

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

Łódź, 4 grudnia 2023 r.

Recenzja pracy doktorskiej mgr Leny Marciniak zatytułowanej

„Wykorzystanie chiralnych ligandów azirydynowych w syntezie związków o właściwościach luminescencyjnych”

przedstawiona Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki chemiczne w celu uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w Katedrze Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem dra hab. Michała Rachwalskiego, prof. UŁ oraz dra Adama Pieczonki, pełniącego rolę promotora pomocniczego. Tematyka podjętej rozprawy dotyczy dwóch bardzo ważnych obszarów chemii organicznej tj. syntezy chiralnych ligandów azirydynowych i wykorzystania ich jako katalizatorów w syntezie asymetrycznej oraz projektowania i syntezy nowych związków luminescencyjnych, na drodze reakcji sprzęgania krzyżowego z wykorzystaniem otrzymanych katalizatorów azirydynowych.

Rozprawa ma układ powszechnie przyjęty dla prac doktorskich i jest podzielona na dziewięć rozdziałów obejmujących: *Wstęp i zakres pracy doktorskiej, Część literaturową, Część badawczą, Część eksperymentalną, Podsumowanie, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wykaz skrótów oraz Literaturę cytowaną.*

W krótkim rozdziale zatytułowanym „*Wstęp i zakres pracy doktorskiej*”, poprzedzającym „*Część literaturową*”, Autorka nakreśla cele pracy oraz przedstawia dokładny zakres prowadzonych badań. Cele pracy zostały jasno sformułowane i obejmują opracowanie metod syntezy nowych ligandów azirydino-imino-fosfinowych i azirydino-iminowych oraz wykorzystanie ich zarówno w wybranych reakcjach sprzęgania krzyżowego jak i asymetrycznych; syntezę serii hydrazydów hydrazydowych pochodnych kwasu salicylowego, zbadanie możliwości ich wykorzystania jako materiałów dedykowanych dla elektroniki organicznej oraz ocenę aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwnowotworowej otrzymanych związków.

Część literaturową rozprawy stanowi 64-stronicowe opracowanie, które Doktorantka podzieliła na trzy główne podrozdziały opisujące reakcje katalizowane palladem w syntezie układów aromatycznych, elektronikę organiczną jako źródło inspiracji dla tworzenia nowych materiałów organicznych, techniki wytwarzania ciekłych warstw półprzewodzących. Niniejsze opracowanie powstało w oparciu o przegląd liczący 173 pozycji literaturowych i doskonale wprowadza czytelnika w realizowaną tematykę.

Należy podkreślić, że Pani mgr Lena Marciniak przedstawiła ambitną pracę doktorską, której realizacja wymagała wielu umiejętności. Obszerny zakres badań wymagał dużej dyscypliny badawczej, którą dostrzegamy w konstrukcji pracy. Zwraca uwagę logiczne zaplanowanie

Katedra Chemii Bioorganicznej i Biokoordynacyjnej
Zakład Chemii Bioorganicznej

90-151 Łódź | ul. Muszyńskiego 1
tel. (042) 677 92 37
e-mail: iwona.glowacka@umed.lodz.pl
www.umed.pl

modyfikacji w obrębie zarówno podstawników pierścienia aromatycznego jak i ugrupowania hydrazonowego. Tak zaplanowany tok badań świadczy o dojrzałości naukowej mgr Marciniak, która umiejętnie stawia hipotezy badawcze, logicznie planuje prace eksperymentalne, a następnie konsekwentnie je realizuje.

Kolejna część pracy zatytułowana *"Badania własne"* została opisana na 57 stronach i jest szczegółowym omówieniem prowadzonych przez Doktorantkę badań stanowiącym najważniejszą część recenzowanej pracy. Zgodnie z założonymi celami tekst ten został podzielony na dwa rozdziały: *"Synteza i badanie aktywności katalizatorów w wybranych reakcjach chemicznych"* i *"Synteza luminescencyjnych hydrazonów hydrazydowych oraz badanie ich właściwości"*. Każdy z rozdziałów poprzedzony jest krótkim wprowadzeniem związanym z koncepcją i zaprojektowaniem przeprowadzonych badań, w którym Autorka podkreśla zasadność podjętej tematyki, definiuje cele badawcze oraz analizuje zakres prowadzonych prac. Doktorantka w bardzo przejrzysty sposób przedstawia zasadność podjętej tematyki bazując na danych literaturowych jak i wynikach uzyskanych w macierzystej jednostce.

