

Dr hab. Danuta Branowska

Siedlce, 15.12.2017 r.

Zakład Chemii Organicznej

Wydział Nauk Ścisłych

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach

Recenzja rozprawy doktorskiej **magistra Łukasza Czekańskiego** pt.

„Synteza oraz badania strukturalne i spektroskopowe pochodnych karboksyalkilo (benz)imidazolu oraz ich dimerów z łącznikiem polimetylenowym” przedstawiona Radzie Naukowej Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu w celu uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych

Recenzowana praca doktorska wykonana została pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Piotra Barczyńskiego i ma charakter badań podstawowych. Jej tematyka mieści się w obszarze zainteresowań Pana Profesora dotyczących betain oraz ich kompleksów, badania struktury i charakterystyki spektroskopowej, roli wiązań wodorowych i cząsteczek wody w tworzeniu agregatów molekularnych i jonowych. Dysertacja jest przygotowana w formie monografii.

Przedstawiona praca liczy 93 strony z czego 24 dotyczą: wstępu teoretycznego i celu pracy co stanowi 26%, omówienie wyników i podsumowanie to 53%, część eksperymentalna i literatura to 18%. Z przedstawionego zestawienia widać znaczący wkład Doktoranta w dyskusję nad uzyskanymi wynikami jaki został przeprowadzony przez Autora pracy. Pozostałe strony to: wykaz dorobku naukowego na który składa się publikacja z 2016 roku w czasopiśmie *New Journal of Chemistry* będąca podstawą omawianej dysertacji o współczynniku wpływu $IF=3.26$ a także dwa inne artykuły, jeden wydrukowany w 2014 w *Biomedical and Biopharmaceutical Research* i drugi wysłany do *ChemistrySelect* o której stopniu postępu Pan magister poinformuje nas podczas obrony. Dotyczy ona bowiem związków kompleksowych benzimidazolu z jonami Cu, Zn i jest istotnym fragmentem tej pracy. Ponadto do pracy został dołączony 55 stronicowy suplement zawierający spis tabel z przeprowadzonych badań krystalograficznych 16 struktur o symbolach: 2b, 2c, 3c, 5a, 5b, 6a, 6c, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16b, 16c i 17a, każdej z syntezowanych grup związków oraz ich kompleksy. W opracowaniu rozprawy wykorzystano 103 odnośniki literaturowe w większości anglojęzyczne i w przewadze z okresu po 2000 roku, z czego 85 pozycji jest wymienione w części literaturowej dysertacji.

Tytuł pracy jest odpowiedni do wiadomości merytorycznych zawartych w omawianej pracy jak i przeprowadzonych eksperymentów. Ogólnie mogę stwierdzić, że wybór obiektów badań był trafny z punktu widzenia badania syntezy pochodnych benzimidazoli. Istotą powodzenia w tak zarysowanym temacie badawczym jest dobre opracowanie metod eksperymentalnych w obszarze wymagającym solidnego warsztatu chemicznego. W mojej ocenie, biorąc pod uwagę jakość i rozmiar wykonanej pracy, magister Łukasz Czekański sprostał trudnościom postawionego sobie zadania.

Pod względem edytorskim monografia została przygotowana starannie. Zwracają uwagę schematy, rysunki i tabele, które bardzo ułatwiają lekturę opracowania naukowego.

