



prof. dr hab. inż. Teofil Jesionowski
WYDZIAŁ TECHNOLOGII CHEMICZNEJ
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań
tel. +48 61 665 3720, fax +48 61 665 3649
e-mail: teofil.jesionowski@put.poznan.pl

Poznań, 06.06.2017 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Aleksandry Grzelakowskiej

z tytułu

„Nowe barwniki pochodne benzo[a]fenoksazyny oraz 3-formylo-2(1H)-chinolonu – synteza, właściwości oraz zastosowanie w detekcji tioli”

opracowana na zlecenie Pani Dziekan Wydziału Chemicznego Politechniki Łódzkiej.

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Aleksandry Grzelakowskiej została zrealizowana w Instytucie Technologii Polimerów i Barwników Wydziału Chemicznego Politechniki Łódzkiej, pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Jolanty Sokołowskiej – wybitnej specjalistki w zakresie syntezy, technologii i zastosowania barwników oraz obszarów pokrewnych, o czym jednoznacznie świadczą: uznanie międzynarodowe, jak i osiągnięcia naukowe czy wynalazcze. Promotorem pomocniczym jest Pani dr inż. Jolanta Kolińska.

W ostatnim czasie znaczna uwaga naukowców poświęcona jest opracowywaniu nowych materiałów do zastosowań medycznych. Szczególny rozwój odnotowywany jest w zakresie biodegradowalnych implantów. Zapotrzebowanie na nowe rozwiązania czy materiały wynika z coraz dłuższego życia ludzi, jest to skorelowane ze wzrostem komfortu życia (poprawa warunków pracy), jak i w szczególności z ogromnym rozwojem medycznym i farmaceutycznym (dostęp do zaawansowanych usług i technik medycznych, opracowywanie nowych substancji farmaceutycznych i sposobów ich dostarczenia). Inny obszar badań – nie mniej ważny – dotyczy zagadnień związanych z monitorowaniem zdrowia czy rozwojem w obszarach szybkiej, nieinwazyjnej i efektywnej detekcji schorzeń. Przedsięwzięcia w zakresie opracowywania relatywnie prostych metod czy technik charakteryzujących się wysoką selektywnością, czułością i specyficznością, ponadto eliminujących czy ograniczających użycie często drogich i skomplikowanych procedur oraz urządzeń, jest kierunkiem bardzo istotnym z punktu widzenia rozwoju nauki i postępu technicznego. W ten

obszar badań wpisuje się oceniana rozprawa doktorska Pani mgr inż. Aleksandry Grzelakowskiej, która dotyczy głównie syntezy i charakterystyki nowych barwników, pochodnych 3-formylo-2(1H)-chinolonu oraz benzo[a]fenoksazyny, jako potencjalnych chemosensorów fluorescencyjnych i/lub kolorymetrycznych służących do detekcji tioli (cysteiny, homocysteiny i glutationu). Detekcja tych biotioli umożliwia stwierdzenie występowania wielu chorób czy umożliwia pośrednie zapobieganie ich występowaniu. Ze względu na fakt, iż barwniki te nie były dotychczas przedmiotem badań (nie są opisane w literaturze przedmiotu przez innych naukowców), stwierdzam istotną nowość naukową.

Oceniana rozprawa doktorska została przedstawiona na 166 stronach maszynopisu. Pierwsze elementy pracy to *Streszczenie i Abstract*, a kolejne to *Spis treści, Wykaz oznaczeń i skrótów stosowanych w pracy*. Dalsze rozdziały stanowią *Wprowadzenie oraz cel pracy* i *Część literaturowa*. Następnie Doktorantka zawarła *Badania własne, Część doświadczalną*, a także *Podsumowanie i wnioski*. Całość pracy wieńczą: *Spis publikacji i komunikatów* oraz *Bibliografia*. Struktura pracy nie jest klasyczna, ale jest typowa dla prac naukowych (w tym doktorskich), gdzie elementy eksperymentalne zamieszcza się na końcu dysertacji – czyli dla chemii czy technologii organicznej. Oceniana dysertacja jest bogato zilustrowana licznymi schematami, rysunkami i tabelami. Szata graficzna pracy jest nienaganna tj. bardzo elegancka. Piśmiennictwo cytowane stanowią 183 aktualne pozycje literaturowe, dominują cytowane prace z ostatnich lat, co świadczy o aktualności tematyki niniejszej rozprawy doktorskiej. Dobór bibliografii nie budzi żadnych wątpliwości czy uwag.

