

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

Toruń, 30 grudnia 2024r.

### Recenzja

**rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Zofii Myk pt. „*3,3-Dihydropirydyn-2(1H)-ony i ich siarkowe analogi jako prekursorzy związków policyklicznych o potencjalnej aktywności biologicznej*” wykonana w oparciu o uchwałę Rady Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z dnia 15 października 2024 roku.**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pani mgr inż. Zofii Myk była realizowana w Katedrze Chemii Organicznej i Chemii Fizycznej Wydziału Technologii i Inżynierii Chemicznej, Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Jacka Sośnickiego. Rozprawa tematycznie wpisuje się we wcześniejsze badania realizowane w grupie Profesora dotyczące wykorzystania związków magnezoorganicznych i magnezianów w syntezie pochodnych 2-pirydonu(tionu) wykorzystywanych do otrzymywania pochodnych policyklicznych, zbliżonych budową do struktury alkaloidów o potencjalnej aktywności biologicznej. W ramach pracy doktorskiej Doktorantka podjęła się systematycznych badań addycji związków lito- i magnezoorganicznych do 2-pirydonów umożliwiających regioselektywną syntezę zróżnicowanych strukturalnie pochodnych 3,4-dihydropirydyn-2-onów, a następnie wykorzystania ich w syntezie pochodnych policyklicznych o znaczeniu farmakologicznym.

Dysertacja ma układ prezentowanych treści typowy dla prac doktorskich z zakresu chemii. Zawiera spis treści, streszczenia pracy w wersji polskiej i angielskiej, wykaz skrótów, pięciostronicowy wstęp, część literaturową opisaną na 74 stronach, badania własne, które omówione są na 102 stronach, zakończone czterostronicowym podsumowaniem i wnioskami oraz 89-stronicową część doświadczalną zawierającą opisy wykonywanych reakcji i analizę

fizykochemiczną otrzymanych pochodnych. Całość kończy się spisem cytowanej literatury obejmującym 320 pozycji. W pracy zamieszczony został również spis związków otrzymanych w ramach badań własnych. Do pracy dołączony został dorobek naukowy autorki, na który składają się trzy publikacje opublikowane w latach 2019-2024 z tzw. „listy Filadelfijskiej”: *J. Org. Chem.* (IF = 4.335, 140 pkt. MNiSW), *Org. Chem. Front.* (IF = 5.190, 140 pkt. MNiSW) *Molecules* (IF = 4.200, 140 pkt. MNiSW). Wyniki badań były prezentowane na 6 konferencjach krajowych i 2 międzynarodowych w formie 2 komunikatów i 6 wystąpień posterowych.

We wstępie Doktorantka opisała przykłady pochodnych zawierających w swojej strukturze fragment 3,4-dihydropirydyn-2(1*H*)-onu. Zaprezentowała np. związki o znaczeniu neurotroficznym, inhibującym syntazę tlenu azotu, obniżającym ciśnienie krwi, posiadającym właściwości antyproliferacyjne, przeciwpasożytnicze czy antytrombotyczne. Następnie schematycznie przedstawiła możliwości aplikacji 3,4-dihydropirydynonu do syntezy złożonych układów policyklicznych. Nakreśliła też ogólny cel badań, którym miała być synteza funkcjonalizowanych pochodnych 3,4-dihydropirydynonu i wykorzystanie otrzymanych związków w syntezie układów policyklicznych wykazujących aktywność biologiczną.

W części literaturowej Doktorantka podjęła się omówienia dwóch zagadnień. Po pierwsze skupiła się na zaprezentowaniu głównych metod syntezy 3,4-dihydropirydyn-2(1*H*)-onów, a po drugie omówiła syntezy układów policyklicznych wykorzystujące wiązanie podwójne 3,4-dihydropirydynonu. W pierwszej części zaprezentowała metody syntetyczne z podziałem na syntezy 3,4-dihydropirydynonów wykorzystujące reakcje wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji np. w wyniku reakcji Michaela, [3,3]-sigmatropowego przegrupowania, katalizy kwasami czy reakcji z MeLi. Ważny fragment tej części stanowiły także reakcje multikomponentowe, reakcje enancjoselektywne z udziałem *N*-heterocyklicznych karbenów i wykorzystujące do syntezy metale przejściowe takie jak sole i kompleksy rodowe, kobaltowe, żelazowe, rutenowe, tytanowe, cynkowe i miedziowe. Zaprezentowane zostały również bardzo ważne metody opierające się np. na reakcji addycji pochodnych magnezolitoorganicznych do *N*-podstawionych pirydyn-2-onów, metody fotochemiczne i inne wykorzystujące do syntezy związki azaheterocykliczne. Część drugą Doktorantka rozpoczęła od zaprezentowania na przykładach typowej reaktywności 3,4-dihydropirydynonów. Następnie przeszła do systematycznego przeglądu metod prowadzących do układów policyklicznych zawierających w swojej strukturze układ 3,4-

dihydropirydynonu. Omówiła reakcje addycji, reakcje multikomponentowe, reakcje wolnorodnikowe, wewnątrzcząsteczkowej fotocykloaddycji, reakcje jonowe i reakcje indukowane związkami metali przejściowych np. katalizowane solami palladu.

