

prof. dr hab. Monika Wujec
Katedra i Zakład Chemii Organicznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Lublin, 20.03.2022

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Joanny Szymczak pt. „Kompleksy metalowanych ftalocyjanin z podstawnikami L-mentolowymi o potencjalnym zastosowaniu w badaniach biomimetycznych” wykonanej w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Badania dotyczące związków porfiryńowych i ich analogów, w tym ftalocyjanin są prowadzone na całym świecie. Wynika to z faktu, iż są to struktury, które odgrywają ogromną rolę w życiu człowieka oraz otaczającym go świecie. Porfiryńy i ftalocyjaniny ulegają wielu typom przemian chemicznych: reakcjom polimeryzacji, agregacji, utleniania i redukcji; reakcjom koordynacji, biorą czynny udział w procesach katalizy oraz w przemianach fotochemicznych. Porfiryńy posiadają specyficzne właściwości luminescencyjne, magnetyczne i spektroskopowe, ponadto zdolność do fotoemisji i fotoprzewodnictwa, dzięki czemu są niezbędnym elementem w procesie ewolucji organizmów żywych. Do podstawowych funkcji porfiryń można zaliczyć transport i magazynowanie tlenu cząsteczkowego (mioglobina/hemoglobina), transfer elektronów (cytochromy b i c), metaboliczne utlenianie substancji organicznych (peroksydazy i cytochrom P450) oraz redukcja tlenu z utworzeniem wody (cytochrom a). Badania nad naturalnie występującymi porfiryńami doprowadziły do rozwoju syntezy sztucznych układów porfiryńowych, które znalazły zastosowanie w wielu dziedzinach nauki i przemysłu. Znajdziemy je w chemii analitycznej jako odczynniki w spektrofotometrycznym oznaczaniu metali, w chemii organicznej jako czujniki lotnych związków organicznych, w medycynie jako substancje o działaniu przeciwbakteryjnym, przeciwnowotworowym i przeciwwirusowym a także w formie metaloporfiryń jako kontrast w badaniach obrazowych. To bardzo fragmentaryczna wiedza na temat porfiryń ale ukazująca jak ważną i obiecującą grupą chemiczną jest ten rodzaj związków.

Badania wykonane w ramach pracy doktorskiej pani Joanny Szymczak wpisują się w ogólnoświatowy trend poszukiwania nowych związków o budowie porfirykowej i potencjale aplikacyjnym. Praca doktorska Pani Joanny Szymczak została przedstawiona do recenzji w formie cyklu trzech publikacji opublikowanych w latach 2021-2022, w czasopiśmie z listy filadelfijskiej o łącznym współczynniku oddziaływania $IF = 13,044$, opatrzonych 40 stronicowym komentarzem w języku polskim. Prace mają charakter opracowań wieloautorских. We wszystkich Doktorantka jest pierwszym autorem. Oświadczenia współautorów wskazują na dominującą rolę pani Joanny Szymczak w powstaniu manuskryptów.

Komentarz zawiera wstęp, część literaturowa, cel pracy, przedmiot badań i komentarz do przeprowadzonych eksperymentów, podsumowanie, piśmiennictwo, streszczenie w języku polskim i angielskim. W części literaturowej Doktorantka opisuje modyfikacje ftalocyjanin, przedstawia możliwe izomery ftalocyjanin oraz aktualny stan wiedzy na temat metod identyfikacji ftalocyjanin. Ponadto, zwraca uwagę na możliwe zastosowania porfiryroidów w medycynie i farmacji. Jest to w zupełności wystarczający, skompensowany fragment komentarza wskazujący na zasadność prowadzonych badań, jak i ich znaczenie praktyczne.

Cele realizowanej pracy badawczej opisane są w sposób wyczerpujący i klarowny. Zwrócić należy uwagę na szeroki panel badań, które zostały zaplanowane i wykonane, w większości osobiście przez Doktorantkę, jak to wynika z podziękowań zamieszczonych na wstępie komentarza.

