



WYDZIAŁ
CHEMII

Uniwersytet Łódzki

Katedra Chemii Organicznej

Łódź, dnia 3 kwietnia 2018 r.

RECENZJA ROZPRAWY ZATYTUŁOWANEJ
„Pochodne benzizoselenazol-3(2H)-onu – syntezy i reakcje”
Złożonej przez Panią magister Agatę Joannę PACUŁĘ w celu uzyskania
stopnia naukowego doktora nauk chemicznych

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w Katedrze Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu pod kierunkiem Pana dr hab. Jacka Ścianowskiego, prof. nadzw. UMK, którego zainteresowania naukowe koncentrują się wokół chemii pochodnych selenoorganicznych oraz syntezy asymetrycznej.

Tematycznie rozprawa doktorska związana jest z dziedziną chemii organicznej połączeń selenu i doskonale wpisuje się tematykę badawczą zespołu Pana prof. Jacka Ścianowskiego.

Rozprawa doktorska Pani mgr Agaty J. Pacuły została przygotowana w formie 42-stronicowego autoreferatu zawierającego wprowadzenie w podjętą tematykę badawczą wraz z merytorycznym uzasadnieniem dla przeprowadzonych badań oraz krótki opis przeprowadzonych prac eksperymentalnych w raz z odnośnikami do konkretnych prac oryginalnych. Rozprawa zawiera kopie opublikowanych prac, informacje uzupełniające (ogólną charakterystykę dorobku naukowego pani mgr A. J. Pacuły) oraz oświadczenia współautorów.

Przedstawiona do oceny rozprawa przygotowana została w sposób staranny, dobrze uwypukla osiągnięcia doktorantki, natomiast załączone publikacje precyzyjnie dokumentują uzyskane wyniki z uwzględnieniem opracowanych metod syntetycznych, otrzymanych nowych połączeń selenoorganicznych oraz

ich właściwości biologicznych. Załączone oświadczenia współautorów jednoznacznie określają ich udział we wspólnych pracach i nie pozostawiają wątpliwości, iż autorami idei przedstawionych badań byli Promotor oraz Doktorantka.

Na początku rozprawy (strona 5) Autorka jasno definiuje cele swojej pracy. W zakresie chemii organicznej celem było opracowanie nowej wydajnej metody otrzymywania *N*-funkcjonalizowanych benzizoselenazol-3(2*H*)-onów (pochodnych ebselenu) oraz ich diselenidowych (zawierających fragment Se-Se) pochodnych. Poprzez *N*-funkcjonalizację Doktorantka rozumie: 1) *N*-fenylo pochodne zawierające podstawniki elektronoakceptorowe i elektronodonorowe w pierścieniu fenyłowym, 2) *N*-alkilo i rozbudowane *N*-arylo pochodne oraz 3) chiralne *N*-terpenylo pochodne. Kolejnym celem badawczym podjętym przez Doktorantkę były badania aktywności biologicznej tj. właściwości antyoksydacyjnych i cytotoksycznych otrzymanych cząsteczek. Biorąc pod uwagę rosnące zainteresowanie chemią i biologią ebselenu, cele badawcze postawione przez Doktorantkę uznać należy za bardzo aktualne i interdyscyplinarne.

W czterostronicowym wstępie Autorka podsumowuje aktualny stan wiedzy z zakresu chemii organicznej (z naciskiem na metody otrzymywania) ebselenu oraz jego zastosowań biologicznych, jako funkcjonalnych analogów peroksydazy glutationowej (GPx). Wstęp napisany jest przejrzysto a cytowane w nim prace oryginalne zostały wybrane bardzo starannie i są to w większości pozycje bardzo aktualne tj. opublikowane w ciągu ostatnich kilku lat. Widać, więc wyraźnie, iż Doktorantka dobrze zna swoją tematykę badawczą i porusza się w niej swobodnie.