W mojej opinii jest to bardzo dobrze napisany przegląd literaturowy dotyczący zagadnień omawianych w pracy doktorskiej. Obejmuje 192 pozycje literaturowe co świadczy o szerokim zakresie zaprezentowanych treści. Napisany jest bardzo ciekawie i systematyzuje wiedzę z zakresu badań dotyczących syntezy i reaktywności 3,4-dihydropirydynonów.

Omówienie badań własnych Doktorantka rozpoczęła od zaprezentowania koncepcji i celu prowadzonych badań. Jako główne założenie przyjęła opracowanie regioselektywnej i wydajnej metody syntezy pochodnych 3,4-dihydropirydyn-2(1H)-onu z wykorzystaniem funkcjonalizowanych 2-pirydonów jako substratów oraz zbadanie możliwości wykorzystania otrzymanych produktów w reakcjach cyklizacji. Odpowiednie modyfikacje w zakresie syntezy pochodnych 3,4-dihydropirydynonu miały dotyczyć: a) użytych reagentów lito(magnezoorganicznych), b) warunków reakcji, c) syntezy analogów siarkowych, d) dodatkowego alkilowania w pozycję 3, d) wprowadzenia podstawników z grupami heterocyklicznymi, e) syntezę pochodnych zawierających w strukturze fragment indolizyny. Reakcje cyklizacji miały obejmować syntezy pochodnych azabicyklo[4.1.0]heptanu, 7,8-benzomorfanu i analogów alkaloidów indolowych.

Zasadniczą część badań Doktorantki rozpoczęła od syntezy substratów wychodząc odpowiednio z pochodnych 2-pirydonu i 2-metoksypirydyny. Modyfikacje dotyczyły podstawników na atomie azotu i w pozycji 5. Odpowiednie siarkowe pochodne otrzymała stosując odczynnik Lawesson. Kolejny etap badań obejmował syntezy 3,4-dihydropirydynonów na drodze reakcji nukleofilowej addycji do pochodnych 2-pirydonów. Badania dotyczyły warunków prowadzenia reakcji, wykorzystania pochodnych litoorganicznych i litomagnezoorganicznych. Bardzo ciekawy fragment stanowiły badania dotyczące wykorzystania pochodnych litoorganicznych zawierających grupy benzhydrilową, tritylową czy fluorenylową. Wykazano możliwość syntezy szerokiej gamy pochodnych z podstawnikiem benzhydrilowym i jego wpływu na zwiększoną regioselektywność w syntezie pochodnych 3,4-dihydropirydyn-2-onu. Udowodniono wpływ struktury użytego reagenta litomagnezoorganicznego na regioselektywność reakcji addycji. Najlepszym wyselekcjonowanym kompleksem był dibenzhydriplometylomagnezian litu. Zaobserwowano bardzo interesujący wpływ temperatury na regioselektywność reakcji addycji np.

w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  skład produktów addycji wynosił 73:27 (3,4-dihydropirydynonu : 3,6-dihydropirydonu), natomiast w temperaturze  $-60^{\circ}\text{C}$  był 38:62. Określono wpływ rozpuszczalnika i stężenia substratów na wydajność reakcji. Wykazano użyteczność opracowanej metody na szerokiej gamie substratów podstawionych na atomie azotu i w pozycji C-5. W dalszych badaniach opracowano także addycję ugrupowania benzhydrylowego w pozycję 4 z jednoczesnym wprowadzeniem grupy alkilowej w pozycję 3. Przeprowadzono również próby z analogami siarkowymi. Addycja do 2-tiopirydonów przebiegała z gorszymi wydajnościami. Opracowana metodologia została wykorzystana np. do syntezy pochodnych 2-pirydonów i 2-tiopirydynonów podstawionych grupami heterocyklicznymi np. indolową, 2-metylobenzimidazolową, 3,5-dimetyloizoksazolową, 2-metylotiazolową i innymi. W kolejnym kroku Doktorantka opracowała warunki syntezy 3,4-dihydropirydynonów zawierających w strukturze układ benzoindolizyny, jednakże produkt powstawał z niską wydajnością.

W dalszych badaniach Doktorantka skoncentrowała się na syntezie układów policyklicznych. Badania rozpoczęła od syntezy pochodnych azabicyklo[4.1.0]heptanu. Produkty powstawały w typowej reakcji addycji dichlorokarbenu do pochodnych 3,4-dihydropirydynonów. Przeprowadziła optymalizację warunków reakcji w dużej skali, między innymi zbadała wpływ ultradźwięków na wydajność reakcji. Otrzymane produkty transformowała pod wpływem odczynnika Lawessona w odpowiednie pochodne siarkowe. Redukcja otrzymanych tioamidów  $\text{NaBH}_4$  wobec  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  doprowadziła do usunięcia ugrupowania  $\text{S}=\text{O}$ . Nie powiodły się próby syntezy układów cyklopropanowych bez atomów chloru.

