

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej zatytułowanej:

„Pochodne tiomocznika jako syntony supramolekularne”

przedstawionej Radzie Wydziału Chemii UMCS w Lublinie
przez

mgr Aleksandrę Savchenko

Badanie organizacji cząsteczek substancji stałych metodami rentgenowskiej analizy strukturalnej jest jednym z intensywnie rozwijanych kierunków chemii supramolekularnej. Ze względu na możliwość wizualizacji efektów działania sił międzycząsteczkowych i perspektywy praktycznych zastosowań tej wiedzy w technologii czy w medycynie tzw. inżynieria kryształu cieszy się również niesłabnącym zainteresowaniem krystalografów. Istotą metody jest wykorzystanie słabych oddziaływań atom ... atom do uzyskania informacji oraz poszukiwanie nowych wzorów oddziaływań międzycząsteczkowych (tzw. syntonów), typowych dla danej grupy związków, czasem również o charakterze ogólnym. Taka informacja może być również istotna dla interpretacji własności chemicznych, fizycznych czy biologicznych danej substancji. W recenzowanej pracy doktorskiej takimi poszukiwaniami objęto obszerną grupę nowych pochodnych *N,N'*-tiomocznika. Co jest typowe dla prac prowadzonych w zespole kierowanym przez prof. Annę Kozioł, która jest promotorką tej pracy, wszystkie badane związki są analogami leków stosowanych aktualnie w medycynie, chociaż można również znaleźć dla nich inne zastosowania. Z powyższych powodów, przedstawiona do recenzji praca, wykonana przez mgr Aleksandrę Savchenko na Wydziale Chemicznym Uniwersytetu im Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie mieści się z powodzeniem w aktualnych obszarach zarówno krystalografii jak i farmakologii. Dlatego cel pracy został zdefiniowany jako ...”określenie struktury czterdziestu trzech cząsteczek nowych *N,N'*-dipodstawionych pochodnych tiomocznika, opisanie geometrii tego ugrupowania, określenie wzajemnego wpływu różnych podstawników chemicznych na stereochemię a także analiza oddziaływań międzycząsteczkowych.” Pani mgr Savchenko podzieliła badane związki, na 7 podgrup w taki sposób, aby można było możliwie niezależnie przeanalizować

wpływ podstawienia na wzory/motywy rozpoznania molekularnego pomiędzy cząsteczkami w fazie stałej. Jej podstawową metodą badawczą była rentgenografia strukturalna, wspomagana spektroskopią w podczerwieni (FT IR) i dla jednej grupy związków spektroskopią optyczną (UV) Wstęp pracy zawiera kilka podrozdziałów w tym związłą charakterystykę właściwości chemicznych tiomocznika, włączając problem tautomerii i konformacji *N,N'*-podstawionych pochodnych oraz analizę struktur znalezionych w Bazie danych Krystalograficznych w aspekcie zależności konformacji i sposobu asocjacji cząsteczek w kryształach. Następnie zajmuje się znanymi zastosowaniami pochodnych tiomocznika w medycynie. Ciekawym wnioskiem z tej części pracy jest, że mały, nieznan w przyrodzie ożywiający układ tiomocznika umieszczony w cząsteczce chemicznej może oddziaływać z tak różnorodnymi „targetami” biologicznymi jak układ nerwowy (jako anestetyki lub środki przeciwdrgawkowe i przeciwddepresyjne), czy hormonalny (jako leki przeciwtarczycowe), a także jako środki przeciwwirusowe, przeciwgrzybicze i ostatnio także przeciwgruźlicze, czy leki przeciwcukrzycowe nowej generacji. Autorka pracy znalazła niszę polegającą na fakcie, że pomimo ogromnego zainteresowania farmakologów, ta grupa związków była mało zbadana pod względem strukturalnym. Tym bardziej, że badania nad rozpoznaniem molekularnym w fazie stałej strukturalnie podobnych pochodnych mocznikowych weszły dawno do kanonu inżynierii krystalicznej. W rozdziale „Kierunkowe oddziaływania międzycząsteczkowe i ich rola w sieci krystalicznej” mgr Savchenko omówiła główne typy oddziaływań międzycząsteczkowych, w tym szczegółowo oddziaływania między układami π -elektronowymi i oddziaływania typu wiązania wodorowego Następnie wprowadziła pojęcie syntonu oraz teorii grafów i zastosowanie ich do opisu konstrukcji międzycząsteczkowych. Na zakończenie tej części opisała pokrótce dwie zastosowane przez nią metodologie badawcze – rentgenografię monokrystaliczną i spektroskopię w podczerwieni.

Praca ta ma silne wsparcie ze strony grupy dr hab. Marty Strugi, dr Anny Bielenicy i dr. Daniela Szulczyka, z Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, którzy dokonali syntezy i różnorodnych badań biologicznych dla wszystkich nowych *N,N'*-dipodstawionych pochodnych tiomocznikowych badanych przez Doktorantkę. Będzie to istotną wartością dodaną podczas publikowania większości tych wyników w przyszłości.