W pierwszej części Autorka opisuje opracowaną metodę syntezy zaprojektowanych ligandów azirydino-imino-fosfinowych i azirydino-iminowych oraz ich wykorzystanie zarówno w wybranych reakcjach sprzęgania krzyżowego jak i asymetrycznych. Niewątpliwie punktem wyjścia były tu wcześniejsze dokonania i osiągnięcia zespołu Promotora. Zgodnie z założeniami projektu prace syntetyczne mgr Lena Marciniak rozpoczęła od syntezy ligandów azirydino-imino-fosfinowych, które otrzymała w zaplanowanych sekwencjach reakcji, wykorzystując jako substraty handlowo dostępne chiralne aminokwasy. Należy zaznaczyć, że mgr Marciniak jest współautorką publikacji, w której ta część badań została opisana (Catalysts, 2021, 11, 986). Kolejny etap dotyczył zbadania możliwości wykorzystania otrzymanych ligandów w wybranych reakcjach sprzęgania krzyżowego, reakcjach Suzuki-Miyaura oraz Sonagashiry. Z uwagi na aspekt potencjalnego wykorzystania końcowych produktów, hydrazonów hydrazydowych, w elektronice organicznej Doktorantka już na tym etapie pracy postanowiła stworzyć bibliotekę modyfikowanych aldehydów, opartych na szkielecie aldehydu salicylowego, jako że stanowią one jeden z reagentów niezbędnych do syntezy tego typu układów. Na wysoką ocenę zasługuje logiczne i racjonalne podejście do modyfikacji struktur obejmujące wprowadzenie różnych podstawników do pierścienia aromatycznego, jak również zastąpienia pierścienia benzenu bardziej rozbudowanym układem chromoforowym. Jest to bardzo racjonalne podejście, które w końcowym etapie badań pozwoli na określenie wpływu struktury związku na kluczowe czynniki kwalifikujące aplikacyjne zastosowanie materiałów w elektronice organicznej tj. rozpuszczalność, czy też intensywność luminescencji. Doktorantka wykazała się umiejętnością wykorzystywania doświadczeń i wyników wcześniejszych prac prowadzonych w macierzystym zespole, jak również studiowania literatury przedmiotu. W trakcie przeprowadzonych prac mgr Marciniak zoptymalizowała warunki reakcji sprzęgania Suzuki-Miyaura wykorzystując jako reagenty aldehydy 5-bromo- i 5-jodosalicylowy oraz szeroką gamę rozbudowanych kwasów/estrów boronowych (oznaczonych w pracy jako **8a-m**). Zbadała wpływ użytego liganda, rozpuszczalnika, zastosowanej zasady, prekursorów palladowych, stosunek wykorzystanych substratów jak również stosunek liganda do prekursora. W konsekwencji Doktorantka opracowała wydajną metodę syntezy odpowiednich aldehydów wykorzystującą ligandy azirydino-imino-fosfinowe. Udowodniła wpływ ligandów na wydajność reakcji. Na tym etapie należy zwrócić uwagę, że oprócz wykazania wpływu ligandów azirydino-imino-fosfinowych na wydajność reakcji Doktorantka podjęła także próby zidentyfikowania miejsca przyłączenia

palladu do cząsteczki liganda (wykorzystane ligandy posiadają trzy potencjalne centra koordynujące). Fakt ten zasługuje na uznanie, świadczy bowiem o docieklivości i dojrzałości naukowej Doktorantki. Na podstawie analizy wyników przeprowadzonych badań mgr Marciniak wykazała, że obecność grupy fosfinowej w cząsteczce liganda jest niezbędna do utworzenia kompleksu.

Z uwagi na znaczący wpływ ugrupowania acetylenowego na właściwości elektronowe materiałów do elektroniki organicznej kontynuacją prac mgr Marciniak była synteza odpowiednich aldehydów salicylowych i ich pochodnych zawierających w pierścieniu aromatycznym ten fragment strukturalny. Doktorantka zoptymalizowała warunki reakcji sprzęgania Sonagashiry wykorzystując jako reagenty aldehydy 5-bromo- i 5-jodosalicylowy oraz wybrane handlowo dostępne terminalne alkiny (oznaczone w pracy jako **9a-e**) jak również opisane w pracy, otrzymane na drodze syntezy alkiny oznaczone numerami **12** i **14**. W tym przypadku wykorzystanie ligandów nie wpłynęło znacząco na zwiększenie wydajności reakcji, które były zadowalające również bez ich użycia.

