



Dr hab. inż. Ilona Wandzik, prof. nzw. Pol. Śl.

e-mail: ilona.wandzik@polsl.pl

tel. 32 237 20 28

Gliwice, 30.08.2016

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Michaliny Szyszki

*pt Synteza nowych receptorów pochodnych cukrów i eterów azakoronowych i badanie ich
właściwości kompleksujących*

wykonanej w Katedrze Chemii Organicznej i Stosowanej
Uniwersytetu Łódzkiego
pod kierunkiem **dr hab. Stanisława Porwańskiego**

Badania prowadzone w ramach pracy doktorskiej zostały współfinansowane ze środków Unii Europejskiej w ramach projektu POIG (POIG.01.01.02-02-14-102/09)

Rozprawę stanowi cykl pięciu publikacji poprzedzony wstępem dotyczącym tematyki badawczej i omówieniem wyników opisanych w publikacjach. Cztery z pięciu publikacji przedstawionego cyklu są spójne tematycznie i zostały opublikowane w czasopismach z listy filadelfijskiej, takich jak: Carbohydrate Research (dwie prace), Heteroatom Chemistry i Synlett. We wszystkich opublikowanych pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, a z załączonych oświadczeń wynika, że Jej wkład był dominujący. Dwie prace powstały we współpracy z naukowcami francuskimi z Universite de Lorraine. Na uwagę zasługuje fakt, iż jedna praca opublikowana w Synlett jest monoautorskim doniesieniem typu „spotlights” i przedstawia zastosowanie użytecznego w chemii organicznej bis(trifluorometanosulfonianu) di-*tert*-butylosililu. Pani Michalina Szyszka jest ponadto współautorką piątej publikacji, która jest w końcowej fazie przygotowania.

Badania prowadzone przez Doktorantkę w ramach pracy doktorskiej miały na celu otrzymanie nowych połączeń pochodnych cukrowych z eterami azakoronowymi i ocenę zdolności kompleksujących tych pochodnych. Takie kompleksy supramolekularne typu gość-gospodarz z uwagi na unikatowe właściwości fizykochemiczne stanowią bardzo ważną grupę wielkocząsteczkowych połączeń chemicznych, a ich szerokie wykorzystanie w chemii,

inżynierii materiałowej i naukach medycznych wzmaga badania nad ich syntezą i charakterystyką. W tym nurcie mieści się praca doktorska mgr Michaliny Szyszki.

Praca była realizowana pod kierunkiem dr hab. Stanisława Porwańskiego, ale także we współpracy z wieloletnim liderem grupy badawczej profesorem Bogusławem Kryczką. Biorąc pod uwagę bogate doświadczenie tej grupy w dziedzinie chemii supramolekularnej z wykorzystaniem pochodnych sacharydowych, Doktorantka trafiła na bardzo dobry grunt i rozszerzyła wcześniejsze badania. Autorka poprzez połączenie pochodnych sacharydowych z eterami azakoronowymi uzyskała receptory o wyjątkowych właściwościach. Z jednej strony jednostki sacharydowe jako związki polihydroksylowe zapewniają wysoką hydrofilowość, możliwość tworzenia wiązań wodorowych i ściśle zdefiniowaną konfigurację, która odpowiada za rozpoznawanie molekularne, z drugiej strony etery azakoronowe zdolne są do tworzenia kompleksów z kationami. Układy zawierające w strukturze jednostki sacharydowe cieszą się dużym zainteresowaniem w zastosowaniach biomedycznych. Jednym z takich zastosowań jest zwiększenie biodostępności leków o charakterze hydrofobowym. Takie supramolekularne wiązanie leków wydaje się być alternatywą dla koniugatów cukrowych z lekami.

