

Gliwice, 30. 05. 2020 r.

Recenzja

pracy doktorskiej mgr. Roksany Rzyckiej-Korzec „Projektowanie i synteza pochodnych imidów aromatycznych o potencjalnych zastosowaniach w farmacji lub optoelektronice”.

Przedłożona do zaopiniowania rozprawa doktorska stanowi kontynuację prac badawczych prowadzonych z powodzeniem w grupie prof. Jarosława Polańskiego w Instytucie Chemii Uniwersytetu Śląskiego. Obszar tematyczny omawianej rozprawy jest bardzo szeroki, dotyczy syntezy pochodnych tiokarbamidowych aromatycznych N-aminoimidów kwasów di- i tetra-karboksylowych a także badania ich właściwości cytotoksycznych, chelatujących i optycznych. Każdy z tych zakresów mógłby stanowić temat oddzielnej dysertacji. Największą grupę pochodnych stanowią pochodne imidu kwasu 1,8-naftalenodikarboksylowego. Imid ten od lat 70-tych ubiegłego wieku stanowi przedmiot badań ze względu na jego zdolność do tworzenia trwałych kompleksów z dupleksem DNA-Topoizomera II, co wywołuje wewnątrz komórki efekt cytotoksyczny. Dodatkowo ze względu na płaską budowę pochodne 1,8-naftalimidu wykazują właściwości interkalujące. Dwie najbardziej znane pochodne Mitonafid (nitro pochodna) i Amonafid (amino pochodna) zainicjowały szeroko zakrojone badania nad bioaktywnością tych pochodnych. Duży nacisk w tych badaniach położono na obniżenie cytotoksyczności pochodnych macierzystych (mitonafidu i aminonafidu), które w organizmach żywych są metabolizowane do toksycznych produktów. Kandydatka zsyntezowała także szereg pochodnych kwasu 1,4,5,8-naftalenotetrakarboksylowego i 1,2,4,5-benzenotetrakarboksylowego. Kolejne pochodne to imidy zawierające w pozycji 5 1*H*-benzo[*de*]zochinolono-1,3-dionu grupę nitrową lub aminową. W pozycji dwa (przy azocie imidowym) pochodne te były podstawione grupą alkilową lub pierścieniem benzenowym. Wreszcie ostatnią grupę stanowiły pochodne, w których grupa aminowa, w wyniku kondensacji z pochodnymi aldehydu salicylowego została zastąpiona ugrupowaniem iminowym. Praca ma układ tradycyjny składa się z pięciu części głównych: celu i zakresu pracy, części literaturowej, omówienia badań

własnych, części eksperymentalnej, podsumowania i bibliografii. Pracę uzupełniają spisy odnośnych skrótów, rysunków i tabel, a także życiorys i dorobek naukowy doktorantki.

Część literaturowa z powodu bardzo szerokiego zakresu badań z konieczności jest dość pobieżna chociaż zawiera niezbędne informacje do zrozumienia kierunków planowanych badań. Na podkreślenie zasługuje umiejętność kandydatki do tabelaryzowania wielu danych co jest czasami bardzo wygodne, ale pytanie czy zawsze konieczne. Np. Rysunek 2, w moim odczuciu to raczej tabela, przedstawia dotychczas zsyntezowane w zespole prof. Polańskiego tiosemikarbazony i wartości cytotoxycności w odniesieniu do modelowych linii komórek nowotworowych. Są tam zamieszczone związki o bardzo wysokiej cytotoxycności ale są i takie, których aktywność jest niska lub są nieaktywne. Ta tabela nie straciła by nic na swoich walorach informacyjnych gdyby wybrać związki najbardziej aktywne, o najniższej wartości IC50 ale dodać przynajmniej po jednym związku referencyjnym, leku typowym dla terapii w przypadku danego nowotworu. W tabeli 3 i 5 przedstawiono aktywność tiosemikarbazonów w odniesieniu do komórek nowotworowych i grzybów, tabela zawiera odsyłacze do oryginalnych źródeł, natomiast nic to nie mówi czytelnikowi o ich rzeczywistej aktywności. W kolejnych rozdziałach omówiono istotne mechanizmy działania leków antynowotworowych, według których prawdopodobnie działają planowane do syntezy związki. Pani Rzycka-Korzec udowodniła także zasadność stosowania farmakofora piperydynowego i piperazynowego na przykładzie obecnych na rynku leków zawierających je jako element struktury. Sporo uwagi kandydatka poświęciła naftalimidom, oprócz ich właściwości biologicznych przedstawiono też aktualne trendy dotyczące ich zastosowań w optoelektronice, chociaż w tym ostatnim przypadku zainteresowanie wzbudzają raczej pochodne diimidów kwasów 1,4,5,8-naftalenotetrakarboksyłowych i peryleno-3,4,9,10-tetrakarboksyłowego. Jak już wspomniałem ta część napisana jest w sposób skondensowany i dowodzi dużych zdolności Pani Rzyckiej-Korzec analitycznego myślenia i przedstawiania dużych ilości danych w sposób tabelaryczny. W części badawczej omówiono syntezę i właściwości fizykochemiczne i bioaktywność otrzymanych pochodnych. Zaproponowana metoda syntezy tiokarboamidów 1,3-dioksa-1H-benzo[de]izochinoliny jest łatwa w wykonaniu i co najważniejsze można ją prowadzić w małej skali. Otrzymane pochodne zidentyfikowano na podstawie spektroskopii NMR (^1H i ^{13}C NMR). Wykonano także przykładowe analizy widm korelacyjnych. Szkoda, że nie zamieszczono wyników analizy MS dopełniających identyfikację otrzymanych pochodnych. Tą samą strategię syntezy zastosowano do otrzymania pochodnych diimidów pozostałych rozważanych kwasów tzn. 1,4,5,8-naftalenotetrakarboksyłowego i 1,2,4,5-benzenotetrakarboksyłowego. Przedstawiona interpretacja widm NMR nie budzi zastrzeżeń i potwierdza duże umiejętności kandydatki w posługiwaniu się podstawowymi narzędziami identyfikacji związków organicznych. W kolejnych etapach badań kandydatka zsyntezowała N-