Następny rozdział to „Część eksperymentalna” z której właściwiej byłoby wydzielić duży rozdział zatytułowany „Wyniki własne”. Trzeba w tym miejscu stwierdzić, że zawartość merytoryczna tego rozdziału to nie tylko przestrzeganie reguł procedur doświadczalnych ale także duża ilość wiedzy niezbędnej do opracowania wyników i ich interpretacji. Ta część

pracy zawiera na początku bardzo ciekawy rozdział poświęcony opracowaniu i dyskusji widm oscylacyjnych w fazie stałej dla wszystkich badanych pochodnych. Przegląd Tabel zawierających dane krystalograficzne pozwala stwierdzić, że wszystkie 43 kryształy zostały bardzo starannie zmierzone na kilku nowoczesnych dyfraktometrach (wiele w temperaturze azotowej) a otrzymane dane eksperymentalne pozwoliły uzyskać modele cząsteczkowe o dużej precyzji. Umożliwiło to w następnych etapach pracy nie tylko na dogłębną analizę struktury samych cząsteczek ale także struktury kryształu. Część badań własnych rozpoczyna rozdział poświęcony analizie konformacyjnej wszystkich związków rozpatrywany jako wizualizacja pojedynczych cząsteczek i dodatkowo numerycznie jako zestaw istotnych kątów torsyjnych. Wnioskiem z tej części badań jest stwierdzenie, jaki typ podstawników generuje mniej korzystną energetycznie konformację *cis-cis* w stosunku do najczęściej spotykanej konformacji *cis-trans* lub *trans-cis*. W celu oceny wpływu siły sieci krystalicznej na konformację cząsteczek dla związku **A13** została wykonana pełna analiza konformacyjna w fazie gazowej, zapoczątkowana optymalizacją wyjściowej geometrii cząsteczki na poziomie DFT/B3LYP, która po permutacji istotnych kątów torsyjnych wykazała osiem niskoenergetycznych konformacji. Następnie porównano ich energie otrzymane niezależnie dwoma metodami MP2/B3LYP oraz DFT/B3LYP. Stwierdzono, że chociaż energie konformerów zależały od wyboru metody to w metodzie MP2 struktura o najniższej energii odpowiadała konformacji znalezionej eksperymentalnie. Podstawową częścią pracy jest wyczerpująca analiza różnego typu oddziaływań międzycząsteczkowych występujących w siedmiu podgrupach, zaczynając od silnych oddziaływań wodorowych typu NH ... S pomiędzy centralnymi fragmentami tiomocznika w sytuacji kiedy podstawnikami na atomie azotu są grupy aromatyczne, fluorowcopochodne, a także pochodne alkilowe oraz estrowe. Ta część musiała być bardzo pracochłonna ponieważ wszystkie oddziaływania są pokazane na bardzo poglądowych rysunkach, czasem na dodatkowych schematach syntonów a dane geometryczne są stabelaryzowane. Następnie Doktorantka dokonała analizy innych słabych oddziaływań wodorowych typu CH ... X i NH ... X, których występowanie i rodzaj zależą od typu podstawników ulokowanych na mocznikowych atomach azotu. Przegląd danych geometrycznych zamieszczonych w tych Tabelach na ogół nie budzi zastrzeżeń, poza kilkoma słabymi **międzycząsteczkowymi** oddziaływaniami typu C-H ... Akceptor, w których kąt na atomie wodoru ma wartość poniżej 120 stopni. Zróznicowanie typów oddziaływań w zależności od chemicznej struktury podstawnika przedstawiono także na trójwymiarowych powierzchniach Hirshfelda, które w sposób poglądowy pokazują gęstość elektronową na powierzchni cząsteczki.

Tiomocznik i jego niektóre kompleksy wykazują nieliniowe własności optyczne i są intensywnie badane jako potencjalne barwniki do laserów lub sensory fluorescencyjne do badań analitycznych i biomedycznych. Takie badania częściowo w roztworze i częściowo w fazie stałej wykonano dla związków należących do grupy strukturalnej A oraz innych modelowych pochodnych nie zamieszczonych w pracy. Jest to o tyle ważne, że mało jest znanych związków wykazujących własności fotochromowe w fazie stałej. Stwierdzono, że związki tej grupy charakteryzują się dużym przesunięciem Stokesa (>60 nm), a niekiedy też znaczącą wydajnością optyczną. Udało się również skorelować rodzaj podstawnika i sposób upakowania w kryształach z dezaktywacją zbudzonych stanów elektronowych. Ta część pracy pokazuje duże możliwości inne niż medyczne zastosowań praktycznych pochodnych tiomocznika.