We wstępie dotyczącym tematyki badawczej Autorka opisuje mechanizm reakcji Staudingera-aza-Wittiga, kolejno przedstawia etery azakoronowe jako grupę związków makrocyklicznych, opisuje metody ich syntezy i zasady nazewnictwa. Informacje te podane są w sposób kompaktowy i bardzo dobrze wprowadzają czytelnika w zagadnienia ogólne. Następnie przedstawione są przykłady receptorów supramolekularnych oraz rodzaje kompleksów typu gość-gospodarz. Autorka nie zawsze jest konsekwentna w stosowanym nazewnictwie: na ogół mówi o „chemii supramolekularnej”, ale wymiennie stosuje „supracząsteczki” i „struktury supramolekularne” oraz „molekuły” i „cząsteczki”. Na zakończenie wstępu na stronie 16-tej Autorka wspomina o makrocyklicznych pochodnych eterów koronowych i sacharydów jako selektywnych receptorach. Uważam, że ten wątek został potraktowany zbyt pobieżnie. Autorka jedynie pisze „Zwykle fragment cukrowy, który stanowią mono-, di- lub trisacharydy jest bezpośrednio wbudowany w układ korony bądź jest do niego doczepiony” i tutaj podany jest odnośnik literaturowy [36], który obejmuje aż 17 pozycji literaturowych. Szkoda, że nie zostały te prace podzielone choćby na dwie zasadnicze grupy: pochodne zawierające sacharyd wbudowany w układ korony i zawierające sacharyd jako grupę wiszącą. W załączonych publikacjach takiej analizy również nie ma, ale to wynika z ogólnie przyjętego w czasopiśmie krótkiego wstępu. Jako cel pracy oprócz syntezy nowych receptorów sacharydowo-azakoronowych o charakterze lariatów i kryptandów, Autorka zaplanowała ocenę zdolności kompleksujących tych połączeń ze znanymi lekami, takimi jak aspiryna czy paracetamol. Autorka z dużym optymizmem pisze na stronie 17-tej o możliwości praktycznego wykorzystania w przemyśle farmaceutycznym kompleksów z lipofilowymi lekami, gdyż „Zwiększenie rozpuszczalności w środowisku wodnym hydrofobowych cząsteczek leków zwiększa ich biodostępność. Oznacza to, że leki - nie zawsze obojętne dla wszystkich tkanek i organów pacjenta – będzie można w przyszłości podawać w mniejszych, bezpieczniejszych dawkach”. Zgadza się z tym, że odpowiednia lipofilowość, która wpływa

na przenikanie przez błony biologiczne i rozpuszczalność związków w płynach ustrojowych są obok formy podania leku, kluczowymi parametrami decydującymi o biodostępności. Chciałam tutaj jednak zwrócić uwagę na fakt, że oba wybrane do badań leki choć są związkami aromatycznymi, to jednak stosunkowo dobrze rozpuszczalnymi w wodzie (>3 mg/mL), gdyż oba mają charakter kwasowy i w środowisku wodnym mogą występować w formach zjonizowanych. Uważam, że lepszym przykładem do zademonstrowania skuteczności kompleksowania byłby związek bardzo słabo rozpuszczalny w wodzie. Jeszcze lepiej, gdyby to był związek chiralny, gdyż jednostki cukrowe zawarte w cząsteczkach gospodarza jako chiralne potencjalnie mogłyby selektywnie kompleksować enancjomery. Druga kwestia, którą chciałabym tutaj poruszyć dotyczy podawania leku w formie kompleksu w mniejszych, bezpieczniejszych dawkach. Należy pamiętać, że w kompleksie wprowadzamy do organizmu również receptor, który dzięki jednostkom sacharydowym jest dobrze rozpuszczalny w płynach ustrojowych, ale dla organizmu nie jest obojętny, a biodegradacja takiego mocznikowego połączenia cukru z eterem azakoronowym chyba nie jest możliwa (??). Pomimo tej polemiki, uważam, że Autorka podjęła się ciekawego tematu i wysoko oceniam taki zamysł pracy.

