

Kraków, dn. 07.07.2021r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Waldemara Kaliszcza pt.
„Rola kompleksów aktywnych wybranych pochodnych tiopurynowych
z jonami Bi(III) w aspekcie badania zmian kinetyki i mechanizmu
procesu elektrodowego w obecności surfaktantu”**

Recenzowana praca doktorska została wykonana pod opieką naukową prof. dr hab. Agnieszki Nosal-Wiercińskiej w Katedrze Chemii Analitycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Zespół, w którym Doktorant realizował badania naukowe i przygotował dysertację to doskonale rozpoznawalna i uznana grupa badawcza, której założycielem był Profesor Kazimierz Sykut, wybitny badacz procesów elektrodowych, twórca wielu przełomowych konstrukcji czujników i urządzeń pomiarowych dla elektrochemii, wielki propagator instrumentalnych metod elektroanalitycznych. Praca mgr. Waldemara Kaliszcza doskonale wpisuje się w ten nurt badawczy i dotyczy udanych prób wyjaśnienia procesów adsorpcji wybranych związków tiopurynowych, tj. 6-merkaptopuryny (6-MP), 6-tioguaniny (6-TG) i azatiopryny (AZA) w obecności niejonowych substancji powierzchniowo-czynnych, jak Triton X-100 i Tween 80 na granicy faz elektroda (Hg)/roztwór, a także badania mechanizmów i kinetyki procesów elektroredukcji aktywnych pochodnych tiopurynowych z jonami bizmutu(III). Biorąc pod uwagę zebrany materiał, rzetelność przeprowadzonych eksperymentów, osiągnięte rezultaty oraz merytorycznie uzasadnione komentarze stwierdzam, że praca wnosi istotny wkład w rozwój współczesnej elektrochemii, elektrokatalizy, fizykochemii powierzchni i elektroanalizy chemicznej.

Praca doktorska mgr. Waldemara Kaliszcza została przedłożona jako spójny tematycznie cykl dziewięciu artykułów naukowych, opublikowanych w prestiżowych czasopismach z bazy *Journal Citation Reports* ($\Sigma IF = 18.894$, średni $IF = 2.099$), który poprzedza 54-stronicowe wprowadzenie i uzasadnienie celowości podjętych badań. Spis literatury obejmuje artykuły naukowe i monografie głównie z ostatnich kilku lat. Z satysfakcją stwierdzam, że Doktorant dokonał właściwego wyboru, a podjęta w dysertacji polemika potwierdza umiejętność krytycznej analizy dostępnej wiedzy.

W pracy Doktorant zamieścił przedruki artykułów, które stanowią podstawę Jego dysertacji i ukazały się w następujących czasopismach: *Adsorption* ($IF = 1.731$, 2 prace), *Electrocatalysis* ($IF = 2.311$, 1 praca), *Journal of Electroanalytical Chemistry* ($IF = 3.218$, 2 prace), *Journal of Molecular Liquids* ($IF = 4.561$, 1 praca), *Physicochemical Problems of Mineral Processing* ($IF = 1.062$, 2 prace) oraz jeden rozdział w monografii *Springer Proceedings in Physics*.

Stwierdzam, że cykl ten jest zbiorem ściśle tematycznie powiązanych prac, co stanowi wymóg Ustawy. Oprócz artykułów wskazanych w dysertacji Doktorant jest także współautorem 2 innych publikacji w czasopismach indeksowanych w bazie JCR ($\Sigma IF = 1.184$) oraz 4 rozdziałów w pracach zbiorowych pod redakcją Z. Hubickiego; *Nauka i przemysł - metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości*, Wydawnictwo UMCS Lublin (w latach: 2016, 2018, 2019 i 2020).

Artykuły stanowiące istotę osiągnięcia mgr. Waldemara Kaliszczaka są dwu- lub wieloautorskie dlatego do dysertacji dołączono stosowne oświadczenia o merytorycznym i procentowym udziale wnoszonym przez poszczególnych współtwórców. Oświadczenia te jednoznacznie wskazują na wiodącą rolę Doktoranta w ich przygotowaniu. W czterech artykułach jest pierwszym autorem, w jednej pracy autorem korespondencyjnym, w pozostałych był zaangażowany na każdym z etapów ich powstawania, o czym świadczą przedłożone udziały procentowe: 50% (1 praca), 60% (5 prac) i 75% (3 prace).