W dalszym rozwinięciu tej części projektu mgr Lena Marciniak zbadała aktywność katalityczną ligandów w stereoróżnicujących reakcjach asymetrycznego cyklopropanowania Simmons-Smitha alkoholu cynamyłowego oraz addycji dietylocynku do aldehydu benzooesowego odbywających się w obecności jonów cynku. W obu testowych reakcjach dla wszystkich trzech ligandów odpowiednie produkty otrzymano z dobrymi wydajnościami (79-85%) i wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi (68-72%). Wyniki tych badań również zostały opublikowane w 2021 r, w czasopiśmie *Catalysts*. Kontynuując prace eksperymentalne mające na celu rozszerzenie badań aktywności chiralnych ligandów, mgr Marciniak wykorzystując wcześniej opracowane metody syntezy ligandów azirydino-imino-fosfinowych otrzymała serię ligandów azirydino-iminowych (**19a-j**) oraz zbadała ich aktywność katalityczną w stereoróżnicujących i diastereoróżnicujących reakcjach aldolowych. Wyniki tych badań zostały szczegółowo opisane w publikacji zamieszczonej w czasopiśmie *Symmetry* **2020**, której Doktoranka jest współautorem.

Podrozdział „Synteza luminescencyjnych hydrazonów hydrazydowych oraz badanie ich właściwości” poświęcony jest kolejnemu celowi badawczemu. Ostatni i zarazem kluczowy etap części syntetycznej dotyczył syntezy związków docelowych tj. hydrazonów hydrazydowych. Mając na uwadze możliwości aplikacyjne luminescencyjnych hydrazonów hydrazydowych Doktorantka tak zaplanowała struktury poszczególnych reagentów aby w końcowym etapie otrzymać związki o jak najlepszych właściwościach. Wykorzystując wcześniej zsyntezowane pochodne kwasu salicylowego oraz wybrane karbohydrazydy, pochodne kwasu salicylowego (hydrazyd kwasu salicylowego i hydrazyd kwasu 5-etoksylsalicylowego otrzymane w wyniku hydrazonolizy odpowiednich estrów oraz komercyjnie dostępny hydrazyd 3-hydroksy-2-naftoesowy) Doktorantka otrzymała finalne związki (**34a-u**). Dodatkowo mgr Marciniak w badaniach wykorzystwała komercyjnie dostępny aldehyd 2-hydroksy-1-naftoesowy oraz 4-(dietyloamino)salicylowy wzbogacając bibliotekę związków o kolejne 4 hydrazony hydrazydowe (**34-0a–32-0d**). Należy w tym miejscu zaznaczyć, że wybór pochodnych kwasu salicylowego był dokładnie przemyślany. Doktorantka tym samym po raz kolejny udowodniła, że potrafi analizować dane literaturowe i wyciągać merytoryczne wnioski.

Finalnie mgr Marciniak otrzymała 14 katalizatorów - pochodnych azirydyny (w tym 10 nieopisanych w literaturze), 15 aldehydów (w tym 9 nieopisanych w literaturze), 25 hydrazonów

hydrazydowych (w tym 22 nieopisanych w literaturze). Łącznie otrzymała 41 nowych, nieopisanych w literaturze związków organicznych. Ustalając budowę chemiczną nowo zsyntetyzowanych związków Doktorantka wykazała się biegłością w interpretacji widm NMR i wykorzystywaniu danych spektralnych w analizie strukturalnej.

Ważnym aspektem badawczym interdyscyplinarnego projektu w kontekście aplikacyjności finalnych związków była ocena ich właściwości luminescencyjnych. Z tego zadania Doktorantka wywiązała się znakomicie, udowadniając jednocześnie doskonałe przygotowanie warsztatowe. We współpracy z Katedrą Fizyki Molekularnej Politechniki Łódzkiej oraz Laboratorium Biosensorów i Elektroniki Organicznej w Bionanoparku dla dwóch wybranych hydrazonów hydrazydowych **34g** i **34h** przeprowadzono szerokie badania fotofizyczne (absorpcyjne oraz emisyjne), oceniono wydajność kwantową fluorescencji związków w roztworach, proszkach oraz w postaci cienkich warstw oraz zbadano ich morfologię. Wyniki badań potwierdziły występowanie właściwości AIE oraz ESIPT oraz silny wpływ podstawnika wokół rdzenia hydrazonowego na tautomeryzację keto-enolową i proces ESIPT. Związki **34g** i **34h** wykazywały podwójną emisję fluorescencji oraz duże wartości przesunięcia Stokesa w stanie stałym, co gwarantuje brak samoabsorpcji emitowanego promieniowania. Natomiast wprowadzenie podstawników alkoksylowych w części hydrazydowej znacząco poprawiło właściwości filmotwórcze, wpływało również na proces ESIPT w roztworze. Dopełnieniem tej części projektu było podjęcie przez Doktorantkę próby tworzenia prototypu diody OLED z wykorzystaniem hydrazonu hydrazydowego **34b**, jako emitera. Wytworzona dioda emitowała światło przy przyłożonym napięciu 15 V.