W kolejnej części rozprawy Autorka omawia wyniki opisane w publikacjach P1-P5. Z uwagi na to, że cztery z pięciu publikacji przedstawionego do recenzji cyklu przeszły już proces recenzji w czasopiśmie, rola recenzenta jest uproszczona. Niemniej jednak chciałabym przedstawić kilka uwag. Autorka syntezę tytułowych związków opiera na znanej reakcji Staudingera-aza-Wittiga, która polega na reakcji trifenylofosfiny z azydkiem cukrowym w obecności ditlenku węgla i eteru azakoronowego jako nukleofila, co prowadzi do uzyskania pochodnych mocznikowych. Choć Autorka korzysta z wcześniej opracowanych metod, warto w tym miejscu podkreślić, że opisane metody literaturowe podobnych pochodnych zawsze wymagają dopracowania przy zmianie substratu cukrowego. Synteza złożonych pochodnych cukrowych była bardzo trudnym, pracochłonnym i wymagającym dużego doświadczenia zadaniem. Wszystkie nowe związki poddane zostały charakterystyce metodami spektroskopowymi: ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR oraz analizie elementarnej. Wyniki analiz zostały bardzo starannie opisane w częściach eksperymentalnych, do pełnej charakterystyki brakuje jedynie parametru skręcalności właściwej.

Opisane w publikacji P1 receptory typu lariatowego pochodne eteru azakoronowego (15-korona-5) oraz celobiozy lub glukozy uzyskano z bardzo wysoką wydajnością i następnie zostały one poddane kompleksowaniu z aspiryną i paracetamolem, co zostało udokumentowane metodą ^1H NMR. Widma kompleksów zostały zarejestrowane w układzie rozpuszczalników D_2O /pirydyna- d_5 (9:1). Dla kompleksów o składzie 1:1 wyliczono stałe kompleksowania, które wskazują na słabe wiązanie na poziomie mikromolowym. W tym miejscu chciałabym się dowiedzieć, jaki był cel dodawania deuterowanej pirydyny. Czy nie zachodziła obawa, że na skutek oddziaływań elektrostatycznych utworzą się równoległe kompleksy dwuskładnikowe aspiryna/pirydyna lub trójskładnikowe aspiryna/pirydyna/związek makrocycliczny?

Publikacja P2 jest kontynuacją badań, przy czym wykorzystane zostają dwa dodatkowe etery azakoronowe (12-korona-4 i 18-korona-6), a otrzymane receptory kompleksowane są z *p*-toluenosulfonamidem. Najciekawszym aspektem tej publikacji była ocena oddziaływań w kompleksie gość-gospodarz. Analiza widma IR jednego z kompleksów oraz porównanie go z widmami gościa i gospodarza wskazuje na tworzenie wiązania wodorowego pomiędzy grupą sulfonową oraz aminową z *p*-toluenosulfonamidu i mostkiem mocznikowym z makrocyklu. Ponadto analiza widma ROESY wskazuje na oddziaływanie protonów aromatycznych gościa z protonami CH₂ w koronie gospodarza.

Do jednego z najtrudniejszych zadań syntetycznych zaliczyłabym syntezę kryptandów cukrowych opisanych w publikacji P4. Choć Autorka skorzystała z opisanych metod literaturowych dotyczących manipulacji na fragmencie sacharydowym to uzyskała nowe, nieopisane związki. Po wielu przekształceniach Autorce udało się uzyskać zamknięte makrocykliczne pochodne zbudowane z dwóch jednostek sacharydowych i dwóch jednostek eteru azakoronowego. Finalne kryptandy zawierały celobiozę i glukozę jako jednostki sacharydowe. Pochodna glukozy została zsyntezowana w uproszczonej procedurze z wykorzystaniem diazydkowej pochodnej jako substratu. Moje wątpliwości w tym miejscu budzi wniosek, że z dwóch możliwych makrocykli utworzył się ten, w którym cząsteczki glukozy znajdują się równolegle względem siebie (ułożenie „głowa-ogon”, „głowa-ogon”). Czy obecność pojedynczych sygnałów dla węgla C1 i C6 jest wystarczającym dowodem? Druga uwaga do tej syntezy dotyczy schematu 12, na którym zaznaczono dwie cząsteczki eteru azakoronowego **9**. Taki zapis sugeruje, że do reakcji użyto dwóch ekwiwalentów związku **9** w stosunku do diazydku **30**. W rzeczywistości związki **9** i **30** użyto w stosunku molowym 1:1, co potwierdza przepis w części eksperymentalnej publikacji P4. Wobec tego zapis na schemacie 12 wprowadza w błąd i sugeruje syntezę z udziałem dwukrotnego nadmiaru eteru azakoronowego.

