

Prof. dr hab. inż. Anna Dołęga
Katedra Chemii Nieorganicznej
e-mail: anndoleg@pg.edu.pl

Gdańsk, 21.09.2022 r.

Recenzja pracy doktorskiej mgr. Artura Mirockiego pt. "Otrzymywanie oraz charakterystyka strukturalna wieloskładnikowych kryształów zawierających akrydynę lub jej pochodne: 9-aminoakrydynę oraz 6,9-diamino-2-etoksyakrydynę"

1. Informacje wstępne

Podczas oceny pracy doktorskiej mgr Artura Mirockiego kierowałam się **Art. 187. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” Dz. U. z 2021 r. poz. 478, 619, 1630, 2141, 2232.** Według przytoczonego artykułu: „*rozprawa doktorska powinna prezentować ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie albo dyscyplinach oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej*” zaś jej „*przedmiotem jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej albo oryginalne dokonanie artystyczne.*”

2. Tematyka rozprawy

Praca doktorska mgr Artura Mirockiego powstała w Pracowni Krystalochemii Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem dr hab. Artura Sikorskiego, naukowca zajmującego się od początku swojej kariery naukowej analizą rentgenostrukturalną. Praca poświęcona została analizie oddziaływań w krystalicznych solach lub kokryształach powstających z pochodnych akrydyny i kwasów karboksylowych, poczynając od związków dość prostych a kończąc na układach zawierających zarówno pochodną akrydyny jak i wybrane niesteroidowe leki przeciwzapalne; m.in. diklofenak. Szkoda, że Doktorant nie pokusił się o sformułowanie bardziej odległej hipotezy jakiemu celowi medycznemu mogłoby posłużyć takie zestawienie dwóch substancji biologicznie czynnych, ale niewątpliwie definiowanie składu środków farmaceutycznych nie jest rolą chemika tylko farmaceuty. Pomysł badań uważam za ciekawy i uzasadniony nawet jeżeli jego wynikiem pozostaje na razie „tylko” udokumentowanie możliwości wyodrębnienia wielu nowych faz stałych, o dającej się zdefiniować strukturze krystalicznej. Zgadzam się tutaj ze stwierdzeniem Doktoranta, że wskazanie takiej możliwości może w przyszłości posłużyć do wytworzenia nowych form leków zawierających użyte przez niego lub podobne substancje biologicznie czynne (str. 79).



3. Ogólne uwagi dotyczące formy rozprawy

Rozprawa doktorska została przedstawiona w formie opracowania zawierającego teoretyczny wstęp, cel pracy, metodologię badań, dyskusję wyników, podsumowanie i spis literatury. Nieco nietypowo część eksperymentalna – opis syntez, dane dotyczące pomiarów krystalograficznych - została w pracy zamieszczona jako Załącznik 1. Do pracy dołączono również kopie publikacji będących wynikiem przeprowadzonych badań, oświadczenia współautorów publikacji oraz wykaz dorobku Doktoranta.

W przygotowanie rozprawy włożony został duży wysiłek, została ona zilustrowana przez ładne, na ogół czytelne rysunki i napisana elegancką, poprawną polszczyzną. Mam tylko dwie uwagi dotyczące stosowanych przez autora określeń:

- Słowo „ewaporacja” ma swój powszechnie stosowany synonim „odparowanie” i można używać tych słów zamiennie.
- Nadużywa Pan określenia „interesujące wyniki/badania”; taki zwrot pojawia w dyskusji wyników bardzo często, niemal w co drugim akapicie dyskusji wyników. Należy pozostawić czytelnikowi więcej swobody w osądzeniu czy opisane przez Pana wyniki są dla niego interesujące czy też nie.

4. Uwagi merytoryczne dotyczące części składowych rozprawy

4.1 Wstęp teoretyczny

Wstęp teoretyczny zawiera przede wszystkim opis terminów naukowych i pojęć, którymi autor rozprawy posłużył się następnie podczas omawiania otrzymanych wyników. Doktorant omówił przedstawił pojęcia:

- kryształów jedno- i wielkoskładnikowych,
- wybranych oddziaływań międzycząsteczkowych, przede wszystkim wiązań wodorowych i różnych oddziaływań z udziałem elektronów π pierścieni aromatycznych,
- syntonów.