Doktorantka zwróciła także uwagę na właściwości przeciwbakteryjne i przeciwnowotworowe związków z grupy hydrazonów hydrazydowych. Przeprowadzono wstępne badania aktywności biologicznej m.in. pod kątem sprawdzenia aktywności przeciwbakteryjnej oraz przeciwnowotworowej, jak również prób ich wykorzystania w nowoczesnych technikach bioobrazowania. Badania aktywności biologicznej wykonane zostały we współpracy z Katedrą Mikrobiologii Molekularnej, Instytutu Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii Uniwersytetu Łódzkiego. Ocenie aktywności przeciwbakteryjnej wobec dwóch szczepów bakteryjnych *E. coli* i *S. aureus* poddano 3 wybrane hydrazydy hydrazonowe **34c**, **34i** oraz **34-0d**. Największy procent zahamowania wzrostu w stosunku do bakterii *E. coli* wykazywał związek **34-0d**, natomiast w przypadku *S. aureus* - hydrazon **34c**. Zbadano również wpływ wybranych hydrazonów hydrazydowych (**34-0a**, **34-0c**, **34-0d**, **34a**, **34b**, **34c**, **34i**) na żywotność komórek nowotworowych HeLa (rak szyjki macicy) oraz Ishikawa (rak endometrium) jak również prawidłowych komórek L929 (fibroblasty mysie) i HS-27 (fibroblasty ludzkie). To wyjątkowo dobrze świadczy o wiedzy Doktorantki, która doskonale rozumie potrzebę określenia selektywności działania, tak ważnego z punktu widzenia bezpieczeństwa stosowania otrzymanych związków. Wobec komórek linii HeLa najwyższą aktywność wykazywały związki **34c** ($IC_{50} = 0,05 \mu g/ml$) i **34-0d** ($IC_{50} = 0,02 \mu g/ml$), które jednocześnie nie wpływały lub wpływały w niewielkim stopniu na morfologię komórek prawidłowych. Indeks selektywności wynosił odpowiednio $SI = 416,8$ (L929) i $SI = 2$ (HS-27) dla związku **34c** oraz $SI = 166,5$ (L929) i $SI = 63$ (HS-27) dla **34-0d**. W przypadku linii komórkowej Ishikawa najlepsze wyniki względem prawidłowych mysich komórek fibroblastów uzyskano dla hydrazonu **34c**, natomiast w przypadku prawidłowych ludzkich komórek najbardziej selektywny był związek **34i**. Pozostając w głównym nurcie założeń projektu badania rozszerzono o wstępne testy pod kątem bioobrazowania. Okazało się, iż luminescencyjne hydrazony hydrazydowe, kumulując się

w komórkach, miały zdolność do emisji światła z materiału komórkowego. Tak obiecujące wyniki stanowią solidny fundament oraz dają zielone światło do poszerzonych badań w tej klasie połączeń.

W *Podsumowaniu* Doktorantka przedstawiła zrealizowane cele, a na podstawie uzyskanych wyników sformułowała konstruktywne wnioski. Należy podkreślić szeroki zakres wykonanych prac badawczych, które Doktorantka zaplanowała i zrealizowała.

Część eksperymentalna rozprawy to 35-stronicowe opracowanie, w którym Doktorantka przedstawiła szczegółowy opis procedur wykorzystanych do syntezy zaprojektowanych związków.

Literatura cytowana w przedstawionej rozprawie (206 pozycji) prezentowana jest zarówno w formie przypisów dolnych, jak również stanowi osobny rozdział, co oceniam jako dobre rozwiązanie ułatwiające analizę tekstu. Została ona właściwie dobrana i użyta w pracy, co świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki do badań prezentowanych w rozprawie.

