

Gliwice, 09.11.2019

Recenzja Pracy Doktorskiej mgr inż. Dariusza Kozakiewicza

pt. Katynon jako blok budulcowy i struktura uprzywilejowana w syntezie karbaminianów, tiosemikarbazonów, 2-(3*H*)-oksazolonów, 1,4-izochinolinodionów oraz pochodnych aminokwasów o szerokim spektrum aktywności biologicznej

Ocena formalna pracy: kandydat przedstawił pracę doktorską w formie zwartej tekstu. Na jego dorobek naukowy składa się jedna publikacja znajdująca się w wykazie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz dwa patenty. Praca powstała w Instytucie Chemii Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach pod kierunkiem Pana prof. dr hab. inż. Jarosława Polańskiego.

Ocena merytoryczna pracy: Zakres prac badawczych kandydata skupiony jest na wykorzystaniu racemicznego 2-amino-1-fenylopropan-1-onu (Katynonu, (*S*)- β -ketoamfetaminy) jako struktury wiodącej w poszukiwaniu nowych aktywnych farmakologicznie substancji organicznych. Katynon ze względu na swoją budowę posiada potencjalnie cztery miejsca dogodnie do modyfikacji: pierścień benzenowy lub jego ekwiwalent, α -atom węgla i atomy wodoru grupy aminowej. Znane stymulanty i empatogeny takie jak bufedron, mefedron czy metylon to przykłady pochodnych, w których zmodyfikowano strukturę wiodącą ketynonu. Redukcja grupy karbonylowej prowadzi do katyny, (*D*-norpseudoefedryny, (1*S*,2*S*)-2-amino-1-fenylopropan-1-olu), pochodnej występującej w wielu preparatach o działaniu hipotensyjnym, wazodylatacyjnym czy antybiotycznym.

Praca składa się zasadniczo z pięciu części: założeń i celu pracy, części literaturowej, omówienia wyników badań własnych, części eksperymentalnej i bibliografii. Część literaturową poprzedza wstęp, w którym autor konkretyzuje cel swoich badań, zmierzających do projektowania, syntezy pochodnych katynonu i oceny ich właściwości, inhibitujących działanie esterazy acetylocholinowej i butyrylocholinowej. Jako potencjalne

inhibitory esteraż acylocholinowych proponuje karbaminiany, tiosemikarbazony i inne pochodne, w których substratem jest katynon lub jego analogii. Przegląd został przygotowany wg. typu receptorów wrażliwych na działanie poszczególnych pochodnych. W tym fragmencie pracy znalazły się również pochodne fenyloetanolaminy (PEOH), która w mojej opinii jest już zbyt odległym krewnym katynonu. W rozdziale tym omówiono także zastosowanie α -aminoketonów w syntezie pochodnych układów heterocyklicznych: izochinolinonu, pirolu, pirazyny, oksazolu i 2-(3H)-oksazonu. Autor opisał także aktywność karbaminianów, tiosemikarbazonów, 2-(3H)-oksazonów i 1,4-izochinolinodionów w odniesieniu do poszczególnych bio-celów lub schorzeń. Rozdział ten jest napisany „nierówno”. Niektóre farmaceutyki są ujęte w tabelach (tabela 1, 2) chociaż i w tym wypadku tabele nie są przygotowane w ten sam sposób. W tabeli 1 autor podaje wzór związku z zaznaczeniem farmakofora, nazwę i typ działania, nie podaje jednak odniesienia do literatury. Natomiast w tabeli 2 jest przedstawiony wzór strukturalny, typ aktywności i odniesienie do literatury. Pozostałe pochodne są mniej lub bardziej dokładnie opisane w tekście rozprawy. Na czterech stronach opisano natomiast koncepcję skoniugowanych z katynonem pochodnych aminokwasowych, chociaż w rozdziale „badania własne” ten temat jest potraktowany bardzo skrótowo. Część literaturowa, ogólnie, jest napisana poprawnie chociaż wprowadzenie spisu stosowanych skrótów i krótkiego rozdziału o receptorach cholinergicznym znacznie ułatwiłoby czytanie zarówno tej części pracy. Drugi, objętościowo rozbudowany rozdział zatytułowany „Badania własne” podzielony został na mniejsze części poświęcone poszczególnym typom otrzymanych pochodnych. W treść tego rozdziału bardzo dobrze wprowadza schemat 4, który przedstawia ścieżki syntezy, które Pan Kozakiewicz zrealizował. W wyniku traktowania racemicznego katynonu lub jego pochodnych (alkilofenonów) chloromrówczanami otrzymał serię karbaminianów, które zostały poddane badaniom w celu określenia ich przydatności jako inhibitorów esteraż acylocholin. Otrzymane karbaminiany mogą być, jak to udowodnił kandydat, wykorzystane w syntezie układów heterocyklicznych na drodze prostych przemian chemicznych.

