



Poznań, dnia 15 listopada 2022 roku

Prof. UAM dr hab. Tomasz Pospieszny
Zakład Produktów Bioaktywnych

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr MARII RODRIGUEZ MOYA
pt. „Badania nad syntezą pochodnych (1-pirenylo)fosfonoglicyny oraz ich właściwości
cytotoksycznych i fotofizycznych”

wykonanej w Katedrze Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego
pod kierunkiem prof. UŁ dr hab. Bogny Rudolf
promotor pomocniczy dr Anna Wrona-Piotrowicz

Współczesne badania naukowe w obszarze chemii, farmacji i medycyny w dużej mierze są skierowana na poszukiwanie nowych aktywnych biologicznie związków chemicznych. Przyznanie tegorocznej Nagrody Nobla z chemii Barry’emu Sharplessowi i Mortenowi Meldalowi za wkład w podwaliny chemii klik oraz Carolyn Bertozzi, która stosując chemię klik stworzyła chemię bioortogonalną jest tego najlepszym przykładem. Dynamiczny ewolucyjny rozwój mikroorganizmów stających się bardziej odpornymi na stosowane środki farmakologiczne wymusza na badaczach ciągły wyścig z czasem. Dlatego właśnie zasadna jest praca nad opracowywaniem i poszukiwaniem nowych, skuteczniejszych leków zwalczających patogeny wywołujące choroby. Interesująca i wpisująca się w ten kanon grupą związków są związki fosforoorganiczne takie jak aminofosfoniany i kwasy aminofosfonowe. Związki te jako strukturalne analogi aminokwasów odgrywają istotną rolę w wielu naukach biologiczno-chemicznych. Dlatego też wybrana przez Panią mgr Marię Rodriguez Moya tematyka i cel pracy doktorskiej polegający na badaniach związanych z opracowaniem prostej i efektywnej metody syntezy α -aminofosfonianów i kwasów α -aminofosfonowych zawierających grupę 1-pirenylową wydają się w pełni uzasadnione.



Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została opracowana w formie zbioru publikacji. Praca składa się następujących części: Streszczenia w języku polskim (1 strona), Streszczenia w języku angielskim (1 strona), Spisu publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej (1 strona), Wprowadzenia literaturowego (16 stron), Celu pracy (2 strony), Omówienia wyników stanowiących rozprawę doktorską (16 stron), Podsumowania i wniosków (2 strony), Literatury cytowanej obejmującej 62 pozycji (3 strony), Życiorysu oraz przebiegu pracy naukowej (1 strona) i Działalności naukowej i organizacyjnej (3 strony). Na dorobek naukowy Doktorantki składa się 6 opublikowanych prac oryginalnych, z czego 4 wchodzi w skład dysertacji. Ponadto Doktorantka jest współautorką 14 komunikatów posterowych (1 komunikat został przedstawiony w Wilnie). Pewien niedosyt pozostawia brak komunikatów ustnych, które w moim odczuciu uczą swobody wypowiedzi oraz są niezbędne do pełnego rozwoju naukowego. Doktorantka była także wykonawczynią dwóch projektów w 2013 i 2014 roku przyznawanym młodym naukowcom oraz uczestnikom studiów doktoranckich. Uważam, że powyższe wskaźniki świadczą o dobrym poziomie prezentowanych prac naukowych i stanowią podstawę do postępowania związanego z nadaniem stopnia naukowego doktora nauk chemicznych.

W części literaturowej Autorka pracy omówiła krótko strukturę i właściwości biologiczne kwasów α -aminofosfonowych, a także reakcje Kabachnika-Fieldsa (fosfa-Mannicha) zarówno z użyciem katalizatorów jak i bez katalizatora. Szkoda, że Doktorantka nie pokazała mechanizmu reakcji, gdyż niewątpliwie należy on do ciekawszych w chemii fosfoorganicznej. Pewien niedosyt budzi także brak pełnego mechanizmu reakcji aza-Pudovika. Pani mgr Maria Rodriguez Moya w zakończeniu tej części pracy napisała, że przedstawione zostały „tylko wybrane procedury, wykorzystujące szeroką gamę katalizatorów obejmujące dane z ostatnich lat”. Chciałbym zapytać, czym kierowała się Pani przy doborze wspomnianych procedur.