Praca napisana została poprawnym językiem. Na pochwałę zasługuje również przejrzysta szata graficzna, choć nie udało się Doktorantce uniknąć kilku drobnych pomyłek/niejasności oraz błędów edytorskich, o których wspominam z obowiązku recenzenta:

W części literaturowej, str. 30 na schemacie 8, brak wyjaśnienia podstawników R1 i R2 w pierścieniu azirydynowym (struktury **VIIIa-c**), natomiast na schemacie 9 opisano enancjoselektywną reakcję kondensacji aldowej katalizowaną jonami cynku w obecności chiralnych ligandów. Czy rzeczywiście użycie katalizatora **Xb** zarówno o konfiguracji *S*, jak i *R* prowadzi do utworzenia produktu o tej samej konfiguracji?. Ponadto zaprezentowane struktury związków **XVIII** - schemat 11 (str.37) i **XXXI** - rysunek 11 (str.39) wymagają korekty.

W pracy pojawiło się kilka niefortunnych zwrotów, jak chociażby: „literatura pokazuje”, „literatura posiada”, „opierając się na literaturze”, „grupa fosfinowa gra główną rolę w tym aspekcie” czy też „grup przyłączonych do pierścienia fenyloвого” – pierścień benzenowy, zaś grupa fenyłowa.

Podczas lektury rozdziału opisującego badania własne nasuwa się kilka pytań, które wymagałyby krótkiego komentarza: na str. 106 Doktorantka napisała „*Ciekawy wynik otrzymałam dla liganda **19f**, gdzie w momencie zastosowania jako dodatku kwasowego TFA, wartość ee diametralnie się zmniejszyła, choć w momencie zastosowania innego dodatku kwasowego, wartość nadmiaru enancjomerycznego była wysoka.*” Rozważane są różnice pomiędzy tryflatem cynku a trietyloaminą. Moje pytanie zatem brzmi „czy próbowano wytłumaczyć taki wynik eksperymentu?” Ponadto prosiłabym o wyjaśnienie, dlaczego badania aktywności przeciwbakteryjnej zostały wykonane tylko dla 3 pochodnych, podczas gdy badania przeciwnowotworowe dla 7 pochodnych oraz jakie kryterium zastosowano przy wyborze tych konkretnych związków spośród całej otrzymanej serii.

Uwagi zawarte w recenzji nie umniejszają merytorycznej strony dysertacji, którą oceniam bardzo wysoko. Założony cel pracy został w pełni zrealizowany. Uzyskane w ramach rozprawy doktorskiej wyniki badań zostały częściowo opublikowane w czasopiśmie „*Catslysts*” (2021 r) oraz „*Symmetry*” (2020 r), kolejny manuskrypt w przygotowaniu. W swoim dorobku Doktorantka posiada również monografie pokonferencyjne (3), 23 komunikaty zaprezentowane na zjazdach

krajowych i międzynarodowych. Ponadto brała udział w realizacji projektu badawczego finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (Opus 13 UMO-2017/25/B/ST5/02851).

W mojej ocenie Pani mgr Lena Marciniak przedstawiła bardzo ambitną pracę doktorską, której realizacja wymagała wielu umiejętności. Należy zwrócić uwagę na bardzo dokładne zaplanowanie badań i ich skrupulatną realizację. Na wysoką ocenę zasługuje również biegłość w analizowaniu wyników oraz wyciąganiu wniosków. Na podkreślenie zasługuje również interdyscyplinarny charakter prezentowanej pracy, wynikający z połączenia syntezy organicznej z szerokim zakresem wykonanych badań dodatkowych. Wyniki uzyskane w ramach realizacji pracy doktorskiej mają dużą wartość naukową oraz potencjał aplikacyjności.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Leny Marciniak spełnia warunki określone w art.187 ust.1-3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668). Zakres rozważań rozprawy kwalifikuje ją do dziedziny nauk ścisłych i przyrodniczych i dyscypliny nauki chemiczne według klasyfikacji dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin artystycznych określonej w Rozporządzeniu MEiN z dnia 11 października 2022r. (Dz.U. 2022, poz. 2202). Wnoszę zatem do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki chemiczne o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoki poziom przeprowadzonych badań, aktualność tematyki badawczej oraz potencjalną wartość aplikacyjną uzyskanych wyników, zwracam się do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki chemiczne z wnioskiem o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Leny Marciniak.

Iwona Głowacka