Wyjściowe analogi katynonu otrzymano w sekwencji reakcji acylowania benzenu lub naftalenu chlorkiem acylu, bromowania pozycji alfa z następczym podstawieniem atomu bromu alkiloaminą. Taki przebieg syntezy pozwala otrzymać racemiczny produkt z dobrą wydajnością całkowitą. Ostatni etap syntezy stanowi acylowanie chloromrówczanem alkilu. Stosując tą ścieżkę syntezy Pan Kozakiewicz zsyntezował 30 karbaminianów zawierających różnie podstawione pierścienie aromatyczne jak i podstawniki alkoksylowe. Dla wszystkich tych związków obliczono teoretyczne wartości logP, szkoda, że tylko wg. jednego programu, bo jak pokazuje praktyka, uzyskane wartości mogą się znacząco różnić. Badania zdolności inhibitującej w odniesieniu do acetylocholinoesterazy i butyrylocholinoesterazy wskazują, że karbaminiany o współczynniku podziału logP ok. 4 wykazują już interesującą aktywność hamującą te enzymy, jednak jeszcze zbyt słabą w porównaniu ze

stosowanymi w praktyce inhibitorami. Wyniki tego etapu badań zostały opublikowane w czasopiśmie typu Open Access.

Drugą grupą pochodnych katynonu miały być jego tiosemikarbazony. Tutaj jednak pojawiła się chemiczna niespodzianka. Zamiast oczekiwanych pochodnych, otrzymano co prawda tiosemikarbazony, jednakże analiza widm NMR sugeruje ich inną, od spodziewanej strukturę. Autor swoją analizę struktury ograniczył do widm NMR i widma MS oraz analizy porównawczej produktów otrzymanych z różnych substratów. Szkoda, że podjęta przez kandydata próba wyjaśnienia przebiegu tej reakcji nie została udokumentowana w postaci schematu. Niektóre z otrzymanych pochodnych są ciałami stałymi, można się było zatem pokusić o otrzymanie monokryształu, którego analiza roentgeno-strukturalna jednoznacznie potwierdziłaby budowę otrzymanego związku. Tiosemikarbazony te otrzymano na ogół z niską wydajnością, na 14 pochodnych tylko cztery otrzymano z wydajnością przekraczającą 50%. Nasuwa się zatem pytanie czy to były rzeczywiście produkty główne reakcji? W przypadku pozostałych planowanych syntez Pan Kozakiewicz przeprowadził badania wstępne otrzymując przykładowe pochodne. Uzupełnieniem części badania własne jest część eksperymentalna, która na ogół dokumentuje wykonane eksperymenty w sposób wystarczający. Część ta napisana jest jednak w sposób bardzo rozwlekły; pomimo przepisu ogólnego autor nie zgromadził wyników w postaci jednej tabeli, z podaniem wydajności i ewentualnie odnośnika literaturowego. Trudno jest się zorientować, które przepisy są własnymi autora, a które zaczerpnięto z literatury. Dotyczy to alkilofenonów i ich transformacji w α -aminoketony. Czytając część eksperymentalną odnosi się wrażenie, że powstawała ona w pewnych odstępach czasu. Opis widm ^1H NMR aminoketonów dotyczy widm odsprzęgniętych i jest przedstawiony od najniższych przesunięć chemicznych do najwyższych. W przypadku opisu karbaminianów kierunek jest odwrotny, a opis dotyczy widm nie odsprzęgniętych. Widma tiosemikarbazonów opisane są znów w sposób standardowy. Część eksperymentalna zawiera także opis syntezy i dane spektroskopowe pięciu pochodnych 2-(3H)-oksazolonu. Nie zawiera natomiast żadnych danych odnośnie 1,4-izochinolinodionów a także wspomnianych w rozprawie koniugatów katynonu z aminokwasami. Część eksperymentalna świadczy dobrze o dużych umiejętnościach kandydata jako eksperymentatora, umiającego zaplanować doświadczenie chemiczne, przeprowadzić je i prawidłowo zinterpretować uzyskany wynik. Lektura tych najważniejszych, w moim odczuciu części dysertacji, skłania mnie jednak do kilku uwag. Po pierwsze niektóre opisy eksperymentalne są bardzo lakoniczne, nigdzie w opisie nie znalazłem wzmianki o monitorowaniu przebiegu reakcji, co ma istotne znaczenie zwłaszcza w określeniu czasu jej terminacji. Mam tu na uwadze np. syntezę α -aminoketonów, gdzie surowy bromoketon jest poddawany reakcji z aminą. W reakcji zastosowano nadmiar aminy, 1,5 mola na 1 mol bromoketonu. Zakładając, że bromowanie zaszło w 100%, z opisu