W następnym rozdziale Doktorantka przedstawia publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej. Rozdział rozpoczyna omówienie dwóch artykułów przeglądowych w *Current Chemical Biology*, 9 (2015) 97-112 i *Current Green Chemistry* 3 (2016) 36-50 w których Doktorantka jest pierwszą autorką. Zasadniczo obydwie artykuły można uznać za doskonały wstęp do konkretnych

badan eksperymentalnych opisanych przez Doktorantkę w kolejnych (oryginalnych) pracach to jest w: RSC Advances 4 (2014) 48959-48962, Bioorganic and Medicinal Chemistry 25 (2017) 126-131, Molecules 22 (2017) 492-506 i Arkivoc (2018) 144-155. Lektura opisu najważniejszych wyników badan eksperymentalnych oraz samych wyżej wymienionych publikacji pozwalają stwierdzić, iż postawione przez Doktorantkę cele zostały osiągnięte. Opracowała ona wydajną metodę syntezy ebselenu oraz jego *N*-funkcjonalizowanych pochodnych. Metoda ta wykorzystuje reakcje *N*-funkcjonalizowanych grupami alkilowymi i aryłowymi *orto*-jodobenzamidów z diselenkiem dilitu. Doktorantka opracowała też nowatorską metodę otrzymywania *in situ* diselenku dilitu, oksydacyjnego tworzenia wiązania Se-N z wykorzystaniem jodanu potasu oraz zoptymalizowała warunki przekształcania benzoselenazolonów w diselenidy z wykorzystaniem borowodorku sodu jako reduktora i tlenu z powietrza jako utleniacza. Na szczególną uwagę zasługuje w mojej opinii opracowanie przez Doktorantkę jednoetapowej metody otrzymywania difenyldiselenidów z funkcją amidową. Metoda ta wykorzystuje reakcje *N*-podstawionych *orto*-jodobenzamidów z diselenkiem dilitu w zawierającym 5% wody DMF-ie jako rozpuszczalniku. W rezultacie prac syntetycznych Doktorantka otrzymała 38 nowych typów molekuł w tym 25 pochodnych benzoselenazonu i 13 diselenidów z ugrupowaniem amidowym. Jest to bardzo dobry wynik. Analiza danych eksperymentalnych oraz widm załączonych do publikacji pozwala stwierdzić, że Doktorantka jest osobą biegłą w interpretacji danych spektroskopowych w tym widm ^1H , ^{13}C i ^{77}Se NMR i wykorzystaniu informacji z nich płynących do ustalania budowy złożonych cząsteczek organicznych.

Badania aktywności cytotoksycznej otrzymanych cząsteczek prowadziła Doktorantka we współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Łodzi oraz Uniwersytetem Medycznym w Gdańsku. Pozwoliły one na zidentyfikowanie kilku aktywnych pochodnych. Do najaktywniejszych cytotoksycznie połączeń zaliczyć można L-leucynową pochodną **35** oraz diselenidy **38**, **43** których

wartości IC_{50} były niższe niż wartość IC_{50} referencyjnego leku *cis*-Pt. Badania aktywności antyoksydacyjnej były prowadzone osobiście przez Doktorantkę. Wykorzystywała ona metodę Iwaoki (Eur. J. Org. Chem. (2010) 440) która bazuje na monitorowaniu za pomocą spektroskopii NMR konwersji DTT(red) do DTT(ox). Wykorzystanie przez Doktorantkę tej relatywnie nowej metody w swoich badaniach oceniam bardzo wysoko.