W części literaturowej dysertacji Pani mgr inż. Aleksandra Grzelakowska wprowadziła czytelnika do tematyki dysertacji, podkreślając rolę związków tiolowych w procesach komórkowych. Doktoranta dokonała opisu biologicznie ważnych tioli, zwracając szczególną uwagę na glutation (γ -glutamyl-cysteinyl-glicynę (GSH) – powszechny składnik wielu komórek zwierząt, roślin i bakterii), cysteinę (Cys) – aminokwas wchodzący w skład białek – syntezowany w wątrobie oraz homocysteinę (Hcy) – będącą jedną z trzech głównych niskocząsteczkowych sulfhydrylowych aminokwasów, która jest generowana na drodze demetylacji metioniny. Autorka dysertacji wskazała ich znaczenie w prawidłowym funkcjonowaniu organizmów, jak i ich wpływ na komplikacje zdrowotne, m.in. takie jak: schorzenia sercowo-naczyniowe, choroby neurodegeneracyjne, zaćma, przedwczesna miażdżycza, choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, białaczka, cukrzyca, AIDS, choroba alkoholowa, zakrzepica żylna, niedokrwienie mięśnia sercowego, udar mózgu, wady rozwojowe płodu spowodowane uszkodzeniem cewy nerwowej, zagrożenia poronieniem, nowotwory złośliwe – szczególnie jelita grubego, ostra białaczka limfoblastyczna, wady

wrodzone i zaburzenia funkcji poznawczych u osób starszych, spowolnienie wzrostu u dzieci, uszkodzenia wątroby i zmiany skórne, niski poziom białek we krwi, zanik mięśni i tkanki tłuszczowej, apatię, osłabienie, obrzęki oraz depigmentację włosów.

Istotny problem techniczny dotyczy efektywnej detekcji związków tiolowych w próbkach biologicznych. Pani mgr inż. Aleksandra Grzelakowska, pochylając się nad tym ważnym problemem stwierdziła, że największą popularność mają zaawansowane techniki analityczne. Wśród nich wyróżnić można: chromatografię cieczową (LC), w tym wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC) i elektroforezę kapilarną (CE). Innymi równie ważnymi metodami służącymi do wykrywania i oznaczania związków sulfhydrylowych są: spektrometria mas (MS), metody elektrochemiczne, spektrofotometryczne i spektrofluorymetryczne, wykorzystujące różnego rodzaju sensory i próbki optyczne oraz metody enzymatyczne i immunoenzymatyczne. Jeszcze bardziej skomplikowane i zaawansowane to techniki łączone: chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS), chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (LC-MS) oraz chromatografia cieczowa z detektorem fluorescencyjnym (LC-FL) i z detekcją absorpcji promieniowania UV-Vis (LC-UV-VIS), a także elektroforeza kapilarna z detekcją UV (CE-UV). Doktorantka opisując te ważne informacje nadmieniła, że ogromnym zainteresowaniem zaczęły cieszyć się metody wykorzystujące chemosensory i próbki optyczne (fluorescencyjne i kolorymetryczne). Ich rosnąca popularność spowodowana jest prostotą, brakiem konieczności stosowania zaawansowanych urządzeń i skomplikowanych procedur, a także zminimalizowaną kosztocłonnością.

Powszechnie wiadomo, że chemosensory przetwarzają informację chemiczną na sygnał użyteczny analitycznie. Ich działanie wynika głównie z funkcji chemicznych. Takie właściwości wykazują również tiole - są to silna nukleofilowość oraz zdolność do oddziaływania z metalami, determinowane przez różne reakcje, m.in. nukleofilową addycję, nukleofilową substytucję, cyklizację z aldehydami, rozrywanie różnego rodzaju wiązań przez tiole (np. wiązań disiarczkowych lub selen-azot), utlenianie oraz redukcję związków kompleksowych i inne. Doktorantka podkreśliła, że jedną ze specyficznych reakcji dla związków tiolowych jest addycja Michaela. Istotną, a nawet kluczową, rolę w tych oddziaływaniach stanowią barwniki. Stąd idea opracowania nowych ich rodzajów dedykowanych do tego celu. Uważam, że rozdział poświęcony chemosensorom w detekcji związków sulfhydrylowych, po niewielkim uzupełnieniu, może stanowić bazę do publikacji naukowej w formie pracy przeglądowej (tzw. *review*).