Jest to niewątpliwie część użyteczna dla recenzenta i znalazły się w niej wszystkie niezbędne definicje, a mgr Mirocki udowodnił, że dobrze opanował elementy opisu struktur krystalicznych. Z pewnym zdumieniem odnotowuję, że w tabeli opisującej energie oddziaływań międzycząsteczkowych nadal jako jednostki mocno trzymają się kilokalorie. Przypominam w takim razie, że obowiązującą w układzie SI i zalecaną od kilkadziesiątu (!) lat jednostką energii jest Joule [J]. We wstępie znalazły się ponadto krótkie rozdziały opisujące aktywność biologiczną akrydyn, niesteroidowych leków przeciwzapalnych i kilka przykładów struktur kokryształów zawierających te substancje wraz z metodami ich otrzymywania i potencjalnym zastosowaniem. Opisom towarzyszą ładne, czytelne rysunki i tabele.

Nie mam szczególnych zarzutów merytorycznych do tekstu części teoretycznej, natomiast uważam, że jest bardzo pobieżna. Szczególnie w odniesieniu do układów, które badał doktorant we wstępie teoretycznym brakuje opisu właściwości chemicznych grup funkcyjnych, z których powstawały syntony budujące kryształy soli. Z pewnością w rozdziale tym powinno się znaleźć porównanie wartości pK_a używanych kwasów karboksylowych oraz jonu akrydyniowego. Należało zwrócić uwagę, iż tworzeniu kryształów badanych związków towarzyszy jeden z podstawowych typów reakcji chemicznych jakim jest przeniesienie protonu pomiędzy partnerami reakcji. Należało w związku z tym scharakteryzować grupy donorowe (na ogół grupy karboksylowe różnych kwasów organicznych) i akceptorowe (azot pirydynowy, grupę aminową) uczestniczące w reakcji. Jest to

JDol

istotniejsze z punktu widzenia tematyki pracy niż właściwości kliniczne użytych związków. Odniosę się do tego problemu jeszcze podczas omawiania dyskusji wyników.

4.2 Założenia i cele pracy

O motywacji podjętych badań pisałam omawiając tematykę rozprawy. Uważam, iż systematyczne badania struktury połączeń akrydyn i kwasów karboksylowych, szczególnie leków przeciwzapalnych, są ciekawe, a co więcej mogą zasugerować nowe zastosowania znanych substancji. Doktorant informuje, iż sama idea została podjęta również przez innych naukowców i pisze, że publikacja dotycząca badań strukturalnych podobnych związków: soli 6,9-diamino-2-etoksyakrydiny ukazała się w połowie 2022 roku. Ja uzupełnię to o dwie wcześniejsze prace tychże naukowców, które jednak powinny zostać w dyskusji wyników zacytowane:

- Jerzykiewicz, L.; Sroka, A.; Majerz, I. The Crystal Structure and Behavior of Fenamic Acid-Acridine Complex under High Pressure. *J. Pharm Sci.* 2016, 105, 3487–3495.
- Krawczyk, M.S.; Sroka, A. Majerz, I. The Crystal Structure and Intermolecular Interactions in Fenamic Acids–Acridine Complexes. *Molecules* 2021, 26, 2956.

To, że inni naukowcy podejmują podobne badania wcale nie przekreśla dokonań mgr. Mirockiego - tym bardziej, że znaczna część wyników jego badań również została opublikowana.