Bardzo wysoko oceniam aktywność Doktoranta w zakresie popularyzacji własnych wyników badań co potwierdza liczba wygłoszonych wykładów (6) i komunikatów (3) na konferencjach krajowych (6) i międzynarodowych (3), a także 14 zaprezentowanych posterów. Należy nadmienić, iż mgr Waldemar Kaliszczak od 01.07.1999 roku pracuje w przedsiębiorstwie produkcyjnym „Herbapol-Lublin” SA., a od 2013r. pełni funkcję kierownika Działu Rozwoju Jakości. Wielokrotnie uczestniczył w kursach i szkoleniach zdobywając specjalistyczną wiedzę w zakresie m.in. *Optymalizacji procesu analitycznego* (2003), *Zarządzania projektami* (PSCM 2006), *Badania i rozwoju produktu leczniczego* (2008) oraz *Analizy danych w procesach jakości* (2017). W 2002 roku, ukończył studia podyplomowe *Analityka w ochronie środowiska* na Wydziale Chemii UMK w Toruniu, a w 2004 r. studia podyplomowe *Matematyka i informatyka* na Wydziale Matematyki, Fizyki i Informatyki UMCS w Lublinie, natomiast w 2016 r. uzyskał kwalifikacje w zakresie *Sporządzenie i wytwarzanie produktów leczniczych oraz prowadzenie obrotu środkami farmaceutycznymi i materiałami medycznymi* - z wysoką oceną egzaminu zawodowego. Był również wykonawcą jednego unijnego projektu badawczego (Nr. RPPD01.02.01.-20-0026/16) w ramach Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Podlaskiego na lata 2014-2020 pt. „Rozbudowa działu badawczego i opracowanie nowego procesu przetwarzania ziół na potrzeby produktów ziołowych”). Na uwagę zasługuje także działalność dydaktyczna Doktoranta, mianowicie od 2013 r. czynnie organizuje zajęcia praktyczne i prezentacje laboratoriów Działu Kontroli Jakości i Działu Rozwoju Jakości Przedsiębiorstwa „Herbapol-Lublin” SA., dla studentów kierunku Chemia Kosmetyków i Środków Bioaktywnych Wydziału Chemii UMCS w Lublinie. Od 01.2018 r. uzyskał status pracownika UMCS na zasadach wolontariatu, od 01.10.2018 r. jest członkiem Rady Interesariuszy Zewnętrznych przy UMCS, wspierającej rozwój dydaktyczny i naukowy Wydziału Chemii oraz promującej osiągnięcia wydziału.

Bardzo przychylnie odnoszę się do treści przedłożonej rozprawy. Materiał przedstawiony w części wprowadzającej dowodzi spełnienia wymagań Ustawy w zakresie rozeznania literatury i opanowania odpowiedniego zakresu wiedzy w reprezentowanej dyscyplinie nauki.

Znaczenie podjętej tematyki

Chemioterapia stosowana u pacjentów z chorobą onkologiczną prowadzi do nieodwracalnych uszkodzeń narządów i trwałych zaburzeń mechanizmów utrzymania hemostazy. Stąd znajomość elektrochemicznych właściwości leków przeciwnowotworowych, procesów ich uwalniania oraz dystrybucji w organizmie, a także możliwych szlaków metabolicznych jest kluczowa dla podjęcia tzw. terapii celowanej molekularnie raka. Wiele z tych procesów to złożone wieloetapowe reakcje elektrochemiczne, których efektywność i kinetyka zależy od struktury tzw. podwójnej warstwy elektrycznej. W tym kontekście badania mgr. Waldemara Kaliszcza prowadzone w zakresie próby wyjaśnienia mechanizmów elektrokatalizy i inhibicji procesów elektrodowych redoks jonów Bi(III) w obecności substancji czynnych, jak 6-MP, 6-TG i AZA, leków przeciwnowotworowych i immunosupresyjnych oraz niejonowych surfaktantów należy uznać za oryginalne, inspirujące i dobrze wpisane w aktualny kierunek badań fizykochemicznej natury zjawisk powierzchniowych oraz rozwoju farmakoterapii onkologicznej i współczesnej elektroanalizy chemicznej.