podstawione imidy kwasu 3-nitro-1,8-naftalenodikarboksyłowego oraz w wyniku ich redukcji hydrazyną imidy kwasu 3-amino-1,8-naftalenodikarboksyłowego. Jak już wspomniałem takie pochodne aminowe są wysoce toksyczne, ze względu na ich metaboliczną acylację do związków 3-aminoacylo; sposobem zmniejszenia ich toksyczności jest funkcjonalizacja grupy aminowej. Pani Rzycka-Korzec zaproponowała prostą i skuteczną drogę przemiany grupy aminowej w pochodne iminowe. W wyniku kondensacji N-podstawionych imidów kwasu 3-amino-1,8-naftalenodikarboksyłowego z pochodnymi aldehydu salicyłowego, zawierającymi w pierścieniu benzenowym dodatkowe podstawniki otrzymała serię imin z dobrymi wydajnościami. Struktury tych pochodnych zostały potwierdzone dostępnymi metodami spektroskopowymi oraz analizą elementarną. Należy podkreślić, że zaproponowana metoda syntezy imin wspomagana ultradźwiękami pozwoliła znacznie uprościć etap oczyszczania, do krystalizacji bezpośrednio z mieszaniny poreakcyjnej, nie ma wzmianki o konieczności rekrytalizacji. Pochodne iminowe zostały poddane szeroko zaplanowanym badaniom. Badano właściwości absorpcyjno-emisyjne przy użyciu spektroskopii elektronowej, właściwości termiczne, elektrochemiczne, elektroluminescencyjne i biologiczne. Widma absorpcyjno-emisyjne wykazują położenie maksimum absorpcji w zakresie 315-340 nm oraz pasma emisji nawet do 585 nm z widocznym efektem solwatochromowym sugerującym polaryzację cząsteczki w stosowanym rozpuszczalniku. Na podstawie przedstawionych danych trudno jednoznacznie stwierdzić charakter oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych wpływających na właściwości absorpcyjno-emisyjne, nie zamieszczono danych dotyczących wydajności kwantowej i czasu fluorescencji. Obserwowane różnice mogą być wywołane przez zmiany strukturalne związane z możliwością deprotonacji fenolowej grupy hydroksylowej i zerwaniem wiązań wodorowych w postulowanych tautomerach. Wiele do myślenia daje fakt intensywnego wzrostu emisji przy zastosowaniu dwóch ekwiwalentów TFA. W dalszej kolejności zbadano właściwości elektrochemiczne i elektroluminescencyjne. Szacowane na podstawie woltamperometrii wartości przerwy energetycznej mieszczą się w zakresie 2.32 – 2.53 eV i są większe niż w np. liniowych karbazolowo-BODYPY barwnikach dedykowanych ogniwom fotowoltaicznym ($E_g = 1.43-1.79$ eV) sugerując raczej ograniczone zastosowanie w ogniwach solarnych. Brak wartości wydajności kwantowej nie pozwala wyznaczyć efektywności emisji. Otrzymane iminy pochodne imidu kwasu 1,8-naftalenodikarboksyłowego wykazują zdolność penetracji komórek nowotworowych i wybiórczego lokowania się w mitochondriach i retikulum endoplazmatycznym, co niezbicie wykazały eksperymenty obrazowania komórkowego wykonane mikroskopem fluorescencyjnym.

Podsumowując część badawczą należy docenić duży wysiłek doświadczalny kandydatki; zsyntezowała i scharakteryzowała ok. pięćdziesięciu nowych związków chemicznych. Otrzymane pochodne poddała różnorodnym badaniom zarówno biologicznym jak i fizykochemicznym. Interpretacja wyników nie

budzi zastrzeżeń, jakkolwiek niektóre wnioski w świetle zawartych w pracy danych uważam za zbyt słabo udokumentowane, dotyczy to zwłaszcza właściwości optycznych. Liczba cytowanych pozycji literaturowych (331) świadczy o dobrym przygotowaniu kandydatki do przeprowadzonych badań oraz potwierdza umiejętności w selekcji danych źródłowych, co przy tak szeroko zakrojonym planie badawczym jest umiejętnością podstawową. Walory prezentacji wyników w postaci dobrze zaplanowanych tabel chwaliłem już wcześniej. Autorka nie ustrzegła się jednak szeregu błędów redakcyjnych. Moje obiektywne uwagi budzi zastosowanie nazewnictwa związków chemicznych, które odbiega od obowiązujących zasad i czasami prowadzi do błędów.