4.3 Syntezy związków oraz metodologia badań

W rozdziale 3 Doktorant zamieścił ogólny opis `prowadzonych syntez i większość szczegółów dotyczących sposobu rozwiązywania i udokładniania struktur. Gratuluję podjęcia wysiłku systematycznego nazwania wszystkich otrzymanych 23 związków, czy też, w niektórych wypadkach, kokryształów (Tabela 4). *W związku z opisem syntez mam następujące uwagi i pytania do Doktoranta:*

- *Siłą napędową badanych reakcji jest przeniesienie protonu pomiędzy akrydyną i kwasem karboksylowym. Jest to dość prosty mechanizm i powinien zależeć głównie od wartości pK_a partnerów reakcji. Dodatkowo, w układzie, w którym jako substrat stosowano sól akrydyniową (mleczan akrydiny), żeby reakcja zachodziła ilościowo, wchodzący w reakcję kwas powinien być mocniejszy od kwasu mlekowego. Czy tak właśnie było? Co rozumie Pan poprzez niepowodzenie syntezy? Czy reakcja nie zachodziła w ogóle? Czy może Pan zaproponować jakikolwiek sposób (inny niż dyfrakcja rentgenowska monokryształów) sprawdzenia tego czy w wyniku zmieszania substratów powstają produkty – związki różne od substratów?*
- *Kwas mlekowy to mała cząsteczka, która ma aż dwie grupy funkcyjne mogące uczestniczyć w tworzeniu wiązań wodorowych. Jak Pan myśli, czemu nie otrzymał Pan żadnych produktów krystalicznych z wbudowanym kwasem mlekowym?*

Opis dotyczący rozwiązywania i udokładniania struktur, bardzo mi się podobał i uważam, że został sporządzony przez osobę, która dobrze rozumie pojęcia związane z zastosowaną techniką badawczą. W związku ze szczegółami rozwiązywania i udokładniania chciałabym doprecyzować lub przedyskutować na obronie następujące zagadnienie:

- *Napisał Pan o odnajdywaniu atomów wodoru przy pomocy różnicowych map gęstości elektronowych. Czy dyfrakcja rentgenowska jest dobrym narzędziem lokalizowania kwaśnych atomów wodoru w obrębie złożonych układów? Jaka technika - pod warunkiem posiadania odpowiedniego materiału - byłaby najlepsza do tego celu? Czym można się posłużyć, jaką metodą czy też jakim jakim narzędziem, żeby potwierdzić obecność określonych grup funkcyjnych w badanych układach – np. obecność sprotonowanej akrydiny (jonu akrydyniowego)?*

ADol

- Czy próbował Pan udokładniać atomy wodoru wiązań wodorowych w różnych pozycjach? Czy w odpowiedzi na moją recenzję mógłby Pan przedstawić wyniki takiego udokładniania (porównanie współczynników rozbieżności) na jednym przykładzie?

4.4 Omówienie wyników badań

Dyskusja wyników rozpoczyna się od zestawienia danych strukturalnych wszystkich otrzymanych soli, czy też kokryształów. Następnie Doktorant w sposób graficzny, przy pomocy czytelnego i pomocnego Rysunku nr 16 definiuje syntony strukturalne, które w otrzymanych przez niego związkach występują. Dalej w pracy następuje szczegółowy opis poszczególnych związków, pogrupowanych według typów syntonów. Do opisu wiązań wodorowych doktorant konsekwentnie stosuje notację Desiraju – zgodnie ze swoją wcześniejszą zapowiedzią. Opisy są bardzo drobiazgowo. Mgr Mirocki wykazał się dobrą znajomością różnych rodzajów słabych oddziaływań międzycząsteczkowych, które identyfikuje w kryształach otrzymanych związków. Oprócz poszczególnych typów interakcji odnajduje też w badanych kryształach wzory supramolekularne takie jak łańcuchy czy wstęgi. Przyznam, że najciekawszy były dla mnie struktury utworzone przez diklofenak i naproksen – pewnie dlatego, że diklofenak to szeroko stosowany środek przeciwzapalny. Zarówno diklofenak jak i naproksen to kwasy karboksylowe o nieco bardziej złożonej strukturze niż pozostałe jednopierścieniowe związki używane przez doktoranta i stąd trudniej uzyskać z nich stabilne sieci krystaliczne. Doktorantowi się to udało i mógł opisać charakterystyczne elementy budowy kryształów zawierających naproksen/diklofenak i akrydyny. Ponieważ, dla niektórych związków atom wodoru został udokładniony w wyjściowej pozycji (jako fragment grupy karboksylowej) zaś dla niektórych został przeniesiony na cząsteczkę akrydyny, ponawiam uwagę z poprzedniego rozdziału. Moim zdaniem, aby potwierdzić położenie protonu w tych układach należałoby użyć dodatkowych narzędzi, przede wszystkim powszechnie dostępnej w laboratoriach chemicznych spektroskopii w podczerwieni! Mam następujące uwagi i pytania dotyczące dyskusji wyników:

- w części kryształów oprócz względnie dobrze zlokalizowanych wiązań wodorowych występują też klastry cząsteczek wody co może jeszcze bardziej utrudniać lokalizację kationów wodorowych (a może po prostu one są zdelokalizowane?) Czy nie miał Pan problemów z ustaleniem pozycji atomów wodorów w tych układach?
- Jeżeli rysunek zajmuje kilka stron, tytuł rysunku należy umieszczać na pierwszej z tych stron, a nie na ostatniej, zaś kolejne strony podpisywać „Ciąg dalszy Rysunku X”. W przeciwnym razie czytelnik początkowo nie wie co ogląda. Uwaga dotyczy Rysunków 14 oraz 15.
- Rysunki w opracowaniu naukowym powinny być zarówno osadzone w tekście rozprawy jak i „żyć własnym życiem” czyli objaśniać się bez potrzeby zaglądania do tekstu rozprawy. Część podpisów pod rysunkami jest bardzo nieprecyzyjna, np. nie wskazuje jakie związki przedstawiono na poszczególnych częściach rysunku (Rysunek 22), albo informacja o przedstawionym związku pojawia się dopiero w podpunkcie b lub c rysunku. Ten drugi zarzut dotyczy m.in. Rysunku 23; w podpisie czytamy, że Rys 23(a) przedstawia „motyw wstęgi” natomiast informacja, że dotyczy to związku **1** pojawia się w podpunkcie (b). Podobna niekonsekwencja dotyczy podpisów pod rysunkami 24, 25 oraz 28. Podpis pod rysunkiem powinien najpierw objaśniać co znajduje się na rysunku np.: Rys. X Charakterystyczne fragmenty struktury krystalicznej związku X, a następnie podawać szczegóły: (a) motyw wstęgi zbudowanej z... etc. Wówczas czytelnik nie musiałby zastanawiać się czy na pewno wszystkie części rysunku dotyczą związku, którego symbol pojawia się w jednym tylko podpunkcie – i to w dodatku nie w pierwszym, a dopiero w kolejnym.

W.D.

- Nie znalazłam w pracy doktorskiej żadnego wyjaśnienia dotyczącego wysokich wskaźników rozbieżności struktur związków **1** oraz **2**.
- Doktorant nie rozróżniał w opisie wiązań wodorowych pomiędzy obojętnymi molekułami od wiązań wodorowych z asystą ładunku, które mają zwykle znacznie większe energie. Analizując dane dla związków **21-23**, w których przeniesienie protonu pomiędzy grupą karboksylową kwasu, a atomem azotu akrydyny zdaniem doktoranta raz występuje a raz nie, nie widzę korelacji pomiędzy odległością donor---akceptor, a obecnością ładunku w obrębie wiązania wodorowego. Szczególnie w odniesieniu do związku **23** zwraca uwagę wyjątkowo mała odległość donor---akceptor O(31B)---N(10C) wynosząca 2,4625(1) Å co moim zdaniem sugeruje bezbarierowe przenoszenie protonu w badanym układzie. W tym miejscu stawiam doktorantowi najistotniejszy zarzut, że w dyskusji wyników kompletnie pominął analizę parametrów strukturalnych wiązań wodorowych, ograniczając się do dyskusji wzorów supramolekularnych. Bardzo proszę o przedstawienie takiej analizy podczas obrony.
- Na stronie 73 rozprawy pojawia się wzmianka o przeprowadzonych badaniach TG oraz DSC oraz wnioski z tych badań, natomiast nie opisano sposobu prowadzenia badań TG i DSC w części eksperymentalnej, ani nie przedstawiono ich wyników.

