



UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KATEDRA I ZAKŁAD TECHNOLOGII CHEMICZNEJ ŚRODKÓW LECZNICZYCH

ul. Grunwaldzka 6
60-780 Poznań

tel.: 61 854-66-30
fax: 61 854-66-39
tomasz.goslinski@ump.edu.pl

Poznań, dnia 22 lipca 2019 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Tytuł pracy: Nowe fotosensybilizatory aktywne w świetle widzialnym oraz bliskiej podczerwieni – synteza i właściwości

Imię i nazwisko: mgr Magdalena Obłozą

Miejsce realizacji pracy doktorskiej: Zespół Nanotechnologii Polimerów i Biomateriałów, Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Promotor: Prof. dr hab. Maria Nowakowska

Promotor pomocniczy: dr Łukasz Łapok

Tematyka pracy doktorskiej podjęta przez Panią mgr Magdaleny Obłozą, obejmująca zaawansowane metody syntezy i badań fizykochemicznych potencjalnych fotosensybilizatorów, jest rozwijana od wielu lat z bardzo interesującymi rezultatami w Zakładzie Chemii Fizycznej i Elektrochemii na Wydziale Chemii pod kierunkiem promotora niniejszej pracy prof. dr hab. Marii Nowakowskiej oraz promotora pomocniczego dr. Łukasza Łapoka. Sformułowany w temacie dysertacji problem badawczy dotyczący syntezy i właściwości nowych fotosensybilizatorów aktywnych w świetle widzialnym oraz bliskiej podczerwieni jest niezwykle ważny. Dotyka z jednej strony zagadnień poznawczych, zmierzających do opracowania metod syntezy i poznania właściwości fizykochemicznych halogenowanych kompleksów boru, z grupy subftalocyjanin oraz aza-BODIPY. Z drugiej strony, podjęte zagadnienia charakteryzuje rosnąca z roku na rok aplikacyjność w biomedycynie i nowoczesnych technologiach. Od ponad 50 lat poszukujemy nowych fotosensybilizatorów dla potrzeb terapii i diagnostyki fotodynamicznej, jednak metodyka i przedmiot badań się zmienia. Stopniowo odchodzimy od wytwarzania nowych barwników o niskiej czystości i tworzących trudne do zdefiniowania mieszaniny, które należą do pierwszej generacji tych związków. Zdecydowanie preferujemy dobrze przemyślaną syntezę fotosensybilizatorów drugiej i trzeciej generacji o predefiniowanych parametrach fizykochemicznych, często przekładających się na pożądaną farmakokinetkę, a także co jest dużo trudniejsze farmakodynamikę. Z tego względu tematyka badawcza podjęta przez Doktorantkę jest bardzo aktualna, a dokonany wybór tematu uważam za jak najbardziej uzasadniony.

Rozprawa doktorska mgr Magdaleny Obłozą stanowi spójne tematycznie 212 stronicowe opracowanie, które zostało napisane bardzo poprawnym językiem naukowym. Zawiera wszystkie wymagane i ułożone we właściwej kolejności rozdziały oraz szereg informacji uzupełniających

tj. słowa kluczowe, informację o finansowaniu, dorobek publikacyjny doktorantki, podziękowania, spis treści, streszczenia w języku polskim i angielskim, wykaz stosowanych skrótów i symboli, listę struktur (bardzo przydatną), wprowadzenie z podrozdziałami zawierającymi cel i założenia pracy, wstęp i część literaturową, badania własne, część eksperymentalną wraz z przedstawieniem materiałów i aparatury, procedur syntetycznych i pomiarowych, podsumowanie i wnioski, materiały uzupełniające, a także bibliografię. Praca doktorska zawiera szereg starannie przygotowanych rysunków i tabel, które znacznie ułatwiają analizę omawianych wyników. Piśmiennictwo liczy 150 odnośników literaturowych, odpowiednio dobranych i pochodzących w większości z ostatnich 15 lat.

