



Profesor dr hab. Jacek W. Morzycki

ul. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, Poland ☎ (85) 738 82 60, fax: 745 75 81, e-mail: morzycki@uwb.edu.pl

Białystok, 13.06.2016

**Ocena rozprawy habilitacyjnej „Badania fotoindukowanych procesów zachodzących w solach hydroksystilbazoliowych oraz pochodnych alloksazyn w zależności od polarności i pH środowiska”
oraz dorobku naukowego dr inż. Doroty Pukały**

Dane ogólne

Dr inż. Dorota Pukała jest absolwentką Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej, który ukończyła w 1989 roku uzyskując tytuł zawodowy magistra inżyniera. Po ukończeniu studiów została zatrudniona na Wydziale Chemii UAM na stanowisku asystenta. Pracę doktorską zatytułowaną „Synteza i właściwości fizykochemiczne potencjalnie biologicznie czynnych *N*-podstawionych pochodnych aminokwasów” wykonywała w Zakładzie Spektrometrii Masowej Związków Organicznych pod kierunkiem prof. dr hab. Elżbiety Wyrzykiewicz. Po obronie tej pracy w 1997 r. awansowała na stanowisko adiunkta. Z powodu jednak dwukrotnego macierzyństwa i problemów zdrowotnych dalsza kariera naukowa dr inż. Doroty Pukały uległa spowolnieniu. Dopiero od roku 2006, po przejściu do Pracowni Fotochemii Stosowanej kierowanej przez prof. dr hab. Marka Sikorskiego, ponownie włączyła się w intensywną działalność naukową. Dr inż. Dorota Pukała jest autorką 44 publikacji w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* (JCR) oraz 22 innych o zróżnicowanej wartości naukowej. Sumaryczny *Impact Factor* tych prac wynosi prawie 84, co daje średni IF na pracę z listy JCR 1,90. Całkowita liczba cytowań wynosi 158 (114 bez autocytowań. Index Hirscha autorki według Web of Science $h = 6$).

Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego

Rozprawę habilitacyjną dr inż. Doroty Pukały stanowi cykl publikacji zatytułowany „Badania fotoindukowanych procesów zachodzących w solach hydroksystilbazoliowych oraz pochodnych alloksazyn w zależności od polarności i pH środowiska”. Publikacje te (w sumie 10 artykułów) ukazały się w latach 2011-2015 w dobrych czasopismach chemicznych (2 w *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2 w *Photochem. Photobiol. Sci.* i po jednej w *Dyes and Pigments*, *Photochem. Photobiol.*, *J. Fluoresc.*, *J. Mol. Struct.*, *J. Phys. Chem. A* i *J. Photochem. Photobiol. A*). Sumaryczny *impact factor* tych prac wynosi 27,594, średni IF na pracę to 2,76. Wkład dr inż. Doroty Pukały w powstanie tych publikacji jest dominujący i wynosi, jak

sama deklaruje, od 54% do 83% (średnio powyżej 73%). We wszystkich dziesięciu publikacjach habilitantka przygotowała manuskrypt i jest autorem do korespondencji. Jest Ona też autorką koncepcji pracy i wykonawcą większości eksperymentów. Chociaż współautorem wszystkich artykułów wchodzących w skład habilitacji jest prof. Sikorski jako kierownik Pracowni to jednak Jego udział sprowadzał się do dyskusji uzyskanych wyników (interpretacji widm) i nie przekraczał 20%.

Celem badań wykonanych przez dr inż. Dorotę Prukaleń w ramach habilitacji była analiza właściwości spektralnych i fotofizycznych dwóch grup związków aromatycznych. Autorkę w szczególności interesował wpływ rozpuszczalnika i pH środowiska na procesy zachodzące w badanych związkach pod wpływem promieniowania UV/Vis. Badane były również właściwości kwasowo-zasadowe tych związków i zmiany zachodzące po przejściu ich cząsteczek do stanu wzbudzonego. W badaniach habilitantka posługiwała się metodami spektroskopii stacjonarnej, absorbcyjnej i emisyjnej w zakresie UV/Vis, jak i metodami spektroskopii czasowo-rozdzielczej.