Ostatnia praca P5 ma być podsumowaniem badań spektroskopowych i próbą określenia struktury makrocyklicznej jednego z otrzymanych związków w formie wolnej i w kompleksie z aspiryną przy zastosowaniu metod chemii obliczeniowej. Pewien niedosyt budzi brak umieszczenia uzyskanych wyników dotyczących kompleksów gość-gospodarz w kontekście z innymi badaniami w tej tematyce., np.: „Structural Study of Salicylic Acid Salts of a Series of Azacycles and Azacrown Ethers” w *Crystal Growth & Design*, 10, 2010, 1510-1520; „Anion binding with urea and thiourea derivatives” w *Coordination Chemistry Reviews* 295, 2015, 80–124.

Znalazłam w pracy kilka błędów edytorskich (literówki, interpunkcja, żargon laboratoryjny), ale ogólnie wprowadzenie i komentarz do publikacji są napisane czytelnie i stylistycznie poprawnie. Kilka dodatkowych uwag przedstawiam poniżej:

Str. 17: błędna strona podana w odnośniku [37], zamiast 4196 powinno być 6196

Str. 18: odnośnik literaturowy [38] dotyczący syntezy azydków cukrowych nie jest zgodny z odnośnikiem [8a,b] w publikacji P1

Str. 18: nazwa 1,4,10-trioksa-7,13-diazacyklopentadekan nie jest zgodna pod względem numeracji heteroatomów z nazwą w rozdziale Results and Discussion w publikacji P1

Str. 30: pozycja literaturowa [48] dotyczy syntezy pochodnych azydkowych, a nie 4,6-acetali (ten sam błąd dotyczy poz. [12] w publikacji P4)

Str. 30: schemat 8 zawiera nadmiarowy opis **17a=3, 17b=1**

Str. 34: schemat 12, reagent **9** (2 cząsteczki), raczej 1 equiv.

Powyższe uwagi nie wpływają na końcową ocenę rozprawy. Cel pracy - synteza nowych pochodnych o charakterze lariatów i kryptandów i ocena ich właściwości kompleksujących został zrealizowany pomyślnie. Autorka wykazała się niewątpliwie dobrym przygotowaniem merytorycznym, dużą starannością w planowaniu i przeprowadzeniu eksperymentów.

W podsumowaniu chciałabym stwierdzić, że wyniki przedstawione w rozprawie doktorskiej są wartościowe, posiadają elementy nowości naukowej w dziedzinie chemii cukrów i zostały już opublikowane w czterech publikacjach naukowych, a manuskrypt piątej publikacji dotyczącej tematu rozprawy jest w końcowej fazie przygotowania. Doktorantka jest współautorką dwudziestu ośmiu doniesień konferencyjnych, w tym dwóch komunikatów ustnych. To bez wątpienia świadczy o dużym potencjale naukowym Autorki, za co była nagradzana stypendiami: na dofinansowanie zadań projakościowych oraz „Doktoranci – Regionalna Inwestycja w Młodych Naukowców nauk przyrodniczych i technologicznych”.

Uważam, że rozprawa doktorska pt ***Synteza nowych receptorów pochodnych cukrów i eterów azakoronowych i badanie ich właściwości kompleksujących*** spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z póź. zm.) i z pełnym przekonaniem wnioskuję o dopuszczenie mgr Michaliny Szyszki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. inż. Ilona Wandzik, prof. nzw. Pol. Śl.