Na szczególną uwagę zasługuje zwięzłe, ale jednocześnie wyczerpujące omówienie biotestów jako narzędzi oceny toksyczności oraz fluorescencji. Do tej części pracy nie mam żadnych poważniejszych zarzutów.

Cel pracy stanowiący drugą i zarazem najważniejszą część rozprawy został przedstawiony w autoreferacie. Składają się na niego cztery prace, w których Autorka opisała:

1. Syntezę, właściwości fluorescencyjne oraz badania cytotoksyczności wybranych α -aminofosfonianów dimetylowych z fragmentem pirenylowym (*Beilstein J. Chem.*, **2016**, *12*, 1229–1235; publikacja P1);
2. Syntezę α -aminofosfonianów difenylowych, a także ocenę ich ekotoksyczności przy użyciu testów *Heterocypris incongruens* i *Vibrio fischeri* (*Molecules*, **2016**, *21*, 936; publikacja P2);
3. Tworzenie amino(1-pirenylo)fosfonianów dimetylowych w reakcji Kabachnika-Fieldsa pireno-1-karboaldehydu z fosforynem dibenzylu i aminami w metanolu (*Phosphorus, Sulfur and Silicon*, **2017**, *192(6)*, 716–718; publikacja P3);
4. Charakterystykę amino(piren-1-ylo)metylofosfonianów dibenzylowych za pomocą widm NMR i spektrometrii masowej (*Phosphorus, Sulfur and Silicon*, **2017**, *192(6)*, 719–726; publikacja P4).

W pracy P1 Pani Rodriguez Moya przedstawiła metodę syntezy α -amino(1-pirenylo)fosfonianów i kwasów (1-pirenylo)aminofosfonowych. Związki zostały otrzymane poprzez zasady Schiffa (**17a-j**), które Doktorantka otrzymała w reakcji pireno-1-karboaldehydu i odpowiedniej aminy. Autorka podkreśla, że najlepsze rezultaty otrzymała dla związków (**17a**), (**17e**) i (**17f**) (rozpuszczalnikiem był metanol). Związki (**17b-17d**) otrzymano w heksanie. Z kolei związki (**17g**) i (**17h**) otrzymano w dichlorometanie. W tym miejscu chciałbym dopytać, dlaczego nie udało się zsyntezować imin (**17i**) i (**17j**)? W jaki sposób może Pani wytłumaczyć brak sukcesu syntetycznego?

Z kolei aminofosfoniany Doktorantka otrzymała poprzez reakcję aza-Pudovika opartej



na addycji fosforynu dimetylowego, dietylowego, dibenzylowego do wiązania azometinowego zasad Schiffa (**17a-h**). W tym miejscu nasuwa się kolejne pytanie związane z wydajnościami prowadzonych reakcji. Dla większości otrzymanych produktów są one wysokie, natomiast dla związków (**18Ae**), (**18Ba**), (**18Bc**) i (**18Bd**) są niskie. Jakim czynnikiem może Pani wytłumaczyć ten fakt?

Ciekawym aspektem pracy jest wyznaczenie aktywności cytotoksycznej zsyntezowanych związków. Zbadano sześć związków (**18Aa-18Ad**, **18Ai**, **19**) względem komórek nowotworów jelita grubego HT29 i HT116 oraz komórek prawidłowych (limfocytów). Najlepsze rezultaty pozyskano dla związków **18Ab** i **18Ad** przy jednocześnie niewielkiej toksyczności względem komórek prawidłowych. W tym miejscu chciałby zapytać, jaka była droga selekcji związków do badań biologicznych. Warto również podkreślić interesujące wyniki badań związane z analizami fluoryzującymi. Pewien niedosyt budzi końcowe, w moim odczuciu dość lakoniczne stwierdzenie, że „zsyntezowane fluoryzujące związki [...] mogą okazać się użytecznymi narzędziami w różnego rodzaju badaniach fizykochemicznych i biologicznych”. Warto byłoby zdanie rozbudować o kilka przykładów zastosowań.