Pierwszy etap badań własnych polegał na syntezie jedenastu 1,8,18,25-tetrakis[(1*R*,2*S*,5*R*)-5-metylo-2-(prop-2-yl)cykloheksyl-1-oksyl]ftalocyjanin z podstawnikami L-mentolowymi o zróżnicowanej symetrii. Syntezę ftalocyjanin z jonami Mg(II) w centrum pierścienia makrocyklicznego przeprowadzono metodą makrocyklizacji Linstead'a wykorzystując otrzymaną wcześniej w wyniku reakcji substytucji nukleofilowej w pierścieniu aromatycznym pochodną nitroftalonitrylu podstawioną L-mentolem. Następnie w reakcji demetalacji w obecności kwasu trifluorooctowego otrzymano związki bezmetaliczne. Ftalocyjaniny z jonami Zn(II) oraz Co(II) w centrum koordynacyjnym otrzymano w wyniku reakcji remetalacji.

W kolejnym etapie opracowano procedurę izolacji izomerów ftalocyjaniny Mg(II). Regioizomery rozdzielono metodami chromatografii kolumnowej oraz wykorzystując metodę rekrytalizacji. Do oceny symetrii powstałych związków zastosowano całą gamę technik spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego, w tym: ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC. Największe znaczenie w analizie struktury miał

region widma NMR, w którym widoczne są sygnały pochodzące od protonów pierścieni aromatycznych. Na podstawie dogłębnej analizy stwierdzono obecność trzech izomerów. Najwięcej wyizolowano izomeru C₁, nie udało się uzyskać czwartego izomeru D₂. Pomimo tego jest to niewątpliwie sukces. W literaturze przedmiotu znajdują się doniesienia o izolacji dwóch czy tylko jednego z możliwych izomerów. W celu wyjaśnienia rozkładu powstawania regioizomerów dla ftalocyjaniny magnezowej wykonano obliczenia całkowitej energii cząsteczek metodą funkcjonału gęstości DFT. Energia całkowita dla związku o symetrii D₂ jest wyższa niż dla izomerów C₁ i C₂. Jak wynika z Tabeli 3 w publikacji I, dla izomeru C₄ energia całkowita jest jeszcze wyższa. Wobec czego, idąc powyższym tokiem rozumowania to tego izomeru nie powinno udać się wyizolować. Jak można to wytłumaczyć?

Właściwości spektralne i fizykochemiczne nowo otrzymanych związków analizowano z wykorzystaniem spektrometrii UV-Vis, spektrometrii w podczerwieni oraz spektrometrii mas (ESI, MALDI). W widmach UV-Vis występowało pięć pasm absorpcji charakterystycznych dla pochodnych porfirynoidowych. W przypadku ftalocyjanin z jonami metali w centrum koordynacyjnym zaobserwowano przesunięcie pasma Q w kierunku fal dłuższych, co jest spowodowane wpływem grup mentolowych w pozycji α pierścienia makrocyklicznego. W widmach ftalocyjanin bezmetalicznych pasmo Q było widoczne jako dwa subpasma Q_x i Q_y. Dla ftalocyjanin magnezowych i cynkowych wyznaczono wydajność kwantową fluorescencji. Największe wartości wykazały ftalocyjaniny magnezowe.

Kolejnym etapem pracy była ocena wydajności kwantowej generowania tlenu singletowego. Z uwagi na znaną z literatury możliwość wykorzystania związków obdarzonych wysoką wydajnością generowania tlenu singletowego w terapii zakażeń bakteryjnych, wykonano badania aktywności przeciwbakteryjnej względem bakterii gronkowca złocistego *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, jednego z najpopularniejszych patogenów. Do badań użyto ftalocyjaniny cynkowe z uwagi na najkorzystniejszą wydajność kwantową generowania tlenu singletowego spośród otrzymanych związków. Ze względu na słabą rozpuszczalność ftalocyjanin w środowisku wodnym, badane związki zamknięto w liposomach. Oceniane pochodne wykazały wartości w zakresie log 0,55 – 2,48. Najwyższą aktywność wykazywał związek o symetrii C₂. Zasadniczo jest to umiarkowana/słaba aktywność przeciwbakteryjna jednak uzyskane wyniki są interesujące z punktu widzenia ewentualnego mechanizmu działania tego typu związków. Zaobserwowane różnice aktywności sugerują istnienie innego mechanizmu działania, nie tylko poprzez generowanie tlenu singletowego.

