

prof. dr hab. Jacek Ścianowski
Katedra Chemii Organicznej, Wydział Chemii,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
87-100 Toruń, ul. Gagarina 7

Toruń, 17 listopada 2020r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Aleksandry Borzyszkowskiej-Ledwig pt. „Projektowanie i synteza biologicznie aktywnych C-arylowych pochodnych 2-pirydonu oraz ich siarkowych analogów” wykonana w oparciu o uchwałę Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z dnia 7 listopada 2022 roku.

Przesłana do recenzji rozprawa pani mgr inż. Aleksandry Borzyszkowskiej-Ledwig była realizowana w Katedrze Chemii Organicznej i Chemii Fizycznej, Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, pod kierunkiem promotora dr hab. Jacka Sośnickiego, prof. ZUT i promotora pomocniczego dr inż. Łukasza Struka. Rozprawa tematycznie wpisuje się w badania realizowane w grupie profesora Jacka Sośnickiego dotyczące syntezy i transformacji pochodnych 2-pirydonu wykorzystywanych do otrzymywania związków strukturalnie zbliżonych budową do alkaloidów o potencjalnej aktywności biologicznej. W ramach pracy doktorskiej doktorantka podjęła się syntezy pochodnych 2-pirydonu modyfikowanych grupami aryłowymi i wpływem grup arylowych na dalsze transformacje otrzymanych pochodnych. Otrzymane związki były badane pod kątem aktywności cytotoksycznej. Podjęta została próba ustalenia zależności pomiędzy budową otrzymanych pochodnych, a ich aktywnością biologiczną.

Pod względem formalnym praca ma typowy układ prezentowanych treści. Zawiera spis treści, wykaz skrótów, streszczenie pracy w wersji polskiej i angielskiej, część literaturową, na którą przypada 49 stron, badania własne, które omówione są na 62 stronach oraz 89-stronicową część doświadczalną zawierającą opisy wykonywanych reakcji i analizę metodami fizykochemicznymi otrzymanych pochodnych. Całość kończy się podsumowaniem, wnioskami zawartymi na 4 stronach i spisem cytowanej literatury obejmującym 293 pozycje. Do pracy dołączony został dorobek naukowy autorki, na który

składa się pięć publikacji z tzw. „listy Filadelfijskiej”: *Tetrahedron, J. Org. Chem., Future Med. Chem., Org. Lett., J. Mol. Sci.* i jednego zgłoszenia patentowego. Wyniki badań były prezentowane na 6 konferencjach krajowych i 8 międzynarodowych w formie 2 referatów i 12 wystąpień posterowych. Autorka była wykonawcą dwóch grantów NCN Preludium 12.

We wstępie autorka zaprezentowała uzasadnienie do podjętych badań. Omówiła wpływ wprowadzenia do struktury związków organicznych pierścieni arylowych na ich aktywność biologiczną (między innymi, przeciwnowotworową, przeciwzapalną, przeciwzakrzepową czy przeciwbakteryjną) i nakreśliła prawdopodobny sposób oddziaływania grup arylowych z receptorami w komórkach. Zaproponowała cel pracy, którym miała być synteza potencjalnie aktywnych biologicznie pochodnych 2-pirydonu i 2-pirydynotyonu. Założyła, że w pierwszym etapie przeprowadzi syntezę arylowych pochodnych 2-pirydonu, a następnie zbada ich reaktywność w reakcjach addycji z benzyłowymi reagentami magnezoorganicznymi oraz przeprowadzi reakcje otrzymanych adduktów z wybranymi czynnikami bromującymi i jodującymi. Otrzymane 2-pirydony po transformacji do pochodnych siarkowych miały zostać wykorzystane jako potencjalne związki cytotoksyczne wobec wybranych linii komórek nowotworowych.