Jako że pochodne 2-chinolonów stanowiły ważny komponent w prowadzonych syntezach, Pani mgr inż. Aleksandra Grzelakowska przedstawiła najistotniejsze kwestie, zwracając głównie uwagę na ich właściwości i kierunki zastosowań, w tym jako próbki fluorescencyjne.

W ostatnim rozdziale części literaturowej skupiono uwagę na wybranych barwnikach benzofenoksazynowych, znajdujących zastosowanie w badaniach biologicznych. W rozdziale tym przy charakterystyce wybranych barwników sugerowałbym zastosowanie „profesjonalnego” ich nazewnictwa (tzw. *Colour Index Number* czy *C.I. Generic Name*), rozumiejąc zalety nazewnictwa zwyczajowego.

W ramach podjętych badań eksperymentalnych Autorka rozprawy syntetyzowała 14 barwników opartych na szkielecie 2-chinolonu, wśród których 8 to pochodne z ugrupowaniem dicyjanoetylenowym w strukturze, a także kolejnych 6 związków z ugrupowaniem 3-metylobenzo-tiazoloetylenowym. Ponadto Pani mgr inż. Aleksandra Grzelakowska otrzymała dodatkowo 3 barwniki stanowiące pochodne benzo[a]fenoksazyny z ugrupowaniem maleimidu. Wszystkie zsyntetyzowane barwniki to zupełnie nowe układy, których dotychczas nie opisano w literaturze przedmiotu, wyłączając prace współautorskie Autorki rozprawy.

Barwniki stanowiące pochodne 3-formylo-2(1H)-chinolonu otrzymano na drodze czteroetapowej syntezy, w której wyjściowymi substratami były odpowiednio podstawione acetanilidy. W pierwszym etapie acetanilidy poddano działaniu reagenta Vilsmeiera-Haacka uzyskując odpowiednio podstawione 2-chloro-3-formylochinoliny, które następnie przekształcono w 3-formylo-2(1H)-chinolony, za pomocą rozcieńczonego kwasu octowego. Analogi podstawione grupą metylową przy atomie azotu otrzymano w wyniku N-metylowania jodkiem metylu. Ostatni etap stanowiła kondensacja odpowiednio podstawionych 3-formylo-2(1H)-chinolonów z malononitrylem. W ramach prac otrzymano również barwniki, pochodne 3-formylo-2(1H)-chinolonu z ugrupowaniem 3-metylobenzotiazoloetylenowym, w wyniku kondensacji odpowiednio podstawionych 3-formylo-2(1H)-chinolonów z jodkiem 2,3-dimetylobenzo[d]tiazolu. Natomiast pochodne benzo[a]fenoksazyny z ugrupowaniem maleimidu w strukturze otrzymano na drodze czteroetapowej syntezy, w której wyjściowymi substratami były odpowiednio podstawione 1,4-naftochinony i 2-amino-5-nitrofenol. W pierwszym etapie otrzymano odpowiednio podstawione benzo[a]fenoksazyny z grupami nitrowymi, które poddano reakcji redukcji za pomocą borowodoru sodu. Dwa ostatnie etapy stanowiło przyłączenie bezwodnika maleinowego do struktury barwnika.

Wszystkie zsyntetyzowane w ramach pracy doktorskiej barwniki uzyskano z bardzo dobrymi lub zadowalającymi wydajnościami, a ich struktury potwierdzono m.in. za pomocą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego i spektrometrii mas.

Celem oceny właściwości spektroskopowych przeprowadzono szczegółowe badania, w których zarejestrowano widma absorpcyjne i emisyjne otrzymanych barwników, wyznaczono ich współczynniki ekstynkcji molowej, wydajności kwantowe fluorescencji i czasy życia fluorescencji.

