5b**. W tym aspekcie autorka zbadała wpływ czterech roztworów buforowych (szczawianowego, cytrynianowego, fosforanowego i PBS) oraz roztworu wodnego. Przed rozpoczęciem procedury ogrzewania jedynie w buforze fosforanowym i cytrynianowym zaobserwowała ona przesunięcie pasma absorpcji grupy 2-pirydynylowej co może świadczyć o niestabilności badanego polimeru w tych buforach już w temperaturze pokojowej. Zasadniczym wnioskiem płynącym z przeprowadzonych pomiarów było stwierdzenie, iż reakcja wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji jest spowalniana w środowisku kwaśnym. Przykładowo w buforze szczawianowym (pH = 1.68) jedynie 20% wyjściowej formy liniowej polimeru **5b** przekształcało się w formę cykliczną. Dla porównania w środowisku obojętnym lub zasadowym reakcja cyklizacji i uwolnienia produktu heterocyklicznego z polimeru **5b** zachodziła ilościowo. Warto podkreślić, iż w celu potwierdzenia budowy chemicznej powstałych produktów heterocyklicznych **6a-b⁺** i **9⁺** autorka wydzieliła je z wodnych roztworów polimerów w postaci analitycznie czystych soli z odpowiednimi anionami karboksylanowymi. Kolejną metodą wykorzystaną przez doktorantkę do badania procesu uwalniania związków heterocyklicznych z polimerów była spektroskopia NMR. Analiza widm NMR wykonywana była w trakcie ogrzewania polimeru w roztworze rozpuszczalnika deuterowanego do temperatury 90°C. Innym zastosowaniem spektroskopii NMR było monitorowanie reakcji cyklizacji zachodzącej w fazie stałej. Badania NMR w roztworze wskazują jak istotny wpływ na proces cyklizacji ma rodzaj zastosowanego rozpuszczalnika.

W trakcie pięciogodzinnego ogrzewania próbki polimeru **5b** w roztworze DMSO- d_6 nie zaobserwowano całkowitego przekształcenia go z wydzieleniem związku **6b**⁺. Natomiast w przypadku zastosowania wody jako rozpuszczalnika całkowite uwolnienie związku bicyklicznego następowało już po 3,5 godziny. W odniesieniu do badań reakcji cyklizacji polimeru **5a** w fazie stałej nie udało się doktorantce w sposób jednoznaczny potwierdzić, iż ona zachodzi. Być może winę za to ponosi samo doświadczenie które obejmowało ogrzewanie próbki w fazie stałej a następnie rozpuszczenie w rozpuszczalniku w celu dokonania pomiaru. Rozpuszczony polimer mógł ulegać reakcji eliminacji co prowadziło do fałszywych wniosków końcowych. W tym miejscu zgodzę się z autorką, iż warto by było wykonać pomiary NMR bezpośrednio w ciele stałym i wyeliminować tym samym etap rozpuszczania próbki w celu dokonania pomiaru. Zachodzi więc pytanie dlaczego takie pomiary nie były przeprowadzone?

Kolejny podrozdział swojej pracy poświęciła autorka na opis badań nad otrzymywaniem kopolimerów PNIPAM-PMPyAEA. Stosując różne proporcje monomeru PNIPAM do PMPyAEA **5a** oraz przy użyciu sprawdzonych wcześniej inicjatora ACHN i reagenta RAFT jako czynnika przeniesienia łańcucha zsyntezowała ona trzy kopolimery PNIPAM_x-PMPyAE_y. Postęp reakcji kopolimeryzacji monitorowała za pomocą spektroskopii ¹H NMR. Reakcje prowadzone były przez 20 godzin czyli dłuższy niż ten stosowany do otrzymywania opisanych wcześniej homopolimerów. Prowadząc doświadczenia doktorantka zauważyła, iż w stopień przereagowania (konwersji) monomerów PNIPAM i **5a** maleje wraz ze zwiększeniem udziału w mieszaninie reakcyjnej 2-pirydynyloвого monomeru **5a**. Otrzymane kopolimery zostały scharakteryzowane za pomocą spektroskopii ¹H NMR a ich średnie masy molowe wyznaczone za pomocą metody grup końcowych o chromatografii wykluczenia. W następnej części swoich prac doktorantka zwróciła swoje zainteresowania ku reakcji uwalniania z kopolimerów PNIPAM_x-PMPyAE_y (x = 0,93 lub 0,80, y = 0,07 lub 0,20) heterocyklicznego związku **6a**⁺. W tym celu jako narzędzie analityczne zastosowała spektroskopie ¹H NMR oraz UV-Vis. Po 2 godzinach