W pracy P2 Doktorantka przedstawiła syntezę nowych α -aminofosfonianów oraz wyniki badań ich ekotoksyczności. Warto podkreślić, że w pracy zostały także podane wszystkie dane spektroskopowe. Sądzę, że ta praca zasługuje szczególnie na uwagę, gdyż przedstawione w niej aspekty stereochemiczne oraz ekotoksyczne pozostają wciąż bardzo atrakcyjne i są niezwykle interesujące. Uważam, że najlepszą recenzją dla tych prac jest fakt, że zostały one opublikowane w prestiżowym i cenionym czasopiśmie *Molecules*. Z całą pewnością zostaje otwarta kwestia poszukiwań korelacji pomiędzy toksycznością i strukturą diskutowanych związków. Jest to niewątpliwie interesujący temat do dalszych badań.



Praca P3 obejmuje nieoczekiwany opis przebiegu reakcji Kabachnika-Fieldsa pireno-1-karboaldehydu z fosforem dibenzylowym (*H*-fosfonianem dibenzylowym) oraz aminami prowadzonej w metanolu w temperaturze 60°C. W przypadku amin alifatycznych reakcja przebiegała z transestryfikacją grupy fosforylowej i jej głównym produktem były aminofosfoniany dimetylowe, w niektórych przypadkach powstawał także hydroksyfosfonian dimetylowy. Natomiast w reakcjach aldehydów aromatycznych: furfural, tiofeno-2-karbaldehyd, *p*-anizaldehyd i benzaldehyd z fosforem dibenzylowym (*H*-fosfonianem dibenzylowym) i *n*-propyloaminą w metanolu (w warunkach, w których pireno-1-karboaldehyd dawał aminofosfonian dimetylowy jako jedyny produkt reakcji). We wszystkich przypadkach analiza widm ³¹P NMR wykazywała powstawanie mieszaniny produktów, w tym aminofosfonianu dimetylowego. Z powyższego wynika, że w badanej reakcji pireno-1-karboaldehyd zachowywał się inaczej niż inne badane aldehydy aromatyczne. Chciałbym w tym miejscu zadać kolejne pytanie Doktorantce. W jaki sposób mogłaby Pani wytłumaczyć nietypowy przebieg powyższych reakcji?

Bezpośrednią kontynuację pracy P3 jest praca P4, w której struktury amino(piren-1-ylometylofosfonianów dibenzylowych zostały szczegółowo zanalizowane za pomocą spektroskopii ¹H, ³¹P, ¹³C NMR oraz 2D NMR (COSY, HMQC). W badaniach Doktorantka wykorzystwała także spektrometrię mas. Przedstawiona analiza spektroskopowa jest pokazana w sposób bezdyskusyjny i pozwala sądzić o dużym przygotowaniu teoretycznym jak i praktycznym Pani Rodriguez Moya.

Jeśli chodzi o formalną stronę przedstawionej do recenzji pracy chciałbym podkreślić jej przejrzystość oraz dobre zilustrowanie wywodzonych tez rysunkami, schematami i tabelami. Korekta nie pozostawia wiele do życzenia. Wprawdzie zauważyłem kilka drobnych pomyłek literowych, ale uważam, że jest to praktycznie nie do uniknięcia.



Z obowiązku Recenzenta muszę wymienić drobne błędy. I tak oznaczenia podstawników powinny być w indeksie górnym, a nie dolnym (R^1 , R^2 , a nie R_1 , R_2). Schemat 1 na stronie 9 nie przedstawia mechanizmu reakcji Kabachnika-Fieldsa. Został na nim ujęty przebieg reakcji. Na Schemacie 3 (str. 11) nazwy angielskie: naphtyl, morpholine, pyrrolidine, należałoby zastąpić nazwami polskimi. Wyraźnie brakuje konsekwencji w numeracji poszczególnych związków (np. produkty na Schematach 2 i 3 mają nr 4 i 5, ale substraty już nie). Schemat 9 (str. 14), który ma przedstawiać mechanizm reakcji Pudovika jest znacząco ubogi.

Warto raz jeszcze podkreślić, że przedstawiona do recenzji praca jest złożona z czterech publikacji opublikowanych w recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona dysertacja Pani mgr Marii Rodriguez Moya spełnia wszystkie wymogi określone w ustawie o stopniach i tytułach naukowych z dnia 14 marca 2003 r. wraz z późniejszymi zmianami (Dz. U. z 2014 r. poz. 1852), a także w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Na tej podstawie wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr Marii Rodriguez Moya do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Tommaso Rospierski 15-11-2021