W części literaturowej doktorantka omówiła budowę arylowych pochodnych 2-pirydonów, przedstawiła znane pochodne aromatyczne wykazujące aktywność biologiczną, włączając w to również pochodne siarkowe. Przedstawiła dwie główne metody syntezy pochodnych arylowych 2-pirydonów. Pierwsza polegająca na modyfikacjach szkieletu pirydyny lub 2-pirydynonu oparta w większości na reakcjach sprzęgania katalizowanych metalami z podziałem na pochodne podstawione w pozycjach 3 - 6. Druga oparta głównie na reakcjach dwu i trójkomponentowych wykorzystujących pochodne acykliczne. Zaprezentowała również podejście do syntezy 2-pirydynotyonów, oparte na wymianie ugrupowania karbonylowego na tiokarbonylowe, jak i reakcje wykorzystujące procesy cyklizacji z komponentów posiadających ugrupowanie tionowe. W mojej opinii to bardzo solidny przegląd literaturowy dotyczący omawianej w pracy syntezy pochodnych arylowych 2-pirydonów. W tej części pracy umieszczone zostały również podstawowe informacje dotyczące działania substancji przeciwnowotworowych z uwzględnieniem potencjalnego wpływu chemioterapeutyków na cykl komórkowy. Przedstawiony został także podział leków przeciwnowotworowych i sposoby ich działania.

Zasadnicza część badań, doktorantki dotyczyła syntezy i reakcji arylowych pochodnych 2-pirydonów. Sukcesywnie badania doprowadziły do otrzymania serii pochodnych funkcjonalizowanych grupami aryłowymi w pierścieniu 2-pirydonowym w pozycjach od 3 do 5. Modyfikacje dotyczyły również podstawników na atomie azotu pierścienia 2-pirydonowego. Otrzymano pochodne posiadające zróżnicowane grupy aryłowe w tym pochodne z grupą fenyłową i fenyłową podstawioną w pierścieniu np. podstawnikami metoksyłowymi czy fluorkowymi, jak również pierścieniami heteroaromatycznymi. Do syntezy pochodnych arylowych wykorzystane zostały alternatywne, komplementarne ścieżki reakcji, np. pochodne podstawione w pozycjach 3 i 5 zostały otrzymane w wyniku reakcji sprzęgania odpowiednich pochodnych 2-metoksypirydyny i kwasów boronowych, a następnie transformacji ugrupowania metoksyłowego do pochodnej 2-pirydonowej za pomocą chlorowodorupirydyny lub LiCl i kwasu *p*-toluenosulfonowego. Wychodząc z *N*-podstawionych pochodnych 2-pirydonów w reakcji sprzęgania otrzymane zostały odpowiednie *N*-podstawione aryłowe pochodne. 4-Arylo-2-pirydony otrzymano prowadząc reakcję syntezy z układów acyklicznych. Dalsze modyfikacje dotyczyły wprowadzenia podstawników benzyłowych, metylowych i fenyłowych na atomie azotu. Wszystkie reakcje otrzymane zostały z dobrymi i bardzo dobrymi wydajnościami. Kolejny etap badań polegał na wykorzystaniu C-arylowych pochodnych 2-pirydonów w reakcjach addycji benzyłowych magnezianów, w tym modyfikowanych również w grupie benzyłowej, otrzymywanych z odpowiednich związków Grignarda z *sec*- lub *n*-butylolitem. Prowadząc reakcje z *N*-podstawionymi grupami alkilowymi i aryłowymi 2-pirydonami otrzymywano produkty podstawione głównie w pozycji 6. W niektórych przypadkach powstawał również produkt z podstawnikiem benzyłowym w pozycji 4. Natomiast aryłowe NH 2-pirydony, wstępnie transformowano do NLi pochodnych w reakcji z MeLi, a reakcja z magnezianami prowadziła selektywnie do produktów podstawionych w pozycji 4. Reakcje przebiegały z bardzo dobrymi wydajnościami sięgającymi w niektórych wypadkach ponad 90%. Finalnie postanowiono otrzymane pochodne benzyłowe na drodze reakcji z NBS wykorzystać do syntezy układów alkaloidowych zawierających w strukturze układ benzomorfanu występujący np. w strukturze morfiny. Jednakże zaobserwowano, iż działając na 4-fenylo-6-benzyłopochodne 2-pirydonu głównym produktem były bromolaktamy i tylko w niewielkim stopniu tworzyły się odpowiednie benzomorfany. Podobny wynik zaobserwowano dla reakcji z bromem, gdzie po optymalizacji warunków reakcji jako jedyny produkt powstawał bromolaktam. Struktury produktów potwierdzono analizą widm NMR.