Barwniki pochodne 3-formylo-2(1H)-chinolonu zawierające ugrupowanie dicyjanoetylenu w strukturze mają dwa wyraźne pasma absorpcji w zakresie światła widzialnego i bliskiego ultrafioletu o maksimum absorpcji mieszczącym się w zakresie 417-467 nm i 341-370 nm, z kolei barwniki pochodne 3-formylo-2(1H)-chinolonu z ugrupowaniem 3-metylobenzo-tiazoloetylenowym (które otrzymano z wydajnością 30-81% w wyniku kondensacji odpowiednio podstawionych 3-formylo-2(1H)-chinolonów z jodkiem 2,3-dimetylobenzo[d]tiazolu w temperaturze wrzenia bezwodnego etanolu) posiadają pasma absorpcji z maksimum w zakresie widzialnym przy 427-457 nm. Na podstawie zrealizowanych badań wykazano, że położenie λ_{\max} zależy od struktury chemicznej barwnika i w niewielkim stopniu od polarności rozpuszczalnika. Doktoranta udowodniła, że podstawniki elektronodonorowe (CH_3 , OCH_3) w pierścieniu benzenowym układu chinolinowego barwnika powodują przesunięcie batochromowe maksimum absorpcji w porównaniu z maksimum absorpcji barwnika niepodstawionego. Stwierdzono, że zsyntetyzowane związki, stanowiące pochodne 3-formylo-2(1H)-chinolonu, zawierające ugrupowanie dicyjanoetylenu, jak i 3-formylo-2(1H)-chinolonu z ugrupowaniem 3-metylobenzo-tiazoloetylenowym wykazują fluorescencję, której intensywność zależy od ich budowy oraz polarności zastosowanego rozpuszczalnika. Udowodniono ponadto, że wraz ze wzrostem polarności rozpuszczalnika obserwowane jest batochromowe przesunięcie maksimum pasma emisji, a wydajność kwantowa fluorescencji (Φ) zależy również od struktury barwnika. Dodatkowo, obecność w strukturze barwników atomu halogenu powoduje batochromowe przesunięcie absorpcji, niewielkie hipsochromowe przesunięcie maksimum emisji, a także skrócenie czasu życia fluorescencji w porównaniu z analogiem niepodstawionym.

Wartym podkreślenia jest fakt, że zsyntetyzowane – w ramach ocenianej pracy doktorskiej – nowe barwniki mogą potencjalnie znaleźć zastosowanie jako chemosensory optyczne służące do detekcji związków tiolowych, co ma istotny walor praktyczny.

Pani mgr inż. Aleksandra Grzelakowska realizując badania spektrofotometryczne i spektrofluorymetryczne w obecności różnych analitów w środowisku o pH 7,4 wykazała,

że w przypadku barwników pochodnych 3-formylo-2(1H)-chinolonu zawierających ugrupowanie dicyjanoetylenu w strukturze L-cysteiny (L-Cys) powoduje hipsochromowe przesunięcie maksimum pasma absorpcji i wygaszenie fluorescencji układu, nawet w obecności związków konkurencyjnych. W obecności innych aminokwasów również zarejestrowano pewne zmiany w widmie absorpcyjnym i emisyjnym, ale wyraźnie różnią się one od tych, które uzyskano w obecności L-Cys. W przypadku testów wybranych barwników z grupy pochodnych 3-formylo-2(1H)-chinolonu z ugrupowaniem 3-metylobenzotiazoloetylenowym efekt hipsochromowy uzyskano po dodaniu do roztworu barwnika wszystkich badanych aminokwasów tiolowych (L-Cys, L-ACC, L-GSH). Zsyntetyzowane pochodne 3-formylo-2(1H)-chinolonu wykazywały również odpowiedź optyczną w obecności takich tioli jak: 2-merkaptoetanol i kwas tioglikolowy. Natomiast dodanie L-Cys do roztworów barwników będących pochodnymi benzo[a]fenoksazyny z ugrupowaniem maleimidu w strukturze spowodowało ponad 4-, 5- i 6-krotny wzrost intensywności fluorescencji i batochromowe przesunięcie maksimum pasma absorpcji. W obecności innych badanych tioli odnotowano niewielkie zmiany w widmie absorpcyjnym i emisyjnym barwników, które wyraźnie różnią się od zmian powodowanych przez L-Cys.