4.5 Podsumowanie

W posumowaniu Doktorant jeszcze raz wymienia wszystkie charakterystyczne elementy struktury otrzymanych związków związane z obecnością (lub nieobecnością) różnych rozpuszczalników w kryształach.

4.6 Bibliografia

Bibliografia obejmuje 154 pozycje, w zdecydowanej większości są to prace oryginalne, ale też podręczniki oraz 7 adresów dostępu do stron internetowych, których moim zdaniem należy całkowicie unikać.

4.7 Załączniki

Ważną częścią rozprawy są załączniki. To tutaj znajdujemy dokładny opis syntez poszczególnych związków i tabele krystalograficzne: dane eksperymentalne dotyczące parametrów pomiaru i udokładniania, długości wiązań. Syntezy zostały przedstawione w sposób umożliwiający ich powtórzenie. Jako element charakterystyki związku podano temperatury topnienia. *Praktycznie we wszystkich syntezach wykonanych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego Doktorant posłużył się tą samą metodą zarówno prowadzenia reakcji, jak i krystalizacji. W związku z tym, aby uporządkować opis, zaoszczędzić sporo papieru i ułatwić czytającym wychwycenie ewentualnych różnic w sposobie prowadzenia reakcji (stosunki molowe reagentów, temperatura) wystarczyłoby sposób prowadzenia reakcji opisać jeden raz, a następnie w tabeli podać liczby moli reagentów, ilości rozpuszczalników, czas i temperaturę prowadzenia poszczególnych reakcji.*

Do pracy załączono również manuskrypty publikacji, których autorem lub współautorem był Doktorant. W wyniku badań zrealizowanych przez mgr A. Mirockiego powstało pięć publikacji. Trzy z publikacji dołączonych do rozprawy to prace dwuautorskie, oprócz Doktoranta ich autorem jest promotor dr hab. Artur Sikorski, jedna z prac to jednoautorski komunikat mgr. A. Mirockiego. Ostatnia publikacja, która ukazała się 06.09.2022, czyli już po złożeniu pracy do recenzji, ale zanim moja recenzja powstała, to obszerna praca będąca rezultatem badań wykonanych zarówno na macierzystym Uniwersytecie jak i podczas trzymiesięcznego stażu na Uniwersytecie Piemontskim we Włoszech. Mgr. A. Mirocki jest pierwszym autorem wszystkich pięciu publikacji oraz korespondencyjnym autorem czterech z nich co bez wątpienia wskazuje na jego wiodący udział w ich powstawaniu oraz jego dużą naukową samodzielność.

WBA

5. Pozostałe uwagi i wniosek końcowy

Mgr A. Mirocki otrzymał szereg nowych związków typu soli zawierających substancje biologicznie czynne, wyznaczył ich strukturę molekularną i zidentyfikował w obrębie tej struktury powtarzające się, charakterystyczne elementy. Pomimo moich uwag odnoszących się do niedostatków pracy, przede wszystkim niepełnego opisu parametrów strukturalnych wiązań wodorowych w otrzymanych układach, uważam, iż główny przedmiot pracy doktorskiej, czyli analiza syntonów supramolekularnych, został wykonany kompetentnie. Wyniki pracy naukowej Doktoranta zostały opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Moim zdaniem w wyniku realizacji opisanych w doktoracie badań mgr A. Mirocki stał się specjalistą w tej trudnej, wymagającej dziedzinie jaką jest krystalografia rentgenowska.

Stwierdzam, iż przedstawiona mi do oceny praca spełnia wymagania Art. 187. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” i wnioskuję o dopuszczenie mgr Artura Mirockiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Anna Dolega