Podobnie interesujący wpływ podstawników aromatycznych zaobserwowano dla pochodnych podstawionych w pozycji 5. Zaobserwowano tworzenie 6-hydroksylaktamów i związków o szkielecie indeno[1,2-b]pirydyny. W trakcie reakcji zaobserwowano ciekawą migrację grupy benzylowej (przegrupowanie aza-pinakolinowe). Zoptymalizowano warunki reakcji prowadzące do pochodnych ze szkieletem indeno[1,2-b]pirydyny w warunkach reakcji one-pot. Otrzymano 8 pochodnych z tym elementem strukturalnym, które z powodzeniem przekształcono do odpowiednich α,β -nienasyconych laktamów. Podjęto również badania nad wykorzystaniem NJS. W tej reakcji dla pochodnych 2-pirydonu z podstawnikiem arylowym w pozycji 4 zaobserwowano tworzenie się nieoczekiwanych produktów 3-jodo-2-pirydonów, w których następowała migracja grupy benzylowej z pozycji C6 do C5. Otrzymane produkty okazały się być użytecznymi substratami w reakcjach sprzęgania Suzuki i Sonogashiry. Podjęto również próbę wykorzystania pochodnych benzylowych z podstawnikiem arylowym w pozycji 4 w tak zwanej reakcji benzynowej. Z powodzeniem otrzymano jeden produkt zawierający element strukturalny występujący w alkaloidzie Haouaminie startując z pochodnej zawierającej w pozycji 4 pierścień furanowy. W innych przypadkach izolowano niewielkie ilości wielopierścieniowych układów aromatycznych.

Bardzo ciekawy fragment pracy doktorskiej stanowiło poszukiwanie aktywnych przeciwnowotworowo siarkowych analogów 5-arylo-4-benzylo-3,4-dihdropirydyn-2-onu. Na podstawie kolejnych syntez i modyfikacji strukturalnych (21 nowych pochodnych) popartych badaniami aktywności przeciwnowotworowej oraz przewidywaniami teoretycznymi współczynnika podziału logP udało się otrzymać pochodną zawierającą w strukturze pierścień tiofenowy. Związek wykazywał wysoką aktywność wobec linii komórkowych A375 i SK-OV3. Zaproponowano wstępny mechanizm działania przeciwnowotworowego dla otrzymanej pochodnej.

W mojej opinii przeprowadzone badania świadczą o bardzo dobrych umiejętnościach syntetycznych i analitycznych doktorantki. Na podstawie zaprezentowanych wyników stwierdzam, że w pełni zrealizowane zostały założone cele rozprawy. Szczególnie istotne elementy jakie rozprawa wnosi do wiedzy to:

- opracowanie dogodnych metod syntezy NH i NR 2-pirydonów podstawionych grupami aryłowymi,

- wykazanie, że grupy aryłowe podstawione w pierścieniu 2-pirydonowym mogą istotnie wpływać na przebieg transformacji chemicznych np. obserwowano nieoczekiwaną migrację grupy benzyłowej,
- wyselekcjonowanie na podstawie systematycznych badań pochodnej aryłowej 2-pirydynotyonu o wysokiej aktywności cytotoksycznej wobec wybranych linii komórek nowotworowych.