Doktorantka dokonała właściwego doboru tematyki do **Wprowadzenia** i umiejętnie nakreśliła **cele pracy**, w których uzasadniła poszukiwanie, opracowywanie syntezy i prowadzenia badań fizykochemicznych w zakresie nowych barwników, będących halogenowanymi organicznymi kompleksami boru z grup subftalocyjanin oraz aza-BODIPY, potencjalnie użytecznych w biomedycynie i technologii. W sposób szczegółowy postanowiła skupić na otrzymaniu barwników aktywnych optycznie w zakresach światła widzialnego i bliskiej podczerwieni. Zwróciła uwagę, że podstawienie fotosensybilizatorów atomami jodu i bromu będzie miało wpływ na ich właściwości fotofizyczne oraz fotochemiczne. Nowe związki miały zostać poddane badaniom dynamiki wzbudzonych stanów singletowych S_1 oraz trypletowych T_1 w pomiarach widm absorpcji przejściowej. W kolejnych eksperymentach zaplanowała ocenę właściwości optycznych fotosensybilizatorów w zakresie przebiegu widm absorpcyjnych i emisyjnych, wyznaczenia molowych współczynników absorpcji ϵ , kwantowych wydajności fluorescencji Φ_f , energii wzbudzonych stanów singletowych E_s i trypletowych E_T , a także kwantowej wydajności tworzenia tlenu singletowego Φ_Δ . Uzupełnieniem charakterystyki optycznej miały być badania elektrochemiczne z wykorzystaniem cyklicznej i różnicowej woltamperometrii, które również miały pozwolić na określenie poziomów energetycznych orbitali HOMO i LUMO. Podkreśleniem celowości zaproponowanych eksperymentów jest dążenie Doktorantki do powiązania ze sobą wyników badań fizykochemicznych ze strukturą, co z kolei stwarza perspektywę do efektywnego projektowania nowych fotosensybilizatorów dla potrzeb medycznych i fotokatalizy. W kolejnych podrozdziałach mgr Magdalena Obłozka nakreśliła stan wiedzy na temat związków kompleksowych boru z grupy subftalocyjanin i aza-BODIPY, silnie akcentując zagadnienia związane z właściwościami i metodami ich syntezy, a także potencjalnymi zastosowaniami w fotomedycynie i technologii. W ostatnim podrozdziale wyczerpująco omówiła temat reaktywnych form tlenu. Należy podkreślić, że zebrany materiał literaturowy stanowi zwarte oraz bardzo kompletne kompendium. Sprawia ono, że podjęte w dalszych częściach pracy zagadnienia, część doświadczalna, wyniki i ich omówienie oraz wnioski wydają się naturalnie wpisywać w poruszane problemy.

