



POLITECHNIKA GDAŃSKA

Gdańsk 09.04.2019.

Prof. dr hab. inż. Dariusz Witt
Katedra Chemii Organicznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska
Narutowicza 11/12
80-233 Gdańsk
tel: 58 347 1851
e-mail: dariusz.witt@pg.edu.pl

Recenzja

*rozprawy doktorskiej mgr Marty Siedlarek
pt.: „Synteza α -aminofosfonianów pochodnych piorolo-2-karboksyaldehydu i 5-nitrofurfuralu
oraz ich właściwości fito- i ekotoksykologiczne”
Promotor: Prof. dr hab. Jarosław Lewkowski
Promotor pomocniczy: Dr Rafał Karpowicz*

Oceniana praca doktorska została wykonana w Katedrze Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem Prof. dr hab. Jarosława Lewkowskiego oraz dr Rafała Karpowicza. Przeprowadzone badania były finansowane w ramach grantu NCN 2014/13/B/NZ9/02418, którego Doktorantka była wykonawcą. Warto w tym miejscu dodać, że mgr Marta Siedlarek uzyskane wyniki prezentowała w formie posterów lub komunikatów ustnych na 37 konferencjach krajowych i międzynarodowych.

Na dysertację doktorską składają się 4 oryginalne publikacje doświadczalne, opublikowanych w formie artykułów pełno tekstowych. Wszystkie publikacje ukazały się w czasopiśmie o obiegu międzynarodowym. Sumaryczny *Impact Factor* publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej wynosi 11.464 co daje średni wynik na pracę 2.868. Publikacje w *Chemosphere*, *Molecules*, *Ecotoxycology* i *Chemical Papers* mieszczą się odpowiednio w pierwszym (Q1), drugim (Q2), trzecim (Q3) i czwartym (Q4) kwartyli. Te publikacje wraz ze zwięzłym wprowadzeniem, krótkim omówieniem oraz podsumowaniem, stanowią istotę nowoczesnej rozprawy doktorskiej, wpisującej się w standardy wiodących światowych instytucji naukowych z zakresu nauk ścisłych i przyrodniczych.

Strona redakcyjna opracowania doktorskiego jest dobra. Po spisie treści następuje streszczenie w języku polskim i angielskim, spis publikacji, wstęp, opis badań fito- i

ekotoksykologicznych oraz cytotoksykologicznych, opis badań własnych w oparciu o publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej, spis literatury, życiorys oraz przebieg pracy naukowej, osiągnięcia naukowe, oświadczenia współautorów oraz kopie publikacji.

Wstęp obejmuje wprowadzenie do środków chwastobójczych na wybranych przykładach. Część ta jest napisana zwięźle, ale zasadniczo wyczerpująco. Pełne omówienie herbicydów przekracza zakres recenzowanej rozprawy. Zabrakło jednak chociaż skrótego szerszego spojrzenia na środki chwastobójcze. Natomiast bardzo spodobał mi się aspekt ekologiczny, wyczerpująco omówiony przez Doktorantkę na wybranych przykładach herbicydów. W kolejnych rozdziałach 6 i 7 dotyczących związków posiadających pierścień pirolu lub grupę nitrową połączoną z aromatycznym lub heteroaromatycznym pierścieniem (furanu) zabrakło wyczerpującego uzasadnienia dlaczego te związki zwróciły uwagę Doktorantki. W rozdziale 6 zabrakło powiązania obecności pierścienia pirolu w prezentowanych związkach z ich chwastobójczymi właściwościami oraz aminofosfonianami. Natomiast w rozdziale 7 dotyczącym głównie TNT oraz nitrofuranów zabrakło precyzyjnego i jasnego powiązania z tematyką rozprawy doktorskiej. Wydaje się, że rozdziały te miały wykazać oddziaływanie tych klas związków na środowisko, a co za tym idzie, przez analogię można się spodziewać podobnego efektu aminofosfonianów posiadających te ugrupowania. Niestety analogia ta jest dość niepewna i dla odpowiednich aminofosfonianów trudna do uzasadnienia. Jeżeli wiadomo, że benzen jest rakotwórczy to wszystkie związki posiadające ten pierścień nie muszą takiej aktywności wykazywać. Rozdział 8 dotyczący aminofosfonianów jest bardzo zwięzły ale niestety naszpikowany szeregiem błędów i niedomówień. Wszystkie schematy są bardzo ogólne i nie precyzują jakie podstawniki R, R' czy Y były wykorzystywane. Dodatkowo można było go napisać lepiej bo szereg prac przeglądowych dotyczących aminofosfonianów jest dostępnych w literaturze. Natomiast rozdziały dotyczące badań fito- ekotoksykologicznych czy cytotoksykologicznych są napisane klarownie i zrozumiale, dzięki czemu lektura publikacji jest zdecydowanie łatwiejsza.