Osiągnięcia pracy

Opiniując dysertację Pana mgr. Waldemara Kaliszcza ocenie poddałem zarówno stawiane hipotezy jak i zakres przedsięwziętych badań, szczegółowej analizie poddałem uzyskane wyniki oraz sformułowane na ich podstawie wnioski. Skrupulatnie oceniłem te artykuły, które Doktorant wskazał jako stanowiące podstawę Jego dysertacji doktorskiej. Do najważniejszych osiągnięć mgr. Waldemara Kaliszcza, które stanowią elementy nowości naukowej zaliczam:

- 1) Wyjaśnienie i opisanie mechanizmów adsorpcji 6-merkaptopuryny (6-MP), 6-tioguaniny (6-TG) i azatiopryny (AZA) w obecności niejonowych surfaktantów, tj. Tritonu X-100 i Tweenu 80 na granicy faz elektroda (Hg)/roztwór chloranów(VII).
- 2) Wyjaśnienie i opisanie mechanizmów i kinetyki elektroredukcji jonów Bi(III) w obecności tiopurynowych pochodnych (6-MP, 6-TG, AZA), Tritonu X-100, Tweenu 80 oraz ich mieszanin w warunkach określonych regułą „cap-pair”. Przeprowadzenie charakterystyki reologicznej badanych układów i wyznaczenie krytycznych stężeń micelizacji.
- 3) Wyznaczenie parametrów termodynamicznych (entalpii aktywacji, $\Delta H^\ddagger$; standardowej entropii, $\Delta S^\ddagger$), fizykochemicznych dla procesu adsorpcji (pojemności różniczkowej elektrycznej warstwy podwójnej, C_{dl} ; potencjału ładunku zerowego, E_{pzc} ; napięcia powierzchniowego przy potencjale ładunku zerowego, γ_z) oraz parametrów kinetycznych badanych reakcji elektrodowych (potencjału formalnego, E^0 ; odwracalnego potencjału półfali, $E'_{1/2}$; współczynnika przejścia, α ; standardowych stałych szybkości reakcji, k_s ; współczynników dyfuzji, D_{ox}) dla ww. układów.
- 4) Przeprowadzenie pionierskich badań dotyczących procesów współadsorpcji pochodnych tiopurynowych oraz Tritonu X-100 i Tweenu 80 na elektrodzie rtęciowej z utworzeniem mieszanych warstw o istotnie zróżnicowanej budowie i spójności.
- 5) Dowiedzenie, że aktywność katalityczna pochodnych tiopurynowych wzrasta w szeregu $AZA < 6-MP < 6-TG$ oraz, że aktywność tą istotnie obniża dodatek niejonowego surfaktantu. Potwierdzenie, iż silniejszym inhibitorem procesu elektroredukcji tiopurynowych kompleksów z Bi(III) w porównaniu do Tritonu X-100 jest Tween 80.

Ocena końcowa

Praca doktorska mgr. Waldemara Kaliszczaka wnosi istotny wkład do dziedziny elektrochemii, fizykochemii powierzchni i elektroanalizy aktywnych pochodnych tiopurynowych z jonami Bi(III) w warunkach konkurencyjnej adsorpcji substancji powierzchniowo czynnych. Posiada szereg walorów poznawczych, związanych z zastosowaniem komplementarnych technik woltamperometrii (DC, CV i SWV) i elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej celem wyznaczenia adsorpcyjnych kinetycznych i termodynamicznych parametrów procesów adsorpcji pochodnych tiopurenowych i surfaktantów oraz redukcji kompleksów Bi(III) i opisu struktury „mieszanej” warstwy adsorpcyjnej.

Analizując rezultaty badań Doktoranta, należy docenić ogromny wkład pracy własnej zarówno na etapie planowania i prowadzenia eksperymentów jak i przetwarzania sygnałów, interpretacji danych i analizy wyników. Takie podejście do zgłębiania problemu, typowe dla prac doktorskich wywodzących się z kręgu polskiej szkoły elektrochemii, założonej przez Profesora Kazimierza Sykuta i rozwijanej przez grono godnych kontynuatorów z Wydziału Chemii UMCS z Profesor Agnieszką Nosal-Wiercińską na czele, gwarantuje najwyższy poziom pracy, a jedynie ta pozwala na stawianie tak ambitnych i oryginalnych celów, jakie zadeklarowano w opiniowanej dysertacji.