Pierwszą grupą badanych związków były pochodne (*E*)-4-stilbazolu, np. sole (*E*)-*N*-benzylo-4'-hydroksy-4-stilbazoliowe. Temu zagadnieniu poświęcone są cztery artykuły wchodzące w skład habilitacji. Te barwne związki zalicza się do hemicyjanin. Posiadają one system sprzężonych wiązań podwójnych z podstawnikami elektrodonorowymi i elektroakceptorowymi na przeciwległych końcach układu (związki typu „push-pull”). Badane były również dehydrohalogenowane pochodne hemicyjanin 4'-hydroksy-4-stilbazoliowych zwane merocyjaninami. Ciekawe, że te ostatnie wykazują bardzo silne przesunięcia solwatochromowe. Hemicyjaniny i merocyjaniny pod wpływem światła wzbudzone są do stanu z wewnątrz cząsteczkowym przeniesieniem ładunku, którego energia silnie zależy od polarności i pH środowiska. Hemicyjaniny hydroksystilbazoliowe wykazują negatywny solwatochromizm związany ze zmniejszeniem się momentu dipolowego tych związków w stanie wzbudzonym. Prawdopodobnie struktura stanu wzbudzonego jest bliska formie chinoidowej. Z kolei merocyjaniny wykazują tzw. „odwrócony solwatochromizm”.

Habilitantka wykazała, że w roztworach hemicyjanin z grupą 2'- lub 4'-hydroksylową w wilgotnych rozpuszczalnikach pojawia się dodatkowe długofalowe pasmo absorpcji. Udowodniła, że pochodzi ono od odpowiednich merocyjanin powstających na skutek hydrolizy hemicyjanin. Badane związki wykazywały fluorescencję, a znaczne przesunięcia Stokes'a mogą świadczyć o redystrybucji ładunków w ich cząsteczkach po wzbudzeniu. Drobnym błędem w autoreferacie: w hemicyjaninach występuje mostek etenylowy (a nie etylenowy). Badane były również podobne sole z dodatkową grupą 3'-metoksyłową. W tym przypadku tworzyły się też merocyjaniny w wilgotnych rozpuszczalnikach. Zgodnie z sugestią habilitantki, z którą należy się zgodzić, struktura merocyjanin w bardziej polarnych rozpuszczalnikach zbliżona jest do „zwitterionu”, a w mniej polarnych jest bliższa formie chinoidowej.

Habilitantka zbadała również wpływ pH środowiska na widma UV i fluorescencję chlorku (*E*)-*N*-4'-chlorobenzyl-4'-hydroksy-4-stilbazoliowego. Stwierdziła, że chociaż wydajności kwantowe fluorescencji

formy protonowanej w wodzie są małe, to jednak są one większe niż formy deprotonowanej (merocyjaniny). Przymyślnie struktura tego związku ma w badanych warunkach postać zbliżoną do jonu obojnego. Dalsze prace dotyczyły wpływu polarności rozpuszczalnika na położenie długofalowego pasma absorpcji. Maksymalny solwatochromizm zanotowany dla badanej soli 3'-metoksy-4'-hydroksystilbazoliowej wyniósł 2300 cm^{-1} , zaś dla merocyjaniny 4500 cm^{-1} . Na podstawie przeprowadzonych badań solwatochromowych udało się habilitantce określić typ wiązań wodorowych oraz obliczyć wkład zmian energii tych wiązań w energię przejść elektronowych w badanych związkach. Przeprowadziła również dyskusję dotyczącą zmian momentu dipolowego i struktury związku podczas przejścia do stanu wzbudzonego. Przeprowadziła badania równowag kwasowo-zasadowych wyznaczając dla badanych związków wartości pK_a i pK_a^* .