Na podstawie zrealizowanych kompleksowo badań kinetycznych Autorka dysertacji stwierdziła, że reakcję pochodnych 3-formylo-2(1H)-chinolonu zawierających ugrupowanie dicyjanoetylenu w strukturze z L-Cys doskonale opisuje model kinetyczny reakcji pseudo-pierwszego rzędu. Udowodniono, że barwniki z ugrupowaniem 3-metylobenzotiazoloetylenowym wykazują odpowiedź optyczną względem tioli po znacznie dłuższym czasie i w obecności dużego nadmiaru analitu, w porównaniu z ich analogami z grupy związków 3-formylo-2(1H)-chinolonu zawierających ugrupowanie dicyjanoetylenu w strukturze. Sugeruje to, że w przypadku barwników pochodnych 3-formylo-2(1H)-chinolonu z ugrupowaniem 3-metylobenzotiazoloetylenowym efekty steryczne dominują nad efektami elektronowymi podstawników w aktywacji wiązania podwójnego do nukleofilowej addycji.

Doktorantka na podstawie wykonanych badań w środowisku o różnym pH wykazała, że parametr ten ma wpływ na właściwości spektroskopowe barwników pochodnych 3-formylo-2(1H)-chinolonu zawierających ugrupowanie dicyjanoetylenu, jak również barwników pochodnych 3-formylo-2(1H)-chinolonu z ugrupowaniem 3-metylobenzotiazoloetylenowym (zawierającymi grupę metylenową czy metoksyłową). W przypadku barwników pochodnych benzo[a]fenoksazyny z ugrupowaniem maleimidu w strukturze, pH środowiska ma nieznaczny wpływ na położenie maksimum pasma absorpcji i emisji. Uzyskane wyniki wskazują, że wszystkie zsyntetyzowane w ramach pracy doktorskiej związki wykazują odpowiedź

kolorymetryczną i/lub fluorescencyjną względem L-Cys w środowisku o pH zbliżonym do fizjologicznego (pH 7,4).

Pani mgr inż. Aleksandra Grzelakowska stwierdziła również, że najniższe stężenie L-cysteiny, które można rozpoznać za pomocą zsyntetyzowanych chemosensorów w warunkach eksperymentalnych mieści się w zakresie 130-286 μM dla pochodnych 2-chinolonu i 0,111-0,271 μM w przypadku pochodnych benzo[a]fenoksazyny. Uzyskane wyniki są porównywalne z wartościami uzyskanymi w przypadku innych dotychczas opisanych w literaturze sensorów.

Przeprowadzona przez Autorkę rozprawy analiza z zastosowaniem techniki UPLC/MS produktów reakcji pochodnych benzo[a]fenoksazyny z ugrupowaniem maleimidu w strukturze z L-Cys pozwala na wysnucie wniosku, iż tiol może przyłączyć się do cząsteczki barwnika na dwa różne sposoby. Co więcej, brak stechiometrii pomiędzy reagentami wskazuje, że reakcja między pochodnymi benzo[a]fenoksazyny i L-Cys może przebiegać według innego mechanizmu niż addycja Michaela.

Doktorantka wykazała również, że zarówno zsyntetyzowane pochodne 2-chinolonu, jak i barwniki benzofenoksazynowe wykazują niewielką aktywność cytotoksyczną na komórki linii neuroblastomy ludzkiej SH-SY5Y. Stwierdzono także, że tiole obecne w tych komórkach wywołują zmiany w fluorescencji barwników pochodnych benzo[a]fenoksazyny z ugrupowaniem maleimidu w strukturze.

Wartym podkreślenia jest fakt, że podjęte przez Panią mgr inż. Aleksandrę Grzelakowską próby syntezy nowych, nieopisanych dotychczas barwników z uwzględnieniem oceny ich właściwości stanowią istotny element nowości naukowej i przyczyniają się do rozwoju technologii chemicznej, ponadto mają istotny aspekt użytkowy.