Mgr Waldemar Kaliszczak jest współautorem 10 artykułów opublikowanych w prestiżowych czasopismach z bazy JCR oraz 1 rozdziału w recenzowanej monografii *Springer Proceedings in Physics*. Sumaryczny impact factor tych prac, zgodnie z rokiem opublikowania, to 20.078, łączna liczba punktów MNiSW to 525. Prace te w dniu sporządzenia recenzji były cytowane 18 razy (bez autocytowań) wg Scopus. Wszechstronne umiejętności prezentowania i dyskusowania wyników miały okazję śledzić w trakcie wygłaszanego przez Doktoranta wykładu na II Konferencji z cyklu „Fizykochemia granicy faz – metody instrumentalne” 13-17 maja 2019 r. w Lublinie.

Uwagi i komentarze do pracy

Recenzowanie dysertacji opartej na spójnym cyklu publikacji to wyjątkowo komfortowa sytuacja dla recenzenta, gdyż prezentowane wyniki, ich interpretacja, dyskusja i formułowane wnioski były już przedmiotem wnikliwej oceny innych, kompetentnych osób i środowiska naukowego. Nie mniej z obowiązku recenzenta wskazuję kilka polemicznych punktów licząc na uzyskanie odpowiedzi oraz ich wyjaśnienie w trakcie publicznej obrony:

- 1) Strona 7. „Badania reakcji amalgamowania różnych depolaryzatorów powstałych w wyniku ich elektroredukcji w obecności substancji organicznych ...” -proszę uściślić podaną informację.
- 2) Strona 8. „... procesu katalitycznego działania leków na elektroredukcję jonów Bi(III) w kierunku inhibicji.” -proszę uściślić podaną informację.
- 3) Strona 19. Równania (4) i (5) -nie objaśniono znaczenia symboli A_1 i A_2 .
- 4) Strona 22. „Wykazany dalej istotny wpływ zmian aktywności wody ..” -proszę uściślić podaną informację.
- 5) Strona 27. „Z kolei zastosowanie w badaniach elektrody rtęciowej związane jest z bardzo dobrą odtwarzalnością pomiarów, która wynika z jednorodności i czystości powierzchni granicznej rtęć /roztwór badany..” proszę wskazać także inne korzyści wynikające ze stosowania elektrody Hg.
- 6) Strona 29. „czas usuwania tlenu wynosił 15 minut” -skąd tak długi czas odtleniania?