We wstępie Doktorant opisuje pochodne imidazolu przechodząc bardzo płynnie do benzimidazoli z uwzględnieniem ich właściwości chemicznych, reaktywności i właściwości aplikacyjnych w obszarze tzw. zielonej chemii jako ciecze jonowe. Na uwagę zasługuje charakterystyka związków kompleksowych z udziałem wspomnianych struktur oraz betain istotnych dla pracy układów, które były przedmiotem badań Doktoranta, oraz ich kompleksy z solami Cu i Zn. Doskonałym posunięciem Doktoranta jest wprowadzenie krótkiego aczkolwiek bardzo istotnego dla całej dysertacji rozdziału pt. „Metale w układach biologicznych”, gdzie Doktorant uprzedza pytanie recenzenta dotyczące kryterium wyboru konkretnych rodzajów soli, w tym przypadku Cu i Zn do tworzenia kompleksów zsyntezowanych przez siebie związków. Informacje tam zawarte są ukierunkowane na dalsze prace badawcze Doktoranta. Intryguje mnie tutaj jednak fakt dlaczego Doktorant nie wspomina nic na temat innych metali np. żelaza (jony Fe wykazują preferencje do wiązania-powinowactwo- do ligandów *N*-donorowych), których aktywność biologiczna jest niezmiernie istotna, a kompleksy z (benz)imidazolem są traktowane jako modelowy dla układów biologicznych zawierających odpowiednie pierścienie hemowe. Aktywność biologiczną wykazują także inne koordynacyjne połączenia benzimidazolu z takimi metalami jak np. kobalt, nikiel czy srebro, które są silnymi aktywnymi przeciwgrzybicznymi oraz przeciwbakteryjnymi związkami. Natomiast metaloorganiczne kompleksy rutenu wykazują aktywność cytotoksyczną *in vitro* i stanowią źródło potencjalnych leków w terapii nowotworowej. Niewielki fragment części literaturowej zajmuje aktywność biologiczna pochodnych (benz)imidazolu co także ma swoje uzasadnienie w części badań własnych, dla których to związków Doktorant przeprowadził testy aktywności przeciwgrzybiczej chociaż bez większego powodzenia.

Doktorant postawił sobie kilka celów do realizacji, część z nich jest silnie zaakcentowana a inne ukryte w tekście. Wśród nich wymienić należy:

- syntezę pochodnych karboksyalkilobenzimidazolu zawierających czwartorzędowy atom azotu
- syntezę kompleksów z jonami Cu(II) i Zn (II)
- syntezę benzimidazolu z łącznikiem trimetylenowym i ich funkcjonalizację do betain
- określenie rodzaju oddziaływań w kompleksach
- analiza spektroskopowa otrzymanych związków.

Dla tak określonych założeń pracy tematyka jest godna uwagi, a jej podjęcie w pełni uzasadnione.

Dla potwierdzenia tej opinii chciałam przytoczyć dane liczbowe zaczerpnięte z bazy bibliograficznej *Web of science* gdzie pod hasłem „benzimidazole” w ostatnim dziesięcioleciu opublikowano 8 777 prac z czego 1622 to artykuły multidyscyplinarne.

W rozdziale badania własne, który Doktorant nazwał „Wyniki badań” umiejętnie prezentuje materiał eksperymentalny zgromadzony w okresie wykonywania pracy doktorskiej. Materiał ten został podzielony na pięć podrozdziałów. Pierwszy dotyczy syntezy pochodnych estrowych, karboksylowych oraz betain 1-metylobenzimidazolu, opisany jest starannie, z pełną analizą spektroskopową powstałych produktów. Bardzo szczegółowa interpretacja za pomocą widm korelacyjnych, dwuwymiarowych: COSY, HSQC i HMBC umożliwiła precyzyjne dokonanie przypisania wartości przesunięć chemicznych poszczególnym atomom wodoru oraz atomom węgla. Interpretacja taka była konieczna ze względu na nierównocенność atomów wodoru i węgla w pierścieniu benzenowym pochodnych 1-metylobenzimidazolu. Moje zastrzeżenia w tym fragmencie pracy dotyczą braku informacji na temat syntezy związku 2a'. Ponadto w schemacie 1, str. 27 uważam za niefortunny podpis pod związkami: 2a gdzie (R=H), OEt a 2a' (R=H), OMe. Dopiero po przeczytaniu większej części pracy stało się jasne jaka była przyczyna takiego oznaczenia. W poprzedzającym ją celu pracy również pominięto nazwę bromooctanu metylu, który prowadziłby do otrzymania związku o symbolu 2a'. Brakuje także informacji na temat syntezy związków 2d, 3d i 4d a przede wszystkim ich danych spektroskopowych. Znalazły się tam również niefortunne sformułowania np. estrowa grupa karbonylowa lub estrowa grupa hydroksylowa, (co należy rozumieć jako: grupa karbonylowa w estrach lub w kwasach a także jako grupa hydroksylowa w kwasach) a zapisana grupa metylenowa OCH₂ (należy raczej rozumieć jako grupa metylenowa w sąsiedztwie atomu tlenu).