ogrzewania rozpuszczonych w DMSO kopolimerów ilość uwalnianego $6a^+$ była mała w porównaniu z ilością wydzieloną w tych samych warunkach z homopolimeru **5a**. Sytuacja uległa zmianie po 24 godzinach gdzie zaobserwowano ilościowe (całkowite) uwolnienie $6a^+$ w przypadku kopolimeru PNIPAM_{0,93}-PMP_{0,07}AEA_{0,07} ale nie w przypadku polimeru PNIPAM_{0,80}-PMP_{0,20}AEA_{0,20} w którym ponad 34% łańcuchów bocznych nadal posiadało nieprzereagowane fragmenty 2-pirydynylowe. Ponieważ pomiary ¹H NMR nie dały jednoznacznej odpowiedzi na pytanie czy proces eliminacji $6a^+$ spowalniany był przez bezwodne środowisko reakcji czy też przez agregację fragmentów PNIPAM zachodzącą w stosowanej temperaturze 90°C, doktorantka zdecydowała się na wykonanie pomiarów UV-Vis. Przygotowane wodne roztwory PNIPAM_{0,93}-PMP_{0,07}AEA_{0,07} i PNIPAM_{0,80}-PMP_{0,20}AEA_{0,20} ogrzewano przez 5 godzin w temperaturze 90°C. Pomiary UV-Vis dokonywano co 10 minut. W przypadku obydwu badanych kopolimerów autorka zauważyła, iż reakcja cyklizacji przebiegała dłużej niż dla homopolimeru **5a**. Racjonalnym wytłumaczeniem tego faktu zdaje się być duża zawada przestrzenna w zagregowanych segmentach *N*-izopropylakrylamidu kopolimerów PNIPAM_{0,93}-PMP_{0,07}AEA_{0,07} i PNIPAM_{0,80}-PMP_{0,20}AEA_{0,20}.

Na kolejnych dwóch stronach autorka w 16 punktach przedstawia najważniejsze wyniki swoich prac. Opis części eksperymentalnej pracy obejmuje kolejne 31 stron. Przedstawione są w nim opisy procedur eksperymentalnych oraz dane spektroskopowe dla 19 otrzymanych połączeń organicznych. Załączone są też widma NMR i chromatogramy.

Na podstawie analizy danych zamieszczonych w części eksperymentalnej dysertacji można stwierdzić, iż doktorantka jest dobrze przygotowana do samodzielnej pracy eksperymentalnej i umie w sposób precyzyjny interpretować oraz przedstawiać uzyskane wyniki. Potrafi ona stosować różnorodne techniki spektroskopowe, fizykochemiczne i na ich podstawie charakteryzować otrzymane cząsteczki. Opisy procedur eksperymentalnych są precyzyjne i umożliwiają ich odtworzenie przez innych eksperymentatorów. Ostatni rozdział dysertacji to *Bibliografia* (autorka cytuje 157 publikacji).

Rozprawa doktorska napisana jest starannie a moje uwagi dotyczące pewnych niedociągnięć natury edytorskiej nie obniżają wysokiej merytorycznej jej oceny.

Po zapoznaniu się z dysertacją doktorską Pani magister Magdaleny Paluch nie mam wątpliwości, iż jest ona doświadczonym i wnikliwym eksperymentatorem, zdolnym do samodzielnego prowadzenia badań naukowych w dyscyplinie naukowej nauk chemicznych.

Wyniki badań przedstawione w rozprawie doktorskiej zostały ogłoszone drukiem na łamach czasopisma z listy Filadelfijskiej jakim jest *European Polymer Journal* (Elsevier, IF = 5,546). Dodatkowo doktorantka jest współautorką publikacji w *Food Analytical Methods*. Praca ta jednak nie dotyczy tematyki dysertacji doktorskiej. Pani magister Magdalena Paluch jest też współautorką sześciu doniesień konferencyjnych. Odbyła ona 4-miesięczny staż zagraniczny w grupie prof. dr. M. R. Buchmeisera w Niemczech a sama praca doktorska została zrealizowana w ramach projektu POWER „Środowiskowe interdyscyplinarne studia doktoranckie w zakresie nanotechnologii”.

Podsumowując, stwierdzam, iż przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.), Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.) oraz w Sposobie postępowania w

sprawie nadania stopnia doktora w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu (uchwała Rady Naukowej ICHB PAN nr 128/2022/Internet z dnia 24 października 2022 r.) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN o dopuszczenie Pani Magdaleny Paluch do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

K. Kowalski

prof. dr hab. Konrad Kowalski