Oceniając formalną stronę pracy stwierdzam, że praca napisana jest poprawnym językiem, a cele i wnioski są wyraźnie sformułowane. Na podkreślenie zasługuje duży zakres prowadzonych badań obejmujący zarówno badania podstawowe jak i aplikacyjne. Opisy eksperymentalne są wystarczająco szczegółowe, a do opisów dołączone są analizy widm ^1H , ^{13}C NMR, GC-MS i HRMS. Na uwagę zasługuje również dyskusja widm NMR prowadzona w tekście głównym pracy potwierdzająca budowę otrzymywanych pochodnych.

Nie udało się uniknąć drobnych błędów w trakcie pisania pracy, które jednakże nie wpływają na bardzo wysoką ocenę zaprezentowanych badań. Na przykład na str. 25 Rysunek 17 prezentuje przykłady leków posiadających szkielet 5-aryłopirydyn-2-onu, a związek **35** tam prezentowany ma w pozycji 5 grupę metylową. Na str. 36 Schemat 15 jest podana błędna numeracja związków - zamiast numerów **95** i **96** powinny być **92** i **93**. Na str. 46 Schemat 43 w związku **142** zamiast grupy fenyłowej powinna być grupa aryłowa. Na str. 47 Schemat 46 R^2 nie może być H. Na str. 48 w opisie Schematu 51 z podanych trzech produktów może powstać tylko jedna pochodna, a nie seria 4-aryłopodstawionych pochodnych 2-pirydonu z różnymi wydajnościami. Na stronie 51 na Schemacie 57 brak jest warunków reakcji nad strzałką. Brak jest numeracji związków w tekście i na schematach (**189**, **192**, **193**). Związki o numerach **194**, **196**, **197**, **198** nie są omawiane w tekście pracy, a na Schematach 62-64 numery **195** i **196** podpisane są podwójnie pod różnymi związkami. Na Schemacie BW-11 napis 5-bromo-2-metoksypirydyna powinien zostać usunięty, ponieważ pochodna P-1k* nie może powstać z tego substratu. Na Schemacie BW-14 w związku P-2f brak jest grup metoksy, co sugeruje ogólny schemat reakcji. Tytuł rozdziału 6.2.5. jest nieprecyzyjny ponieważ w tym rozdziale omawiane jest również benzyłowanie 3-bromo i 3,5-dibromo-2-pirydonów. Na Schematach BW-29 – BW-33 w tytułach pojawia się wszędzie N-arylowanie, a powstaje pochodna tylko z grupą fenyłową - na Schemacie BW-29 bez wydajności, a na Schemacie BW-31 z wydajnością 58-71%. Podobnie w ramach prowadzonych badań, Schemat BW-34, otrzymano pochodne tylko z grupą fenyłową.

Na Schemacie BW-35 związek P-5j powinien być pochodną N-benzylową. W części doświadczalnej dla znanych związków podane zostały odnośniki literaturowe. Szkoda, że nie zostały zacytowane dla porównania literaturowe dane dotyczące np. wydajności i temperatury topnienia.

Podsumowując uzyskane rezultaty chciałbym jeszcze raz podkreślić bardzo duże umiejętności doktorantki w zakresie syntezy organicznej, analizy struktur otrzymywanych produktów, szeroki zakres prowadzonych badań i ich aplikacyjny charakter. W mojej opinii przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Stwierdzam, że recenzowana praca doktorska Pani mgr inż. Aleksandry Borzyszkowskiej-Ledwig spełnia w pełni wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z ustawą z dnia 14.03.2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z dnia 21.06.2016r., poz. 882). W związku powyższym, wnoszę o dopuszczenie Pani mgr inż. Aleksandry Borzyszkowskiej-Ledwig do dalszych etapów postępowania o nadanie jej stopnia doktora w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria chemiczna. Jednocześnie z uwagi na inowacyjność prowadzonych badań i potencjalne ich znaczenie w leczeniu chorób nowotworowych wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej.

Jacek Ścianowski