Z obowiązku Recenzenta muszę zwrócić uwagę na kilka błędów i niedociągnięć, które znalazłem w rozprawie. Na stronie 19 Doktorantka pisząc o teście Iwaoki zaznacza, iż ubytek substratu z mieszaniny reakcyjnej wyznaczany był na podstawie zmian w widmie 1H NMR. Brakuje natomiast informacji których konkretnie protonów sygnały były monitorowane. Badania aktywności cytotoksycznej wykonywane były dwoma metodami. Pierwsza z nich to test MTT polegający na mitochondrialnej transformacji żółtej soli tetrazolowej w ciemnoniebieski produkt (formazan). Metoda ta dostarcza bezpośrednich informacji o aktywności oksydacyjnej mitochondriów badanych komórek. Druga metoda opisana w pracy to test SRB który mówi o wiązaniu się sulforodaminy B z białkami badanych komórek. Część otrzymanych przez Doktorantkę cząsteczek była badana testem MTT w pewnych komórkach a część SRB w innych komórkach (np. Tabela 2 str. 22; MCF-7 (MTT), DU-145 (SRB) i PNT1A (SRB)). W tym miejscu wypada zadać pytanie czy nie warto było badać wszystkich cząsteczek w odniesieniu do wszystkich komórek za pomocą dwóch metod? Kolejna uwaga dotyczy aktywności cytotoksycznej wobec metabolicznie prawidłowych (a nie jak pisze Autorka *normalnych*) komórek prostaty PNT1A. Podanie wartości IC_{50} większej od 40 μM w mojej ocenie nie uprawnia do stwierdzenia, iż badane związki są nieaktywne. Aby takie stwierdzenie można sformułować wartość IC_{50} powinna być większa od 100 μM . Moje dalsze uwagi dotyczą pochodnych aminokwasów. Na schemacie 11 strona 25 ester metylowy leucyny ma numer 35 natomiast w zdaniu poniżej Doktorantka pisze o estrze metylowym leucyny 34 (7 linijka od dołu str. 25). Uwagę edytorską kieruje również względem schematu 12 strona 27. Na schemacie zaznaczono dwie

metody (Metoda 1 i Metoda 2) natomiast w tekście odnoszącym się do schematu 12 użyto określenia Metoda A i Metoda B (strony 27 i 28). Inna uwaga edytorska odnosi się do tabeli 5 strona 28. Nie podano w niej jednostek, w jakich mierzono wartości IC_{50} . Oczywiście czytelnik łatwo może się domyślić, iż chodzi o μM . Ostatnią częścią autoreferatu jest podsumowanie (str. 30 i 31). W rozdziale tym Doktorantka precyzyjnie przedstawia główne osiągnięcia swojej pracy wzbogacając tekst schematem oraz wzorami najaktywniejszych połączeń selenoorganicznych.

Lektura rozprawy doktorskiej Pani mgr Agaty J. Pacuły pozwala stwierdzić, iż jest ona doświadczoną eksperymentatorką zdolną do samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Jestem przekonany, że osiągnięcia w zakresie chemii organicznej opisane w rozprawie wnoszą nowy i znaczący wkład w rozwój chemii organicznych związków selenu. Należy podkreślić, iż uzyskane przez Panią magister wyniki zostały już opublikowane w doskonałych czasopismach o cyrkulacji międzynarodowej. Co więcej Doktorantka prezentowała swoje wyniki w formie 3 wykładów, 16 komunikatów i 27 posterów na krajowych i międzynarodowych kongresach i konferencjach. Dodatkowo, Pani Agata J. Pacuła odbyła 3 staże zagraniczne, jest laureatką 2 nagród zespołowych Rektora UMK oraz była Kierownikiem Grantu Młodych Naukowców WCH UMK i stypendystką projektu „Krok w przyszłość – stypendia dla doktorantów V edycja”. Jest też współautorką 1 patentu i 1 zgłoszenia patentowego. Wszystkie powyższe informacje oraz fakty z naukowego życia Doktorantki rysują postać młodej dynamicznie rozwijającej się osoby o dużym potencjale intelektualnym i wielkich możliwościach rozwoju w przyszłości.

W podsumowaniu z całym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca mgr Agaty J. Pacuły spełnia wszystkie wymagania określone w obowiązującej Ustawie o Stopniach i Tytule Naukowym odnośnie trybu uzyskania stopnia naukowego doktora. Wnoszę, zatem o jej przyjęcie i o dopuszczenie Pani mgr Agaty J. Pacuły do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu

Mikołaja Kopernika w Toruniu o wyróżnienie przedstawionej mi do recenzji rozprawy Pani mgr Agaty J. Pacuły. Wniosek mój motywuję oryginalnością i interdyscyplinarnym charakterem jej badań oraz znaczącym dorobkiem naukowym Doktorantki.

Konrad M. Kowalski

Prof. nadzw. UŁ dr hab. Konrad M. Kowalski