Zagadnienia przedstawione w rozdziale **Badania własne** zostały przeprowadzone wg dobrze przemyślanego schematu. Doktorantka najpierw omówiła syntezę chlorku heksajodosubftalocyjaniny boru(III) wraz z modyfikacjami na atomie boru, obejmującymi substytucję nukleofilową aksjalnego atomu chloru z użyciem 3-hydroksypirydyny i następnie czwartorzędowanie atomu azotu w podstawniku pirydylksoylowym. Obecność 6 atomów jodu miała wpłynąć na zwiększenie populacji stanów trypletowych T_1 i w efekcie przełożyć się na zwiększenie wydajności generowania tlenu singletowego. W tym miejscu Doktorantka bardzo ładnie rozwiązała problemy preparatywne: (i) syntezy 4,5-dijodoftalonitrylu, modyfikując literaturową procedurę syntetyczną z grupy Leznoff'a, który pozwala na uzyskanie czystego produktu na drodze chromatografii lub krystalizacji podczas ostatniego etapu reakcji oraz (ii) syntezy chlorku heksajodosubftalocyjaniny boru(III), którą przeprowadziła z użyciem reaktora mikrofalowego znacznie skracając czas reakcji. W dalszych badaniach otrzymała polibromowane aza-BODIPY z podstawnikami p-dimetyloaminofenyłowymi lub m-dimetyloaminofenyłowymi w pozycjach 3 i 5, a także p-tert-butylofenyłowymi w pozycjach 1 i 7. Bardzo ciekawa jest omówiona przez Doktorantkę różnica w podatności na bromowanie pomiędzy aza-BODIPY z podstawnikami p-dimetyloaminofenyłowymi i m-dimetyloaminofenyłowymi w pozycjach 3 i 5. W tym miejscu, zastanawiam się, czy została podjęta próba bromowania NBS-em (i) w stosunku molowym 1:2 pochodnej 25 celem wprowadzenia bromu w pozycje pirolowe 2 i 6, względnie (ii) w stosunku molowym 1:6 pochodnej 23? Zaproponowane modyfikacje struktury aza-BODIPY pozwoliły z jednej strony na poprawę rozpuszczalności, a z drugiej na przesunięcie batochromowe pasm absorpcji i emisji. Wprowadzenie do struktury subftalocyjanin i aza-BODIPY atomów bromu i jodu, czyli tzw. ciężkich atomów zwiększyło populację stanów trypletowych, a tym samym wydajności generowania tlenu singletowego. Uzyskane związki z grupy subftalocyjanin oraz aza-BODIPY z podstawnikami p-dimetyloaminofenyłowymi w badaniach fotofizycznych wykazały silną absorpcję w zakresie widzialnym lub bliskiej podczerwieni oraz niską nie przekraczającą 1% wydajność kwantową fluorescencji. Co ciekawe, aza-BODIPY z podstawnikami m-dimetyloaminofenyłowymi nie wykazywały emisji w temp. pokojowej, ale było możliwe zmierzenie ich widna fluorescencji w szkliwie uzyskanym po zamrożeniu roztworów w 2-metylotetrahydrofuranie w temperaturze 77 K. Zarejestrowane widna fluorescencji pozwoliły na wyznaczenie energii wzbudzonych stanów singletowych E_s . Warto dodać, że we współpracy z Zespołem prof. dr hab. Jacka Waluka z Instytutu Chemii Fizycznej PAN w Warszawie dla subftalocyjanin zarejestrowano widna fosforescencji, co pozwoliło na wyznaczenie energii wzbudzonych stanów trypletowych E_T . Badane heksajodosubftalocyjaniny wykazały w zestawieniu ze znanymi z literatury trijodosubftalocyjaninami znaczne około 100 nm długofalowe przesunięcie maksimum emisji ze wzbudzonego stanu trypletowego, co zostało w świetle wyników badań własnych i piśmiennictwa przedyskutowane

w pracy. Bardzo ciekawa jest analiza zmian absorpcji i fluorescencji dla roztworów aza-BODIPY podczas miareczkowania kwasem trifluoroctowym w toluenie, która wskazuje na rolę grup dimetyloaminowych w strukturze i przechodzenie związków przy niskich wartościach pH do form diprotonowanych. Tym samym, uzyskane związki stwarzają perspektywy zastosowań jako fluorescencyjne sensory. Zastanawiam się, czy sprawdzono odwracalność procesów protonowania dla badanych aza-BODIPY 15 i 23 po zalkalizowaniu roztworów, gdyż fakt ten zaznaczono na rysunkach 2.10. i 2.13., a nie znalazłem informacji w dysertacji? Dopełnieniem badań fotofizycznych są pomiary dynamiki wzbudzonych stanów singletowych badanych kompleksów boru subftalocyjanin i aza-BODIPY z zastosowaniem femtosekundowej fotolizy błyskowej wykonane we współpracy z zespołem prof. dr hab. Bronisława Marciniaka z Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Z użyciem techniki czasowo-rozdzielczej spektroskopii laserowej oceniono dynamikę wzbudzonych stanów singletowych S_1 i trypletowych T_1 , a także wyznaczono ich czasy życia τ_S i τ_T . Duży potencjał dla aplikacyjności związków mają przeprowadzone pomiary metodami bezpośrednią i/lub pośrednią wydajności kwantowych generowania tlenu singletowego Φ_Δ , które wynoszą dla serii badanych subftalocyjanin 22-90%, a dla badanych bromowanych aza-BODIPY od braku względnie bardzo niskich dla zawierających ugrupowanie p-dimetyloaminofenyłowe, po średnie i wysokie dla bromowanych pochodnych z grupami m-dimetyloaminofenyłowymi. Bardzo cenna, w kontekście potencjalnych zastosowań praktycznych, jest także dokonana przez Doktorantkę ocena fotostabilności i stabilności termicznej otrzymanych związków. Ciekawa część badań, która świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu warsztatowym Doktorantki, obejmuje eksperymenty elektrochemiczne z użyciem cyklicznej i różnicowej voltamperometrii, które pozwoliły m.in. na wyznaczenie potencjałów procesów pierwszego utlenienia E_{ox}^1 i pierwszej redukcji E_{red}^1 oraz obliczenie energii orbitali granicznych HOMO i LUMO, a także przerwy energetycznej E_g . Cennym uzupełnieniem były studia spektroelektrochemiczne. Potencjał aplikacyjny przedstawionych badań dotyka wielu zastosowań nowych związków, które mogą zostać użyte jako fotokatalizatory, warstwy fotoaktywne w ogniwach słonecznych, organiczne diody elektroluminescencyjne, fotosensybilizatory w terapii i diagnostyce fotodynamicznej.