Wśród wielu osiągnięć naukowych wymienianych przez Doktorantkę w rozdziale „Wnioski” jest kilka szczególnie istotnych. Jednym z nich jest potwierdzenie że układ tiomocznika pełni rolę syntonu supramolekularnego o bardziej zmiennej geometrii niż grupa mocznikowa. Drugim, że konformacją cząsteczek można jednak sterować poprzez wprowadzenie podstawników umożliwiających tworzenie oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych. Innym bardzo ciekawym wnioskiem jest stwierdzenie, że analiza widm oscylacyjnych w fazie stałej pozwala określić charakter nadstruktury jaką jest ogólna symetria kryształu (grupa przestrzenna) i związane z tym dominujące typy asocjacji, tzn. czy związki są izostrukuralne. Jest to analogia z badaniami w podczerwieni struktury drugorzędowej białek gdzie wybrane pasma świadczą o istnieniu np. struktury α -helisy lub β -kardki.

Spis literatury zawiera większość odnośników, które powinny się tam znaleźć ze względu na tematykę. Praca ma przyjemną szatę graficzną i na ogół napisana jest dobrym językiem. Wyjątek stanowi niefortunne tłumaczenie definicji inżynierii krystalicznej wg. Desiraju na stronie 24: „Celem inżynierii krystalicznej jest tworzenie stabilnych wiązań pomiędzy molekularną i supramolekularną strukturą na podstawie oddziaływań międzycząsteczkowych, które charakteryzują się dużą kierunkowością i stosunkowo dalekim zasięgiem (Desiraju, 1995)”, czy zdanie ze strony następnej „Świat cząsteczek biologicznych niemal w całości podlega chemii supramolekularnej” które nie mają sensu. Nie wiadomo też dlaczego w Tabelach 3 – 9, $R(\text{int})$ ma zawsze dokładnie taką samą wartość jak $R(1)$. Wszystkie rysunki zostały wykonane najbardziej popularnym wśród krystalografów (i nie tylko) programem Mercury, który pokazuje wszystkie krótkie oddziaływania w danym motywie. Przykładowo, w wiązaniu wodorowym typu Donor-H ... Akceptor rysuje nie tylko

oddziaływanie H ... Akceptor ale dodatkowo również Donor ... Akceptor. Na skutek tego niektóre rysunki np. Rys 71, pokazujące międzycząsteczkowe wiązania wodorowe między układami π -elektronowymi są mocno nieczytelne i być może należałoby je ręcznie poprawić w innym programie graficznym.

Obszerne Uzupelnienie zawiera znalezione w Cambridge Crystallographic Data Base dane dla 29 zdeponowanych struktur pochodnych tiomocznika. Jak więc widać, dane uzyskane przez Doktorantkę dla 43 nowych struktur stanowią istotne wzbogacenie wiedzy o tej grupie związków. Dodatkowo, szczegółowa analiza oddziaływań międzycząsteczkowych pozwoliła odkryć inne motywy niż te znane z krystalochemii pochodnych mocznika.

Materiał rozprawy doktorskiej mgr Savchenko jest bardzo bogaty. Do tej pory został opublikowany w jednej pracy w *Eur. J. Med. Chem.* (IF = 3.447). Manuskrypt drugiej pracy jest w przygotowaniu do tego samego czasopisma. Wyniki zostały także przedstawione w 20 komunikatach ustnych i posterach na polskich i międzynarodowych konferencjach. Listę wzbogacającą 2 publikacje i 10 komunikatów o tematyce niezwiązanej z tematyką pracy doktorskiej. Trzeba podkreślić samodzielność i ogromny wkład merytoryczny Doktorantki na każdym etapie realizacji pracy doktorskiej: rozwiązywania i interpretacji struktury, analizy danych spektralnych, obliczeń molekularnych czy w czasie pisania samej pracy podczas generowania jej szaty graficznej. Dysertacja stanowi dobre opracowanie właściwości strukturalnych kilku nowych grup związków z całą złożonością i bogactwem konformacyjnym. Autorka udowodniła, że pochodne cząsteczki tiomocznika stanowią syntony molekularne, co prawda bardziej labilne niż pochodne mocznika ale także możliwe do „sterowania” i dające nadzieję na racjonalne użycie w inżynierii kryształu. Zebrane dane mogą się także przyczynić do zrozumienia wpływu podstawników na rodzaj oddziaływań z potencjalnymi receptorami białkowymi. Trafny wybór pochodnych tiomocznika jako obiektu badań zaowocował zebraniem materiału doświadczalnego który uważam za nowy i bardzo wartościowy. Jedną z zalet dysertacji jest także wielowątkowość pracy

Dlatego, z całym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona rozprawa spełnia wszystkie warunki określone w obowiązującej ustawie o tytule naukowym i stopniach naukowych (zgodnie z ustawą z dnia 14 marca 2003r., Dz. Ustaw Nr 65, poz. 595) i wnoszę o dopuszczenie mgr. Aleksandry Savchenko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zaprezentowane wyniki stanowią nowoczesny, bogaty, interesujący i wielowątkowy wkład w badania struktury nowych pochodnych tiomocznika ze szczególnym uwzględnieniem subtelnej struktury oddziaływań między- i wewnątrzcząsteczkowych. Dlatego biorąc pod uwagę powyższą argumentację wnoszę o wyróżnienie pracy o ile

spełnione będą inne warunki określone w Uchwale Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu
UMCS.

Z. Lipiński