Drugą grupą związków, którymi zainteresowała się doktorantka były alloksazyny i ich karbaanalogi – 5-dezaalloksazyny. Alloksazyny czyli flawiny pełnią ważną rolę biologiczną polegającą na udziale w procesach utleniania-redukcji. Mononukleotyd flawinowy i dinukleotyd flawinowo-adeninowy biorą udział w procesach metabolicznych. W skład witaminy B_2 wchodzi lumichrom należący do izoalloksazyn. Z kolei 5-dezaflawiny są potencjalnymi antagonistami flawin i są bardziej od nich efektywne w reakcji fotoredukcji. Flawiny i ich 5-deza analogi wchodzi w skład receptorów czułych na światło niebieskie. Habilitantkę zainteresowały możliwości tworzenia przez te cząsteczki wiązań wodorowych i ich wpływ na właściwości spektralne i fotofizyczne. Wcześniej badano oddziaływanie alloksazyn z rozpuszczalnikami protonowymi, ale dla 5-dezaalloksazyn takich badań nie prowadzono. Nie badano również równowag kwasowo-zasadowych tych układów. Habilitantka stwierdziła, że efekty solwatochromowe dla długofalowego pasma absorpcji są niewielkie. Zależą one głównie od polaryzowalności rozpuszczalnika i jego zasadowości. W stanie wzbudzonym zrelaksowanym następuje wzrost energii wiązań wodorowych, w wyniku wzrostu gęstości elektronowej na $N10$. Na podstawie badań zaproponowano struktury kompleksów w stanie podstawowym i wzbudzonym, w których zaangażowane są protony przy $N1$ i $N3$ oraz atom azotu $N10$ jako akceptor. Dane eksperymentalne zostały porównane z wynikami obliczeń przy zastosowaniu funkcjonału B3LYP i uzyskano zadowalającą zgodność.

Habilitantka badała też proces podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym dla 5-dezaalloksazyny w obecności kwasu octowego. Ustaliła, że zarówno w stanie podstawowym jak i wzbudzonym tworzy się kompleks o stechiometrii 1:1. Obliczone zostały też stałe równowagi tych ośmioczłonowych kompleksów.

Dla dwóch trimetylo-5-dezaalloksazyn otrzymano strukturę krystalograficzną i zbadano ich właściwości spektralne. Wpływ rozpuszczalnika na pasma absorpcji i emisji tych związków okazał się niewielki, ale efekty rozpuszczalnikowe były znaczące w przypadku wydajności kwantowych i czasu życia fluorescencji tych związków.

Habilitantkę szczególnie interesowały równowagi kwasowo-zasadowe w układzie luminochromu i ich wpływ na właściwości spektralne i fotofizyczne. Choć były one wcześniej badane przez innych autorów, to wyznaczone wartości pK_a i pK_a^* znacznie się różniły i wyniki były różnie interpretowane. Dr Prukała podjęła próbę ponownej interpretacji tych równowag w oparciu o wzbogacone analizy. Badania prowadziła dla luminochromu, jego 1-metylo, 3-metylo i 1,3-dimetylo pochodne. Wartości pK_a w stanach podstawowych wyznaczała metodą spektrofotometryczną, a wartości pK_a^* w singletowych stanach wzbudzonych za pomocą miareczkowania spektrofluorymetrycznego z wykorzystaniem do obliczeń pakietu DATAN. Habilitantka wykazała, że przy pH powyżej 8 tworzą dwa izomeryczne monoaniony i dianion. Jeden z monoanionów jest strukturą mezomeryczną z przeważającym udziałem formy izoalloksazynowej z ładunkiem ujemnym na N10, zarówno w stanie podstawowym jak i wzbudzonym. Do takich wniosków pozwoliła dojść analiza widm mono-N-metylowych pochodnych luminochromu. Udział struktur alloksazynowych i izoalloksazynowych w monoanionach i dianionie luminochromu wraz z rozkładem ładunku na poszczególnych atomach zostały potwierdzone za pomocą obliczeń metodą DFT.

Analogiczne badania równowag kwasowo-zasadowych, z wykorzystaniem widm absorpcji, emisji, emisji synchronicznej dla roztworów w szerokim zakresie pH, przeprowadzono dla deazaalloksazyn. Obliczone wartości pK_a i pK_a^* dla deprotonacji w stanie podstawowym i wzbudzonym stanie singletowym okazały się większe, co świadczy, że 5-deazaalloksazyny są słabszymi kwasami niż luminochrom i jego pochodne. Badania wykazały, że również w tym przypadku mogą tworzyć się dwa izomeryczne monoaniony. W bardziej zasadowym środowisku powstaje mezomeryczny dianion, w którym duży jest udział formy izoalloksazynowej. Ciekawe są wyniki badań 10-etylo-5-deazaalloksazyny, która wykazuje, jak można było tego oczekiwać, mniejszą kwasowość. Trudno się jednak zgodzić ze stwierdzeniem habilitantki, że anion „w stanie wzbudzonym ulega tautomeryzacji prawdopodobnie do anionu o strukturze 3AT”. Ta ostatnia nie jest formą tautomeryczną tylko mezomeryczną (przemieszczeniu uległy tylko elektrony). Z tego samego powodu sprotonowane struktury $C5D^+$ i $C5ID^+$ nie są tautomerami. Kwasowość formy sprotonowanej 5-deazaalloksazyny jest wyższa w stanie wzbudzonym niż w stanie podstawowym, co habilitantka tłumaczy wzrostem gęstości elektronowej na N10 w stanie wzbudzonym. Z kolei odwrotna sytuacja ma miejsce w przypadku 10-etylowej pochodnej, prawdopodobnie z powodu zmniejszenia gęstości elektronowej na N1 w stanie wzbudzonym w porównaniu do stanu podstawowego.