Część eksperymentalna pracy doktorskiej jest złożona z kilku niezależnych podrozdziałów, w których Doktorantka przedstawiła materiały i aparaturę, procedury preparatywne oraz pomiarowe. Związki zostały poddane charakterystyce fizykochemicznej obejmującej NMR (1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{11}B), UV-vis, FT IR, HR MS, analizę elementarną. Dopełnieniem tej części jest rozdział **Materiały uzupełniające**, w którym na niemal 60 stronach zamieszczono wszystkie widma związków otrzymanych w badaniach. Sprawia to, że dysertacja jest doskonałym materiałem nie tylko naukowym,

ale i dydaktycznym. Badania przedstawione w pracy zostały zebrane w rozdziale **Podsumowanie i wnioski**, w którym Doktorantka jeszcze raz przedyskutowała najważniejsze wyniki.

Hipoteza zawarta na początku badań dotycząca w szerokiej perspektywie opracowania syntezy i oceny właściwości fizykochemicznych halogenowanych kompleksów boru z grupy subfialocyjanin i aza-BODIPY na styku stosowania zaawansowanych metod chemii organicznej i chemii fizycznej wydawała się bardzo racjonalna. Z przyjemnością stwierdzam, że w miarę postępu prac badawczych została pozytywnie zweryfikowana i doprowadziła do bardzo interesujących wyników, które mają duże znaczenie poznawcze, a także aplikacyjne. Doktorantka przeprowadziła bardzo ciekawą analizę pomiędzy strukturą uzyskanych związków, a ich właściwościami optycznymi i elektrochemicznymi, wykazując zróżnicowane efekty w zależności od zastosowanego układu oraz jego funkcjonalizacji. Badania Doktorantki wnoszą tym samym ważne przesłanki dla projektowania nowych fotosensybilizatorów o potencjalnym zastosowaniu w biomedycynie, zwłaszcza w szeroko rozumianej przeciwnowotworowej i przeciwbakteryjnej terapii oraz diagnostyce fotodynamicznej. Niektóre z uzyskanych związków wykazują potencjał aplikacyjny dla technologii, w tym fotowoltaiki. Samo spojrzenie na te dwie podgrupy porfirynoidów w jednej pracy uważam za bardzo interesujące, gdyż w znacznym zakresie pozwala na przeanalizowanie szeregu fizykochemicznych subtelności, które byłyby łatwe do przeoczenia lub niezauważalne w przypadku analizy obu grup związków osobno. Treść rozprawy doktorskiej Pani mgr Magdaleny Obłozy jest zgodna z tezą postawioną w tytule. Podjęty cel pracy został poprawnie zrealizowany w części eksperymentalnej, przedstawiony w wynikach i ich omówieniu, a także podsumowany we wnioskach oraz streszczeniu. Przedstawiona do recenzji praca doktorska posiada wiele płaszczyzn pozwalających ją analizować jako nowatorską: (i) zastosowany bardzo nowoczesny warsztat badawczy, (ii) duży potencjał poznawczy przeprowadzonych badań związany z opracowaniem syntezy i poznaniem właściwości fizykochemicznych kilku nowych potencjalnych fotosensybilizatorów, (iii) podjęcie zagadnień o dużym potencjale aplikacyjnym, ale i społecznym, z jasno określonymi przesłankami dla kontynuacji dalszych studiów w obrębie chemii medycznej w nurcie poszukiwania nowych i skuteczniejszych leków na choroby przeciwnowotworowe i bakteryjne. W rozdziałach **Dorobek publikacyjny i Supplement** Doktorantka zawarła informacje o realizowanych projektach badawczych i wygłoszonych prezentacjach na konferencjach, a także uzyskanych wyróżnieniach. Dane te wraz z informacjami o publikacjach, które ukazały się w czasopiśmie naukowych o światowej renomie, takich jak *Chemistry – A European Journal* (dwukrotnie), *ChemPhysChem*, *Organometallics* z łącznym współczynnikiem oddziaływania IF 17,5 świadczą o dużych umiejętnościach i pracowitości Doktorantki. Praca napisana jest bardzo starannie, zwracam uwagę na pewne kwestie, które pojawiły się podczas czytania dysertacji i poproszę o ustosunkowanie się do nich podczas publicznej obrony:

(i) Czy Doktorantka rozważała możliwość zastosowania związków w terapii boronowo-neutronowej BNCT, względnie wzbogacenia uzyskanych związków w ugrupowania zawierające bor z uwagi na użyte ugrupowania peryferyjne?; (ii) s. 52, Schemat 2.1. – Zapewne chodziło o kwas nadjodowy H_5IO_6 ; (iii) s. 56 i inne miejsca w pracy – Sugerowałbym stosowanie nazwy podstawnika 3-pirydyloksylowy lub pirydyn-3-yloksylowy dla 8, gdyż zgodnie z Rekomendacjami IUPAC dla grup R-O- nazwy przedrostków tworzy się przez powiązanie przedrostka ‘oksy’ do przedrostka dla grupy R; (iv) s. 56 i inne miejsca w pracy – Sugerowałbym przy opisie jonów w spektrometrii mas stosować określenie addukt tylko w odniesieniu do połączeń obojętnej cząsteczki z jonem innym niż proton i przy zapisie uwzględniać wówczas nomenklaturę $[M+Na]^+$, natomiast przy zapisie jonów protonowanych cząsteczek stosować zapis $[M+H]^+$; (v) s. 117, Rysunek 2.32 – Chodziło o związek aza-BODIPY oznaczony numerem 23.

Reasumując uważam, że Pani mgr Magdalena Obłozka doskonale zmierzyła się z postawionym w temacie pracy problemem, wykazała się znajomością zagadnień teoretycznych i przygotowaniem warsztatowym. Moja bardzo wysoka ocena wartości merytorycznej przedstawionej dysertacji wynika z umiejętnego połączenia przez Doktorantkę wiedzy z zakresu chemii organicznej i chemii fizycznej. Przekazana do recenzji rozprawa doktorska w pełni spełnia wymogi stawiane tego typu pracom, zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. - O stopniach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki - Dz.U. RP nr 65, poz. 595 z 2003 r. wraz z późniejszymi zmianami, dlatego też wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Chemii o dopuszczenie mgr Magdaleny Obłozki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Z uwagi na wysoką merytoryczną wartość przedłożonej do recenzji dysertacji, zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego z wnioskiem o wyróżnienie przedmiotowej pracy doktorskiej.


prof. dr hab. Tomasz Gośliński