



Wydział Farmaceutyczny
Katedra Chemii Bioorganicznej i Biokoordynacyjnej Zakład
Chemii Bioorganicznej
dr hab. n. farm. Iwona Elżbieta Głowacka

Łódź, 25 sierpnia 2024 r.

Recenzja pracy doktorskiej mgr. Mateusza Kowalczyka pt.
„Nowe zastosowania D-A cyklopropanów w syntezach heterocykli
siarkowych oraz innych związków siarkoorganicznych” przedstawiona
Radzie ds. Stopni Naukowych Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego
w celu uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w Katedrze Chemii Organicznej i Stosowanej Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem prof. dr. hab. Grzegorza Mlostonia, którego zainteresowania badawcze obejmują m. in. szeroko rozumianą chemię związków siarki, i który bez wątpienia jest uznanym ekspertem w tej dziedzinie.

Badania przeprowadzone przez mgr. Kowalczyka dotyczące nowego zastosowania D-A cyklopropanów w syntezach heterocykli siarkowych oraz innych związków siarkoorganicznych wpisują się zatem w nurt badań prowadzonych w Zespole.

Rozprawa doktorska ma formę „hybrydową”. Zawiera bowiem opatrzone komentarzem cykl 5 współautorskich artykułów opublikowanych w czasopiśmie European Journal of Organic Chemistry (2021, 2024), Materials (2020), Journal of Natural Products (2021) i Molecular Ecology (2022), oraz nieopublikowane dotychczas wyniki prac badawczych.

W tym miejscu należy zaznaczyć, że na dorobek Doktoranta oprócz 5-ciu prac stanowiących podstawę dysertacji składają się dodatkowo jedna praca, która nie wchodzi w skład rozprawy doktorskiej oraz komunikaty konferencyjne (17) zaprezentowane na zjazdach krajowych (9) i międzynarodowych (8). Doktorant w 2020 roku brał również udział w realizacji zadania, w ramach projektu badawczego Beethoven-2, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Przedstawiona do oceny dysertacja zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim; wykaz skrótów oraz następujące rozdziały: wstęp, w którym Doktorant jasno zdefiniował założenia i cel pracy oraz przedstawił całkowity dorobek naukowy z wyszczególnieniem dorobku stanowiącego podstawę rozprawy (5 stron); część literaturowa wprowadzająca w

Katedra Chemii Bioorganicznej i Biokoordynacyjnej
Zakład Chemii Bioorganicznej

podjętą tematykę (36 stron); opis badań własnych wraz z dyskusją (28 stron); część eksperymentalna dla wyników nieopublikowanych (10 stron); podsumowanie; bibliografia (79 pozycji); skany publikacji stanowiących rozprawę doktorską oraz oświadczenia współautorów publikacji. Z zamieszczonych oświadczeń współautorów jak i oświadczenia samego Doktoranta wynika, że Jego rola sprowadzała się do wykonania większości prac eksperymentalnych wraz z oczyszczaniem finalnych produktów i ich pełnej charakterystyki spektroskopowej.

W podrozdziale zatytułowanym „Założenia i cel pracy” Doktorant w przejrzysty sposób przedstawił cel pracy oraz zakres prowadzonych badań, który dotyczył zbadania reaktywności D-A cyklopropanów z wybranymi związkami siarkoorganicznymi, tj. tioketonami, tioketenami oraz enolizującymi tionami. Uzupełnieniem części syntetycznej były badania aktywności przeciwwirusowej i przeciwnowotworowej.

Część literaturowa pracy została poświęcona omówieniu budowy i reaktywności D-A cyklopropanów, sfunkcjonalizowanych imidazolo-2-tionów i tetrazolo-5-tionów. W osobnych podrozdziałach tej części pracy Doktorant przedstawił charakterystykę i reaktywność tiokenenów oraz tropotionu. To dość obszerne opracowanie dobrze koreluje z podjętą tematyką badawczą, jednak tekst zawiera liczne błędy literowe, a Autor w kilku miejscach używa niefortunnnych sformułowań, np. str. 17 „wydajności produktów sięgały przedziału ... - termin wydajność opisuje proces, a nie produkty; „ .to reakcje otwarcia pierścienia prowadzące do produktów otwartołańcuchowycff'. str. 34 , .tworząc dając pożądaną” str. 44 „...mają występują...” Na stronie 37, na schemacie 24 Autor przedstawił przykłady ważnych biologicznie pochodnych imidazolo-2-tionów. W tym miejscu należałoby jednak podać przykłady konkretnych związków. Rysunek wymaga zatem doprecyzowania poprzez podanie dla związków o ogólnym wzorze 64 konkretnych podstawników R^1-R^3 .