Autoreferat dr Doroty Prukały jest napisany kompetentnie i świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu do samodzielnego prowadzenia badań naukowych, zarówno od strony merytorycznej, jak i warsztatowej (techniki stacjonarne i czasoworozdzielcze stosowane w zakresie UV/Vis). Kontynuacja badań zaprezentowanych w autoreferacie może doprowadzić do stworzenia na bazie hemicyjanin stilbazoliowych indykatorów polarności i kwasowości środowiska, jak też opracowania metody wykrywania śladowych ilości wody w rozpuszczalnikach organicznych. Natomiast badania alloksazyn i 5-deazaalloksazyn są

ważne ze względu na biologiczne znaczenie tych związków i ich rolę w różnych procesach fotoindukowanych.

W opisie wcześniejszych prac habilitantki, jeszcze z okresu współpracy z prof. E. Wyrzykiewicz, wystąpił drobny błąd. Badane były wówczas metodą spektrometrii mas i NMR różne pochodne aminokwasów, w tym pochodne hydrazydowe. Innym tematem było badanie hydrazonów aldehydów aromatycznych i heteroaromatycznych. Te dwa różne zagadnienia zlały się w jedno i stąd pojawiła się w autoreferacie analiza NMR „pochodnych hydrazonów aminokwasów” oraz „badanie zahamowanej rotacji wokół wiązania amidowego ugrupowania hydrazonowego”.

Dr inż. Dorota Prukała była wykonawcą w kilku grantach NCN, uczestniczy we współpracy naukowej z dwoma ośrodkami w Portugalii, niedawno odbyła dwa krótkoterminowe staże naukowe w Pradze (Czechy). Wyniki swoich badań prezentowała na konferencjach naukowych. Szkoda, że ma mało wystąpień ustnych, które mogłyby rozpropagować ciekawą tematykę badawczą, chociaż robi to z powodzeniem Jej doktorant. Napisała 4 recenzje dla czasopism z listy JCR.

Działalność dydaktyczna, organizacyjna i popularyzatorska

W obszarze działalności dydaktycznej habilitantka prowadziła różne formy zajęć, głównie ćwiczenia laboratoryjne i proseminaria. Na uwagę zasługuje różnorodność tematyczna prowadzonych zajęć (chemia fizyczna, spektroskopia, chemia organiczna, polimery, biochemia, analiza nieorganiczna, dydaktyka chemii, język angielski). Opiekowała się 12 pracami magisterskimi. Była promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim zakończonym w ubiegłym roku.

Warto odnotować zainteresowania pozanaukowe habilitantki, takie jak muzyka klasyczna i malarstwo pastelowe. Wykonała tą techniką m.in. ilustracje (graphical abstracts) swoich publikacji w poważnych czasopismach chemicznych.

Uwagi końcowe

Habilitantka ma znaczący dorobek naukowy dotyczący różnej problematyki badawczej. Jest on szczególnie imponujący, jeśli wziąć pod uwagę przerwę w karierze naukowej i zmianę tematyki po doktoracie. Osiągnięcie naukowe, przedstawione zwięźle w autoreferacie, jest rezultatem badań w okresie ostatnich pięciu lat. Świadczy o dużej wiedzy habilitantki i Jej potencjale badawczym w zakresie spektroskopii UV/Vis, fotochemii i fotofizyki. Dr inż. Dorota Prukała uzyskała dorobek naukowy w pełni uzasadniający nadanie Jej stopnia naukowego doktora habilitowanego. Z załączonych materiałów wynika również, że potrafi samodzielnie prowadzić badania naukowe i kierować badaniami młodych chemików.

Uważam, że dr inż. Dorota Prukała spełnia wszystkie wymagania ustawowe stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego i z pełnym przekonaniem wnioskuję o kontynuowanie postępowania w sprawie nadania Jej tego stopnia.

Janek Morzycki