Ciekawe spostrzeżenia Doktorant przeprowadził dokonując analizy widm NMR w ramach klas związków 2a-c, 3a-c i 4a-c dla których wartość przesunięć chemicznych dla protonu przy atomie wodoru H(2) w pierścieniu 1-metyloimidazolu wzrasta wraz z długością

łańcucha. Największe różnice tych wartości są obserwowane dla grupy pochodnych estrowych.

Doktorant niewiele pisze o trudnościach w realizacji zamierzonych badań w tym fragmencie pracy, a także o optymalizacji prowadzonych eksperymentów. Mylące jest stwierdzenie na str. 27 iż „W trakcie optymalizacji warunków prowadzonych reakcji zauważono korelację pomiędzy czasem reakcji hydrolizy a rozgałęzieniem łańcucha bocznego”. Uważam, że proces czwartorzędowania z udziałem α -bromoestrów w bezwodnym DMF w atmosferze gazu obojętnego i następczą reakcją hydrolizy otrzymanych estrów trudno nazwać optymalizacją. Jest to szereg następujących po sobie etapów, które Autor zawarł w 2 zdaniach nie wprowadzając nas w szczegóły procesów. Zróznicowany czas reakcji hydrolizy estrów 2a-c jest jedynie wynikiem zastosowanych α -bromoestrów o różnej długości łańcucha i ich efektu sterycznego. Wartości te były zapewne określone w wyniku monitoringu za pomocą chromatografii cienkowarstwowej TLC.

Drugi podrozdział to synteza kompleksów finalnych betain z jonami Cu(II) i Zn(II) a trzeci, który moim zdaniem powinien być właśnie drugim podrozdziałem ze względu na tworzące się przejściowe związki: kwasy i estry benzimidazolu. W tym miejscu prosiłabym doktoranta o wyjaśnienie takiej chronologii opisu. Oba podrozdziały to bardzo szczegółowy i precyzyjny opis badań spektroskopowych: FT-IR, UV-Vis, EPR, NMR i analizy rentgenostrukturalnej. Dla kompleksów z miedzią przeprowadzono badania EPR i UV-Vis, natomiast brak jest analizy NMR, co ma swoje uzasadnienie związane z właściwościami paramagnetycznymi otrzymanych kompleksów Cu(II) dla których uzyskanie widm nie było łatwe, a co Autor przemilczał w swojej pracy. Na uwagę zasługuje umieszczenie wyników analizy elementarnej, szczególnie przydatne dla kompleksów z miedzią 5a, 5b, 8, 9, 10 dla których niemożliwe było potwierdzenie struktury metodami magnetycznego rezonansu jądrowego. W tej części pracy Doktorant postarał się o doskonałą interpretację danych krystalograficznych, z których najważniejsze wyniki zostały pogrupowane w postaci tabel zawierających: długości wiązań i kątów. Podał charakterystykę grup przestrzennych i rodzaje wiązań obecnych w powstałych kompleksach. Doktorant jest skrupulatnym obserwatorem, poprzez analizę widm IR związku 5a udało mu się określić typ wiązania koordynacyjnego, które jest jednokleszczowe pomiędzy jonem Cu a grupą karboksylanową. Dokonał weryfikacji swojej teorii metodami komplementarnymi w tym przypadku X-ray, która całkowicie potwierdziła wcześniejszą analizę. Analogiczne wyniki Doktorant otrzymał dla kompleksów z cynkiem. Kolejnym ważnym osiągnięciem Doktoranta było potwierdzenie struktury otrzymanych kompleksów. Widma absorpcyjne metali przejściowych w zakresie