Sądząc po przedstawionej strukturze produktów kondensacji bezwodnika kwasu 1,8-naftalenodikarboksylowego (benzo[de]izochromeno-1,3-dionu) z tiosemikarbazonami. otrzymane produkty są tioamidami pochodnymi 2-amino-1,8-naftalenoimidu (2-amino-1H-benzo[de]isochinolono-1,3(2H)-dionu).

Związek oznaczony jako NITs 1 to 4-fenyl-N-(5-nitro-1,3-dioksa-1H-benzo[de]izochinolono-2(3H)piperydyno)karbotioamid itd. Konsekwentnie tak samo należałoby rozpatrywać pochodne dimidów kwasu naftaleno-1,4,5,8-tetrakarboksylowego oznaczone w pracy jako NDTs. Nazwy związków serii 3-NNI 2 do 3-NNI 8 zawierają błędy, nie wskazują pozycji podstawnika przy atomie azotu a związek 3-NNI 4 nie jest pochodną benzylową. Proponuję przed przygotowaniem prezentacji dokładną analizę nazw związków zawartych w części eksperymentalnej. Poniżej przedstawiłem pozostałe uwagi redakcyjne.

Uwagi redakcyjne do pracy:

Str. 6 $CDCl_3$ -d; $CHCl_3$, KBr nie są skrótami to wzory związków chemicznych

Str.6 Skrót Dp44mT – jest błędnie przetłumaczony : powinien być 4,4-dimetylo-3-tiosemikarbazon di-(2-pirydylo)ketonu.

Str. 9.i str. 34 Piperidyna, piperazyna i morfolina mają nasycone pierścienie

Str. 22 Na rys. 7a przedstawiono błędną strukturę izotiocyanianu, natomiast na rys 7b. nie wpisano atomu węgla we wzorze CS_2 .

Str.28 ponownie błędna nazwa Dp44mT. Na tej samej stronie podano błędną nazwę Tenulfolidu B

Str. 60 powinny być wymienione komórki HCT 116p53-/- zamiast powtórzenia HCT 116p53+/-

Str. 60 Rozdział 3.1. zatytułowano koniugaty imidów aromatycznych z tiosemikarbazonami, czy rzeczywiście są to koniugaty?

Str.85 znalazł się opis nie tych związków, których geometrię optymalizowano, żadna ze struktur NDITs 1-3 i PMITs 1-3 nie zawiera grupy nitrowej (według recenzenta to powtórzenie ze strony 70).

Str.91 rys. 57 i str. 99 rys. 64 błędnie oznaczono podstawniki R1 w rozwinięciu stosowanych w reakcji amin: jeśli aminy oznaczono jako H_2NR to R nie może zawierać już atomu azotu, bo wtedy taki zapis oznacza pochodne hydrazyny.

Str. 94 rys.60 co jest właściwym czynnikiem redukującym?

Str. 134 czy rzeczywiście do utrwalania komórek zastosowano 3,7% roztwór paraformaldehydu, czy była to formalina?

Str.134 Czy zastosowana nazwa dla $n-Bu_4NPF_6$ jest prawidłowa

Podsumowanie

Przedstawiona do zaopiniowania rozprawa doktorska zawiera ciekawy materiał poznawczy. Kandydatka opracowała metody syntezy nowych pochodnych kwasów wielokarboksylowych. Otrzymane związki poddała szczegółowej analizie strukturalnej wykorzystując jako podstawowe narzędzie spektroskopię NMR. Podjęła się skorelowania poszczególnych sygnałów w grupach otrzymanych związków z ich przesunięciem chemicznym, co może być bardzo przydatne dla innych eksperymentatorów, zajmujących się podobnymi strukturami. Otrzymane związki poddała w bardzo szerokim zakresie badaniom zarówno bioaktywności jak i aktywności optycznej. Za szczególnie interesujące uważam badania nad wybarwianiem komórek nowotworowych, które mogą być początkiem kolejnego projektu badawczego. Cele przedstawione na początku rozprawy zostały osiągnięte. Pani Rzycka-Korzec wykazała się umiejętnościami eksperymentatora, który potrafi zaplanować syntezę, otrzymać zaplanowane związki a następnie potwierdzić ich strukturę. W mojej opinii treści przedstawione w tej rozprawie spełniają wymagania ustawowe stawiane kandydatom do stopnia doktora (Ustawa z dn. 14 marca 2003 r. Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) i proponuję Radzie Naukowej Instytutu Chemii Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach przyjąć przedłożoną rozprawę i dopuścić do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk chemicznych.