Podsumowując tę część pracy uważam, że jest ona logiczna i spójna pod względem merytorycznym.

Z kolei w rozdziale zatytułowanym „Opis badań własnych” należy rozważyć i poddać ocenie dwie części: podsumowującą wyniki przeprowadzonych prac syntetycznych i badań aktywności biologicznej już opublikowanych danych oraz opisową dotyczącą nieopublikowanych dotychczas wyników.

Wykorzystując wcześniejsze doświadczenia Zespołu dotyczące zastosowania tioketonów ferrocenowych Doktorant zbadał reaktywność tioketenów (opisanych w pracy jako 2Aa, 2Ba i 2Bb) oraz tropotionu (5) w reakcjach cykloaddycji z wybranymi D-A cyklopropanami w obecności triflanu skandu jako aktywującego kwasu Lewisa [publikacje European Journal of Organic Chemistry (2021, 2024)].

Wykorzystując 1-izopropyl-1-tert-butylo-tioketen (2Aa) Doktorant przeprowadził reakcje cykloaddycji z odpowiednio sfunkcjonalizowanymi D-A cyklopropanami (Ia-s) otrzymując w każdym przypadku (3+2) cykloaddukty - tetrahydropyridyny (4a-s) jako

mieszaniny dwóch izomerów Z i E. Na podstawie analizy spektroskopowej ustalił proporcje powstających izomerów, które rozdzielił chromatograficznie i w pełni scharakteryzował wykazując, że w przewodzie zawsze powstaje izomer Z. Ponadto dla dwóch tiolanów wykonana została analiza rentgenostrukturalna, która dodatkowo potwierdziła, że związki te występują jako izomery Z. Wykazano wpływ zarówno charakteru jak i miejsca podstawnika w pierścieniu aromatycznym D-A cyklopropanu na wydajność reakcji, jak również wpływ budowy tioketenu. W przypadku sterycznie zatłoczonych tioketenów (związki 2Ba i 2Bb) odpowiednie cykloaddukty otrzymano z niskimi wydajnościami. Ponadto wykazano, że wszystkie reakcje (3+2) cykloaddycji tioketenów przebiegają z pełną chemoselektywnością wyłącznie z udziałem wiązania C=S.

Konsekwentnie realizując postawione cele mgr Kowalczyk zbadał reaktywność tropotionu (5), jako przedstawiciela klasy tioketenów, w reakcjach cykloaddycji z wybranymi D-A cyklopropanami. Wykazał, że w opracowanych warunkach tropotion ulega reakcji (8+3) cykloaddycji prowadząc do oczekiwanych bicyklicznych produktów (tiopiranolów). Reakcje cykloaddycji przebiegają w pełni stereoselektywnie, a wydajność reakcji zależy od podstawnika w pierścieniu cykloalkanu. Również w tym przypadku dla dwóch cykloadduktów wykonano analizę rentgenostrukturalną, która jednoznacznie potwierdziła orientację cis protonów zlokalizowanych przy centrach stereogenicznych HC(2) i HC(5). W dalszym rozwinięciu tej części projektu mgr Kowalczyk wybrane tiopirany przekształcił w odpowiednie sulfony, co pokazuje możliwość wykorzystania adduktów reakcji cykloaddycji (8+3) w syntezie nowych połączeń i tym samym otwiera drogę do szerokiej biblioteki związków siarkoorganicznych. Na uznanie zasługuje zaproponowanie mechanizmów reakcji cykloaddycji (8+3).

Uważam, że ta część pracy napisana została poprawnie. Drobne błędy edytorskie (literówki, niewłaściwa numeracja związków w tekście, itp.) nie umniejszają wartości merytorycznej tej części rozprawy.