światła widzialnego jak i nadfioletu dostarczają ważnych informacji o strukturze elektronowej atomu centralnego a także bezpośrednio o symetrii całego kompleksu oraz o strukturze ligandów. W widmie absorpcyjnym związków koordynacyjnych można wyróżnić pasma charakterystyczne dla ligandów oraz pasma pochodzące od przejść elektronowych. Pan magister Łukasz Czekański wyciągnął właśnie szereg wniosków ze spektroskopii optycznej i EPR. Kompleksy z miedzią (II) mają geometrię płaską kwadratową podczas gdy kompleksy cynku (II) występują w postaci tetraedrów. Poza tym parametry uzyskane pozwoliły określić rodzaj przejść elektronowych, które dla kompleksów z miedzią są skierowane od liganda do metalu. W tym miejscu proszę Doktoranta o wyjaśnienie następujących zastrzeżeń: dlaczego nie udało się otrzymać kompleksu 5c, dlaczego w Tabeli 7 brakuje danych liczbowych dla związku 6b, analogicznie jak to ma miejsce dla związku 5a, 5b, 6a, 6c? I powinno być przeprowadzone porównanie do analogicznych lub podobnych struktur w literaturze by w większym stopniu położyć nacisk na nowatorski charakter przeprowadzonych badań.

W przedstawionej dysertacji Doktorant niewiele pisze na temat trudności syntezy otrzymanych ponad 30 związków co świadczy o Jego doskonałym przygotowaniu i zdolnościach eksperymentatorskich. Nieznaczne kłopoty pojawiły się w podrozdziale 3.3 tworzenia kompleksów przez pochodne karboksylowe i estrowe. Krótkie wyjaśnienie teoretycznymi podstawami reakcji transestryfikacji i estryfikacji dla omawianych związków jest przykładem ugruntowanej wiedzy Doktoranta.

Podrozdział czwarty to synteza dimerów benzimidazolu. Związkiem wyjściowym tych eksperymentów był bis-benzimidazol z łącznikiem trimetylenowym. Kolejna sekwencja następujących po sobie trzech etapów prowadziła do pochodnych estrowych, karboksylowych i finalnych betain. Dla tej grupy związków Doktorant przeprowadził także pełną analizę spektroskopową ze szczegółowym opisem widm IR, przypisania wartości przesunięć chemicznych zostały wykonane w oparciu o widma dwuwymiarowe HMBC. Nieoceniona jest rola i wkład włożony Pana magistra Łukasza Czekańskiego w interpretację spektroskopową otrzymanych związków. Opisy są wyjątkowo cenne i świadczą o dużej biegłości Doktoranta w korzystaniu z różnych technik badawczych. Na uwagę zasługuje jego doskonała wiedza umożliwiająca poprawną interpretację. W części badań własnych Doktorant przedstawił charakterystyczne dane spektroskopowe z uwzględnieniem istotnych wartości dla syntezowanych struktur. Umieszczenie wybranych fragmentów widm otrzymanych związków wprowadzone w części badań własnych znacznie wzbogaciły jej część dyskusyjną. Całość interpretacji dopełnia analiza krystalograficzna z danymi współrzędnych atomowych, długością wiązań, kątami między wiązaniami i torsyjnymi oraz parametrami geometrycznymi

wiązań wodorowych. Czystość otrzymanych związków dodatkowo potwierdziła analiza elementarna.

Z opisu badań własnych jak i części eksperymentalnej synteza pochodnych benzimidazoli nie sprawiała Doktorantowi większej trudności. Wydajności związków są bardzo wysokie w zakresie 70-99%.