- 7) Strona 30. „ $S = 0,00832146 \text{ m}^2$ ” -proszę sprawdzić powierzchnię elektrody Hg.
- 8) Strona 36. „Zastosowanie elektrody o $r = 0,065 \text{ cm}^2$ ” ??
- 9) Strona 37. „Metoda ta polega na pomiarze oporności układu znajdującego się w stanie równowagi ...” -informacja dotyczy metody EIS dlatego proszę o uściślenie tej informacji.
- 10) Strona 39. „Natomiast ekstrapolacja do $\omega \rightarrow \infty$ daje przecięcie półokręgu z osią Z' w punkcie $RE + RA$,” powinno być „ $\omega \rightarrow 0$ ”.
- 11) Strona 40. Rozdział 5.4.4. Współczynnik dyfuzji. Czy w badaniach stosowano klasyczną kąpiącą elektrodę rtęciową, brak o niej wzmianki w Rozdziale 5.1.
- 12) Strona 41. Podane równanie (25) wymaga korekty.
- 13) Strona 44. „po wprowadzeniu azatiopryny do roztworu chloranów(VII) obserwujemy wzrost wysokości „garbu”. Należy również zauważyć, że przybiera on formę wyostrzonych pików.” Czy próbowano wyjaśnić dlaczego pojedynczy, szeroki „garb” przybiera formę dwóch pików?
- 14) Strona 45. „Dodatek surfaktantów ... nie zmienia obrazu krzywych pojemności różniczkowej.” Trudno się zgodzić z tak jednoznacznym wnioskiem analizując rysunki 21 i 22.
- 15) Strona 46. Analizując zestawione wartości parametrów w tabelach 3 i 4, trudno się zgodzić z Doktorantem, że dodatek surfaktantu jest powodem przesuwania się potencjału ładunku zerowego w kierunku bardziej ujemnych wartości w przypadku 6-tioguaniny i ok. 0.2 V dla azatiopryny?
- 16) Na rysunkach 23 – 28, podobnie w publikacjach, oś rzędnych opisano jako „Ip”, co należy rozumieć jako „prąd pikowy”, z jakiego powodu? W mojej opinii poprawny zapis to „I”. W jaki sposób i dlaczego wyróżniono pojedyncze punkty na woltamogramach, zapis danych w trakcie pomiaru ma rozdzielczość, na poziomie co najmniej 1 mV.
- 17) Strona 54. „Przeprowadzone badania (...) elektroredukcji jonów $Bi(III)$ w funkcji potencjału elektrody [...], potwierdziły wieloetapowy charakter procesu elektroredukcji jonów $Bi(III)$ oraz w obecności tiopuryn i mieszanin tiopuryn-surfaktant.” Podana informacja wymaga rozwinięcia.
- 18) Redakcja pracy jest wyjątkowo staranna i rzetelna z zachowaniem zasad poprawnej polszczyzny. Doszukałem się tylko kilku niezręczności, jak „rtęć elektrodowa”; „wartości stałych szybkości wyznaczone dla pojedynczo użytych surfaktantów są skrajne w stosunku do układu”; „słabszym uwodnieniem powierzchni elektrody”; „Teenu 80”; „piki katodowe ... były dobrze wykształcone”; „większe właściwości adsorpcyjne”; „przejściem kolejnych elektronów”; „depolaryzacji jonów $Bi(III)$ na rtęci.”

Reasumując, w odniesieniu do meritum pracy trudno sformułować jakiegokolwiek zastrzeżenia merytoryczne. Sygnalizowane przeze mnie uwagi dotyczą zagadnień znikomej rangi i nie rzutują na moją bardzo wysoką ocenę. Uważam, że praca wnosi szereg nowych informacji do dziedziny zgłębianej wiedzy. Należy podkreślić, iż podjęta tematyka dotyczy bardzo trudnych i złożonych zjawisk powierzchniowych i procesów elektrodowych o charakterze katalityczno-adsorpcyjnym, których interpretacja wymaga zarówno odpowiedniego zaplecza jak i dobrze ugruntowanej wiedzy i doświadczenia eksperymentatora.

Wniosek końcowy

W mojej ocenie rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie kilku kluczowych problemów badawczych w dziedzinie fizykochemii powierzchni i elektroanalizy kompleksów, potwierdza szeroką interdyscyplinarną wiedzę Doktoranta w reprezentowanej dyscyplinie, a także Jego wybitne umiejętności prowadzenia pracy naukowej. Dlatego z pełnym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa mgr. Waldemara Kaliszcza pt. *„Rola kompleksów aktywnych wybranych pochodnych tiopurynowych z jonami Bi(III) w aspekcie badania zmian kinetyki i mechanizmu procesu elektrodowego w obecności surfaktantu”* **spełnia wszystkie wymagania odpowiednich przepisów prawnych i zwyczajowych stawianych pracom doktorskim i wnioskuję do Rady Dyscypliny Naukowej Wydziału Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie o dopuszczenie mgr. Waldemara Kaliszcza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Biorąc pod uwagę znaczenie podjętej tematyki, zakres przedsięwziętych badań, ich innowacyjność, którą wyraża współautorstwo 10 artykułów opublikowanych w prestiżowych czasopismach naukowych o wysokim współczynniku oddziaływania IF, współautorstwo 1 rozdziału w monografii wydawnictwa *Springer* oraz 4 rozdziałów w monografiach krajowych, a także ich wysoki potencjał naukowy i aplikacyjny, przedkładam Radzie Dyscypliny Naukowej Wydziału Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie **wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr. Waldemara Kaliszcza.**

Kraków, 07.07.2021r.