Kolejny wątek badawczy podjęty przez Doktoranta jest kontynuacją wcześniejszych prac prowadzonych w zespole Promotora i dotyczy syntezy serii lepidylin, ich alkoksylowych oraz fluorowych analogów, jak również możliwości wykorzystania ich w syntezie nieenolizujących imidazolo-2-tionów oraz wstępnej oceny aktywności przeciwnowotworowej i przeciwwirusowej [publikacje Materia/s (2020), Journa/ of Natura/ Products (2021), Mo/ecu/es (2022)]. Wykorzystując procedury opisane w literaturze, ewentualnie modyfikując warunki reakcji poprzez zastosowanie promieniowania mikrofalowego, Doktorant zrealizował postawione cele syntetyczne. W ramach współpracy z zespołem prof. Anny Janeckiej z Zakładu Chemii Biomolekularnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz zespołem prof. Agnieszki Olejniczak z Instytutu Biologii Medycznej PAN w Łodzi zostały przeprowadzone wstępne badania oceny aktywności przeciwnowotworowej i przeciwwirusowej. Na podstawie uzyskanych wyników badań przeprowadzono wstępną analizę SAR. W grupie alkoksylowych analogów lepidylin najbardziej cytotoksyczne i zarazem

wysokie selektywne wobec komórek linii HL-60 jak i MFC-7 były bromki z podstawnikiem adamantyloksylowym. Natomiast w serii fluorowych analogów najwyższą cytotoksyczność wobec komórek linii HeLa i zarazem najwyższą selektywność wobec linii komórek prawidłowych wykazywały chlorki oznaczone w pracy numerami 35h-j. Otrzymane związki nie wykazywały znaczącej aktywności przeciwwirusowej.

Ta część pracy napisana została poprawnym językiem niemniej zawiera błędy edytorskie, m.in. w numeracji związków (np. str. 75 w podpisie schematu 56; str. 76 pojawia się numer związku 105A), przypisów literatury cytowanej oraz kilka niefortunnnych sformułowań, np. str. 73 „...N-t/enki imidazolu dawały tworzyły sole w postaci bromków 3-a/koksyimidazo/iowych imidazo/iowycff” str. 76 „Wreszcie zostały przeprowadzone badania aktywności cytotoksycznej /epidy/in A-D.....” czy str. 78 „Z tego powodu zdecydowano się zaangażować w niniejsze badanie serię fluorowanych /epidy/in”. Na str. 74 Autor napisał „Jak widać na Rys. 15 i Schemacie 56 są one struktura/nie bardzo podobne do badanych w naszym zespole N,N'-bis-benzy/o soli imidazo/iowych 304...” jednak nie podaje struktury tych związków, za to na str. 79 rys. 17 pojawia się nagle struktura bromku 30Aa - który nie jest dyskutowany w tekście i nie widnieje w podpisie rysunku 17.

W rozwinięciu badań dotyczących zastosowania D-A cyklopropanów w syntezie nowych heterocykli siarkowych (wyniki nieopublikowane) przeprowadzono reakcje D-A cyklopropanów z enolizującymi merkaptazolami oraz pochodnymi 6-członowych heterocykli azotowych.

Niestety w tym miejscu muszę stwierdzić, że o ile analiza rozdziałów zawierających wyniki wcześniej opublikowanych prac jest istotnie ułatwiona możliwością wglądu w oryginalne publikacje, to studiowanie części badań nieopublikowanych jest dość dużym wyzwaniem, gdyż wymaga od czytelnika jednoczesnej analizy tekstu i korekty licznych błędów edytorskich (brak w kilku miejscach lub błędny przypis literaturowy, błędy w numeracji, liczne literówki, itp.). Niemniej uzyskane wyniki niezaprzeczalnie są nowatorskie i wnoszą znaczny wkład w rozwój chemii związków siarkoorganicznych.

Badania w ramach tej części projektu rozpoczęto od ustalenia wpływu temperatury, czasu oraz rodzaju podstawników, zarówno w pierścieniu cyklopropanu jak i układzie heteroaromatycznym, na wynik reakcji. Wykazano, że w przypadku cykloaddycji z NI podstawionymi 5-merkaptotetrazolami selektywność reakcji zależy od rodzaju podstawnika w pierścieniu aromatycznym cyklopropanu jak również warunków reakcji. Jedynie reakcje D-A cyklopropanów zawierających w pozycji para pierścienia aromatycznego grupy elektronoakceptorowe prowadziły wyłącznie do tworzenia produktów S-alkilowania. W innych przypadkach obserwowano tworzenie S i N alkilowych pochodnych. Konsekwentnie realizując cele badawcze Doktorant zoptymalizował warunki reakcji, a następnie przeprowadził cykloaddycje wybranych D-A cyklopropanów z enolizującymi imidazolo-2-tionami. Wykazał, że niezależnie od podstawników w pierścieniu imidazolo-2-tionu reakcje przebiegają chemoselektywnie prowadząc do produktów S-insercji.