W części eksperymentalnej pracy zostały skrupulatnie przedstawione opisy przebiegu prowadzonych doświadczeń, każdej z grup związków. Dodatkowo wyniki spektroskopowe umieszczone zostały w tabelach w których Doktorant zestawia dane fizykochemiczne oraz charakterystyczne sygnały i pasma widm NMR ^1H i ^{13}C wszystkich otrzymanych pochodnych. Przypisanie poszczególnych sygnałów w NMR było możliwe dzięki wykorzystaniu dwuwymiarowych technik korelacyjnych a otrzymanie monokryształów do badań rentgenostrukturalnych dodatkowo potwierdza założoną strukturę zsyntetyzowanych końcowych związków.

Badania aktywności przeciwgrzybiczej (*Asperillus nigre van Tieghem*) to ostatni fragment przedstawionej mi do recenzji dysertacji. Testy *in vitro* przesiewowe wykonano w współpracy z naukowcami z ośrodków specjalistycznych (Zakład Ochrony i Konserwacji Drewna Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu). Nieznaczna aktywność biologiczna została zauważona dla związków o rozgałęzionym łańcuchu (2c, 3c i 4c), co stało się zachętą do podjęcia prób zwiększenia obiektów do badań syntezując kolejne struktury z podstawnikiem heptylowym. Wydłużenie łańcucha nie wpłynęło na wzrost aktywności fungistatycznej badanych związków.

Na koniec chciałam jeszcze zwrócić uwagę na niektóre nieścisłości pojawiające się w pracy:

- nie rozumiem dlaczego Doktorant zmienia swój sposób pisania i tak str. 3 jest „(Rys.1)” ale już na str. 16 jest zapisane w następujący sposób „mostkowych itd. (Rys.15)” a na kolejnych stronach np „. (Schemat)”, str. 27 „łańcucha bocznego. (Tabela 3)”, str. 28 itd.
- str. 17 nieprecyzyjne sformułowanie polimer dwuwymiarowy jest oddzielony przez „arkusze wodne”
- dlaczego Doktorant nie stosuje polskiego słownictwa, wielokrotnie w pracy pojawia się zwitterjon ale również zwitterion a tylko raz jon obojnaczy i zapisany w nawiasie
- analogicznie, wielokrotnie Autor stosuje sformułowania: nujol/fluorolub np. str. 29 a należałoby wpisać przecież olej, a fluorolub to przecież chlorotrifluoroetylen spolimeryzowany w postaci oleju

Uważam też iż oznaczenie wprowadzone „OCH₂” np. na Rys. 28 i analogicznych jest mylące i dubluje obecną grupę, dodatkowo na str. 31 –OCH₂ jest nazwana grupą metylenową i str. 57 – metylenowa (OCH₂CH₃)

- str. 86 co to znaczy „bardziej wypłaszczone”

- str. 90 rozdziały w wymienionych monografiach są zapisane bez numerów stron

- brak jest danych spektroskopowych związku 2a', 7, 2d, 3d i 4d.

Doktorant bardzo rzetelnie dokonał analizy wszystkich związków, ale w natłoku szczegółowych danych, specyficznych opisów nowych związków brakuje mocniej zakcentowanych dokonań. Proszę Doktoranta podczas prezentacji swoich wyników o zwrócenie uwagi na nowatorski charakter prowadzonych badań i ich innowacyjność na tle światowych doniesień.

Powyższe moje uwagi nie umniejszają wysokiej oceny poziomu merytorycznego i redakcyjnego rozprawy doktorskiej Pana magistra Łukasza Czekańskiego, stanowi ona w moim przekonaniu oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Doktoranta. Moje uwagi są często sugestiami i przemyśleniami do opisu recenzowanej pracy i przeprowadzonych badań.

Przedstawiona dysertacja w moim przekonaniu spełnia wymogi wynikające z obowiązującej ustawy o stopniach i tytule naukowym (Ustawa z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki Dz. U. Nr. 65, poz. 595 ze zm.) oraz rozporządzenie MNiSW z dnia 22 września 2011 roku (Dz. U. Nr. 204, poz. 1200). W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie Pana magistra Łukasza Czekańskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr. Bronowicki