W kolejnym etapie badań Doktorantka podjęła się wykorzystania 3,4-dihydropirydynonów podstawionych w pozycji 4 grupą benzylową i benzhydrylową do syntezy pochodnych 7,8-benzomorfanu. Po przeprowadzeniu szeregu optymalizacji dotyczących zastosowanych reagentów kwasowych, temperatury, czasu prowadzenia reakcji z sukcesem otrzymała założone produkty. Bardzo ciekawą reakcję zaobserwowała dla substratu zawierającego w pozycji 3 podstawnik benzylowy zawierający grupy alkoksylowe. Otrzymała odpowiednie pochodne, w których reakcji uległa grupa podstawiona z pozycji 3, a nie grupa benzylowa czy benzhydrylowa z pozycji 4.

Ostatnim etapem badań syntetycznych była synteza analogów uleiny. Po szeregu optymalizacjach warunków reakcji startując z 4-indolilometylo-3,4-dihydropirydynonu wobec

TIPSOTf w acetonitrylu, po 75 minutach odpowiednia pochodna została otrzymana z wydajnością 92%.

Dodatkowo w ramach współpracy z naukowcami z Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego przebadana została aktywność przeciwnowotworowa wybranych trzech serii pochodnych otrzymywanych w pracy doktorskiej. Badania prowadzone były na linii komórkowej ludzkiego czerniaka A-375 testem WST-1. Przedyskutowana została zależność pomiędzy aktywnością a strukturą badanych pochodnych. Na podstawie przeprowadzonych badań udało się wybrać związek o największej aktywności. Była to pochodna 2-pirydonu zawierająca podstawnik tiofenowy w pozycji 5 a na atomie azotu podstawnik benzyłowy zawierający trzy grupy metoksyłowe w pozycji 3, 4 i 5. Wyznaczone  $IC_{50} = 1,85 \pm 0,44 \mu M$ , a indeks selektywności  $SI = 65,08$ .

W mojej opinii przeprowadzone przez Doktorantkę badania świadczą o bardzo dobrych umiejętnościach syntetycznych i analitycznych. Założone cele zostały w pełni zrealizowane. Szczególnie ważne osiągnięcia jakie rozprawa wnosi do wiedzy to:

- opracowanie syntezy podstawionych 2-pirydonów i ich dalsze transformacje do strukturalnie zróżnicowanych pochodnych 3,4-dihydropirydynonów, a w szczególności zawierających ugrupowanie benzhydryłowe,
- wykazanie, że otrzymane związki mogą być z powodzeniem transformowane w układy policykliczne takie jak pochodne azabicyklo[4.1.0]heptanu, 7,8-benzomorfanu i uleiny,
- wyselekcjonowanie na podstawie badań przesiewowych pochodnej 2-pirydonu z fragmentem tiofenowym o wysokiej aktywności cytotoksycznej wobec linii komórkowej ludzkiego czerniaka A-375 i o niskiej toksyczności względem komórek zdrowych.

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 dotyczący zarówno optymalizacji warunków reakcji jak i syntezy bardzo dużej ilości strukturalnie zróżnicowanych pochodnych. Opisy eksperymentalne są wystarczająco szczegółowe, a do opisów dołączone są analizy widm  $^1H$ ,  $^{13}C$  NMR, GC-MS i HRMS. Na podkreślenie zasługuje dyskusja widm NMR prowadzona w tekście głównym pracy potwierdzająca budowę otrzymywanych skomplikowanych pochodnych policyklicznych.

Nie udało się uniknąć drobnych błędów edytorskich i literówek w trakcie pisania pracy, które jednakże nie wpływają na bardzo wysoką ocenę zaprezentowanych badań. Ponadto na stronie 27, błędnie narysowana jest struktura nr 28, na stronie 104 w tekście rys. 2 powinien

mieć nr 5. Na Schemacie 153 grupa benzhydrylowa ma różne formy zapisu. Na stronie 293 i 294 błędnie są napisane nazwy związków: podstawniki powinny być wymieniane w kolejności alfabetycznej i brak jest numeracji dla obu grup metylowych. Na stronie 295 wydajność powinna być podana w gramach. Dla nowych związków powinna być podana analiza elementarna lub HRMS czego zabrakło np. dla związków na str. 295. Niejasna jest forma zapisu odnośnika nr 10, różne są formy zapisu stron np. poz. 11 i 12 oraz dalsze. W odnośniku 39 dwa razy podany jest rok wydania.

Podsumowując rezultaty uzyskane w pracy doktorskiej Pani mgr inż. Zofii Myk chciałbym jeszcze raz podkreślić bardzo duże umiejętności Doktorantki w zakresie syntezy organicznej, analizy struktur otrzymywanych produktów i szeroki zakres prowadzonych badań. W mojej opinii przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Stwierdzam, że recenzowana praca doktorska Pani mgr inż. Zofii Myk w pełni spełnia kryteria stawiane kandydatom w Ustawie Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce [Dz. U. 2018 poz. 1668, z późn. zm.). W związku z powyższym, wnoszę do Rady Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie Pani mgr inż. Zofii Myk 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 współczesnych chorób cywilizacyjnych wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej.

*Grzegorz Świąkowski*