Dla ftalocyjanin kobaltowych określono aktywność katalityczną oraz selektywność w reakcjach utleniania cykloheksenu oraz esomeprazolu. Wykorzystując chromatografię gazową, w produktach reakcji katalitycznego utleniania cykloheksenu, zidentyfikowano cztery związki: tlenek cykloheksenu, cykloheks-2-en-1-ol, cykloheksanon oraz cykloheks-2-en-1-on. W przypadku reakcji utleniania esomeprazolu wykorzystano dwa regioizomery. Do badań wykorzystano technikę TLC. Proces kontrolowano wykorzystując spektrometrię mas. W reakcji prowadzonej z udziałem regioizomeru o symetrii C_2 , powstało siedem produktów utleniania esomeprazolu, natomiast w przypadku izomeru C_1 – cztery. W oparciu o eksperymentalnie uzyskane wartości stosunku masy do ładunku m/z, zaproponowano przewidywane produkty degradacji esomeprazolu. Jest to wskazanie możliwego zastosowania ftalocyjanin w farmacji. Pozwala na przewidywanie ewentualnych produktów utlenienia ksenobiotyku w organizmie żywym, co ma niebagatelne znaczenie w badaniach toksyczności substancji.

Dla jednej ftalocyjaniny magnezowej o symetrii C_1 wykonano rentgenowską analizę strukturalną, która w sposób jednoznaczny potwierdziła oczekiwaną strukturę.

Analizując opis przeprowadzonych badań na szczególną uwagę zasługuje bardzo staranna charakterystyka strukturalna otrzymanych związków. Doktorantka wykazała się doskonałą znajomością wszystkich technik służących do identyfikacji struktury.

Na szczególną uwagę zasługuje wszechstronność pani Joanny Szymczak. Samodzielnie wykonała badania syntetyczne, analizę strukturalną oraz badania mikrobiologiczne.

Reasumując, uważam iż praca mgr Joanny Szymczak jest przykładem dobrze zaplanowanej i bardzo dobrze wykonanej pracy badawczej. Autorka zrealizowała postawione cele, wykazując się umiejętnością dyskusji otrzymanych wyników i wyciągnięcia adekwatnych wniosków.

Praca napisana jest ładnym językiem, przejrzyste, choć czasami brakowało mi numerów związków, aby łatwiej zorientować się w tekście. Nieznaczne błędy stylistyczne znajdują się na stronach: 10, 19, 31, 43, 47 ale w mojej opinii nie są warte nawet przytaczania.

Na koniec warto jeszcze wspomnieć o dorobku naukowym pani Joanny. Doktorantka jest autorką pięciu publikacji z listy filadelfijskiej o łącznym IF = 20.151 oraz jednego artykułu w monografii pokonferencyjnej. Badania w ramach prezentowanej rozprawy doktorskiej zostały sfinansowane z grantu NCN Preludium 11, którego Doktorantka była kierownikiem. Dwukrotnie otrzymała także fundusze na badania dla młodych naukowców z macierzystej Uczelni.

Rozprawę doktorską pani Joanny Szymczak oceniam bardzo wysoko, uważam ją za niezwykle ciekawą, nowatorską, mającą potencjał aplikacyjny, spełniającą wymagania

stawiane rozprawom doktorskim. Wobec tego mam zaszczyt przedstawić Radzie Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu wnioski o nadanie mgr Joannie Szymczak stopnia doktora nauk farmaceutycznych. Z uwagi na wysoki poziom pracy, a także dorobek publikacyjny Doktorantki, pragnę rekomendować rozprawę doktorską mgr Joanny Szymczak do wyróżnienia.

Kierownik
Katedry i Zakładu Chemii Organicznej

Prof. dr hab. Monika Wujec