syntezy nie wynika jasno, na którym etapie nastąpiło oddzielenie nadmiaru aminy od produktu reakcji. Zastanawia mnie również fakt, braku wyników analizy elementarnej dla związków przeznaczonych do badań biologicznych. Na jakiej podstawie uznano że ich czystość jest wystarczająca do badań biologicznych?

Z obowiązku recenzenta muszę wskazać także dość nieprecyzyjne sformułowania np. przedstawienie jako sposobu syntezy karbaminianów, reakcji niepodstawionej na atomie azotu chlorku karbamylu. Taki związek jest bardzo niestabilny, znane są jego pochodne zawierające przynajmniej jeden podstawnik na atomie azotu. Na s. 83 pojawia się stwierdzenie: „Podstawnik hydroksylowy Thr120 wydaje się być kluczowy w tworzeniu wiązania wodorowego z eterem lub tlenkiem karbonylowym (?). Przedstawiona na s. 86 i 87 synteza podstawionych tiosemikarbazonów, odnosi się w rzeczywistości do otrzymywania N-podstawionych tiosemikarbazydów. Pik w granicach 5,2 ppm pochodzi od wodoru grupy hydroksylowej, który tworzy wiązania wodorowe z wodorami azotowymi, co jest przyczyną... (s.91, ?). Na stronie 104 w ostatnim schemacie reagent nie jest oksymem, chociaż powinien nim być. Reakcja opisana na s.115 to reakcja aza-Michaela lub typu Michaela. Struktury przedstawione na stronach 116 i 117 nie są niestety karbaminianami, o których dyskutuje autor w swej rozprawie.

Przedstawione uwagi mają na celu wskazanie młodemu badaczowi pułapek, jakimi jest najeżona praca eksperymentatora, zwłaszcza na etapie dokumentacji badań i przygotowania tekstu publikacji. Pomimo wytkniętych niedociągnięć praca jest bardzo ciekawą i dającą możliwość kontynuacji badań. Za szczególnie interesujący fragment pracy uważam powstawanie semikarbazonów o strukturze sugerującej odejście fragmentu pierwotnej aminy, co stanowi element nowości naukowej. Warte wyróżnienia są opracowane syntezy karbaminianów o właściwościach inhibitorów cholinioesteraz. Przytoczone fakty pozwalają mi na sformułowanie wniosku, że recenzowana rozprawa spełnia wymagania ustawowe przewidziane dla prac doktorskich. Wnoszę do Rady Instytutu Chemii Uniwersytetu Śląskiego o dopuszczenie Pana mgr inż. Dariusza Kozakiewicza do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