W rozszerzeniu prowadzonych badań mgr Kowalczyk postanowił sprawdzić reaktywność nieenolizujących imidazolo-2-tionów. Niestety nie otrzymał oczekiwanych produktów, a jedynie mieszaniny związków, których nie udało się scharakteryzować.

Uzyskane wyniki dla 5-merkaptotetrazoli oraz 2-merkaptimidazoli skłoniły Doktoranta do zbadania reaktywności kolejnych klas azaheterocyklicznych tionów. Wykazano, że w przypadku 1-metylo-3-merkaptio-1,2,4-triazolu (13), 2-merkaptobenzeno[d]oksazolu (14) oraz 2-merkaptopirydyny (23), 2-merkaptopirymidyny (22a), monotioracylu (22b) i ditiouracylu (22c) reakcje prowadzą do produktów S-alkilowania. Natomiast wynik reakcji cykloadycji z 5-metylo-2-merkaptio-1,3,4-tiadiazolem (15) zależy od budowy drugiego komponentu czyli D-A cyklopropanu. Zastąpienie podstawnika fenyloвого w pierścieniu cyklopropanu ugrupowaniem toluiłowym lub tien-2-yłowym powodowało zmianę regioselektywności reakcji i prowadziło do produktów N-alkilowania. Wykazano również, że w reakcji 2-fenylocyklopropylokarboksylanu dimetylu (Ia) z 2,5-bis(merkaptio)-1,3,4-tiadiazolem (16) powstaje mieszanina (1:1) dwóch diastereoizomerycznych produktów utworzonych w sekwencyjnie zachodzących reakcjach S i N-insercji.

Na uznanie zasługują podjęte przez mgr. Kowalczyka próby wyjaśnienia mechanizmu obserwowanych przekształceń.

Do tej części pracy mam jednak kilka uwag. Przedstawiony na stronach 58-59 opis „metod A-D” (choć raczej należałoby powiedzieć warunków reakcji) nie koreluje z warunkami reakcji podanymi pod Tabelą 1. O ile autor wyraźnie zaznaczył eksperymenty przeprowadzone zgodnie z metodą A i D, względnie metodą B to trudno znaleźć komentarz do opisu reakcji prowadzonych zgodnie z metodą C. Zastosowana numeracja związków w tabeli 1 w takiej formie utrudnia dodatkowo analizę tekstu, ciężko ją skorelować z numeracją i strukturami przedstawionymi na schemacie 47.

Analiza części eksperymentalnej nie budzi zastrzeżeń jednak i tu nie udało się uniknąć kilku błędów w numeracji związków.

W rozdziale zatytułowanym Podsumowanie mgr Kowalczyk przedstawił zrealizowane cele.

W mojej ocenie aktualność tematyki badawczej i bardzo szeroki zakres prac eksperymentalnych wykonanych przez mgr. Kowalczyka wyznaczają poziom merytoryczny rozprawy, mimo że sam Autoreferat zawiera wiele uchybień, zwłaszcza językowych. Należy zwrócić uwagę na dokładne zaplanowanie badań i ich skrupulatną realizację. Ponadto ustalając budowę chemiczną nowo zsyntetyzowanych połączeń Doktorant wykazał się biegłością w interpretacji widm NMR i wykorzystywaniu danych spektralnych w analizie strukturalnej.



Na podkreślenie zasługuje również interdyscyplinarny charakter prezentowanej pracy, wynikający z połączenia syntezy organicznej z wykonaniem i analizą badań biologicznych. Pragnę podkreślić, że uwagi zawarte recenzji nie umniejszają wartości merytorycznej dysertacji. Założony cel pracy został w pełni zrealizowany, a wyniki uzyskane w ramach realizacji pracy doktorskiej mają dużą wartość naukową.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr. Mateusza Kowalczyka spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (tj. Dz.U. z 2018 r., poz. 1668 z późniejszymi zmianami). Wnoszę zatem do Rady ds. Stopni Naukowych Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Iwona Głowacka