Oceniając pracę w ujęciu edytorskim stwierdzam, że ogólnie jest ona zredagowana bardzo poprawnie językowo i stylistycznie, a jej szata graficzna jest bezbłędna i bardzo elegancka. Nie odnotowałem wielu nieprawidłowości. Doktorantka nadużywa jedynie słów „posiada” i „posiadają”, a niektóre dane zamieszczone na rysunkach (w szczególności przedstawione na osiach rzędnych i odciętych) zamiast przecinków zawierają kropki – co jak domniemam wynika z ustawień w komputerze bądź z transformacji rysunków z języka angielskiego na język polski. Doszukując się błędów merytorycznych, wydaje się, że poniosłem w tych czynnościach „porażkę”, gdyż nie znalazłem istotnych uchybień. Ciekawe jednak byłoby skonfrontowanie osiągnięć Autorki pracy (najważniejszych jej efektów) z danymi literaturowymi w syntetycznej tabelarycznej formie i zaznaczenie walorów pozytywnych i negatywnych. Oczywiście zestawienie to ma sens tylko dla innych rodzajów barwników o podobnych cechach/funkcjach

czy właściwościach, gdyż jak już uprzednio anonsowałem otrzymane przez Panią mgr inż. Aleksandrę Grzelakowską barwniki to zupełnie nowe związki. Proszę aby Autorka pracy ustosunkowała się do tej sugestii podczas publicznej obrony.

Chciałbym wyraźnie podkreślić bardzo wysoką wartość naukową i utylitarną zrealizowanej pracy, co jednoznacznie potwierdzają osiągnięcia wynalazcze i publikacyjne Doktorantki. Pani mgr inż. Aleksandra Grzelakowska jest współautorką 4 oryginalnych publikacji opublikowanych w renomowanym czasopiśmie *Coloration Technology*, w tym 3 bezpośrednio związanych z zagadnieniami opisanymi w dysertacji. Warty podkreślenia, jest fakt, że Doktorantka jest współtwórczynią 6 zgłoszeń wynalazków, w tym 3 będących pochodną otrzymanych rezultatów związanych bezpośrednio z tematyką ocenianej pracy, jak i dodatkowo 2 przyznanych patentów z innego obszaru Jej aktywności. Mgr inż. Aleksandra Grzelakowska jest również współautorką wielu rozdziałów w monografiach oraz prac opublikowanych w materiałach pokonferencyjnych. Swoje rezultaty przedstawiała w formie licznych komunikatów czy plakatów, na konferencjach o zasięgu krajowym, jak i międzynarodowym. Autorka pracy za wyróżniającą się działalność czy aktywność naukową była wielokrotnie nagradzana w formie licznych stypendiów, nagród czy wyróżnień.

Należy zaznaczyć istotny wkład mgr inż. Aleksandry Grzelakowskiej w rozwój technologii chemicznej i dziedzin pokrewnych, w szczególności w obszarze syntezy nowych grup barwników, oceny ich właściwości, jak i weryfikacji użytkowej. Sposób zaplanowania eksperymentów, zrealizowania badań, jak i forma przedstawienia wyników oraz ich wnikliwa i rzeczowa analiza, świadczą o niekwestionowanych wysokich kompetencjach naukowo-badawczych Autorki rozprawy i są dowodem Jej wysokiego poziomu przygotowania do prowadzenia badań naukowych czy realizacji pracy w przemyśle.

Na podstawie oceny pracy doktorskiej Pani mgr inż. Aleksandry Grzelakowskiej „Nowe barwniki pochodne benzo[a]fenoksazyny oraz 3-formylo-2(1H)-chinolonu – synteza, właściwości oraz zastosowanie w detekcji tioli” oraz zawartej w dysertacji aktywności naukowej jednoznacznie stwierdzam, że recenzowana rozprawa spełnia wszystkie wymogi ustawy z dnia 14 marca 2003 roku „o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki” (Dz. U. nr 65, poz. 595 z 16.04.2003 r., wraz z późniejszymi zmianami), wnioskuję ponadto do Komisji i/lub Wysokiej Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Łódzkiej o przyjęcie pracy i przeprowadzenie dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę ponadprzeciętną wartość naukową recenzowanej pracy, jej oryginalność potwierdzoną zgłoszeniami wynalazków oraz oryginalnymi publikacjami o wysokiej renomie i obiegu międzynarodowym, jak i znaczenie uzyskanych rezultatów dla rozwoju dyscypliny naukowej, wnoszę o wyróżnienie recenzowanej dysertacji doktorskiej.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a series of loops and a long horizontal stroke, positioned in the upper right quadrant of the page.