Głównym celem rozprawy doktorskiej była synteza nowych α -aminofosfonianów posiadających pierścień pirolu lub nitrofuranu oraz ocena ich właściwości fito- i ekotoksykologicznych. Doktorantka otrzymała wymienione związki, dokonała ich pełnej charakterystyki oraz w ramach współpracy oceniła ich aktywność i oddziaływanie na środowisko. Otrzymane aminofosfoniany dimetylu były racemiczne. Grupa fosfonowa posiada dwie chemicznie równo cenne grupy metoksyłowe. Natomiast widmo ^1H NMR dla

tych estrów metylowych pokazuje dwa dublety. Wyjaśnienie tego zjawiska proszę przedstawić w prezentacji.

Kwasy α -aminofosfonowe stanowią licznie reprezentowaną klasę związków chemicznych będących analogami naturalnie występujących α -aminokwasów zawierających grupę karboksylową. Z tego powodu kwasy α -aminofosfonowe są w stanie brać udział w szlakach metabolicznych zamiast aminokwasów. Natomiast różnice w budowie grupy karboksylowej i fosfonowej powodują, że kwasy α -aminofosfonowe oraz ich estry wykazują działanie inhibujące względem różnych enzymów związanych z metabolizmem aminokwasów. Aktywność biologiczna kwasów α -aminofosfonowych obejmuje również właściwości przeciwtleniające, przeciw mikrobowe, hamujące nadciśnienie, przeciwnowotworowe, jako środki ochrony roślin i zwierząt (herbicydy i insektycydy). Oczywiście z punktu widzenia ekologicznego najlepiej byłoby zaniechać stosowania chemicznych środków ochrony roślin i zwierząt. Niestety w takim przypadku zagrażałoby nam widmo głodu. Z tego powodu wiedząc, że chemiczne metody ochrony upraw i hodowli zwierząt są nieuniknione, należy poszukiwać takich herbicydów, które są w jak najmniejszym stopniu szkodliwe dla środowiska naturalnego. To nowoczesne podejście stało się przedmiotem badań w ramach pracy doktorskiej Pani Marty Siedlarek.

Typowe metody syntezy aminofosfonianów polegają na reakcji aza-Pudovika (tj. addycji H-fosfonianów do imin) lub reakcji Kabaczniaka-Fieldsa – trójskładnikowej reakcji aminy, aldehydu lub ketonu i H-fosfonianu. Pani mgr Marta Siedlarek wykorzystwała reakcję aza-Pudovika do otrzymywania α -aminofosfonianów posiadających w pozycji alfa pierścien pirołu lub nitrofuranu. α -Aminofosfoniany, prezentowane w rozprawie doktorskiej, zawierają centrum stereogeniczne na atomie węgla α , sąsiadującego z grupą fosfonową i aminową. Fakt odmiennej aktywności biologicznej różnych enancjomerów jest powszechnie znany, dlatego dziwi brak komentarza oraz prób otrzymywania estrów kwasów aminofosfonowych w sposób stereoselektywny. Uprzejmie proszę o wyjaśnienia w trakcie prezentacji.

Badania Doktorantki można podzielić na dwie części. Pierwsza dotyczyła otrzymywania α -aminofosfonianów posiadających w pozycji alfa pierścien pirołu. Wyniki te zostały zaprezentowane w dwóch publikacjach *Ecotoxicology* i *Molecules* w roku 2017. Związki te zostały otrzymane na drodze reakcji aza-Pudovika i obejmowały estry metylowe oraz fenyłowe. Natomiast podstawnik aryłowy połączony z grupą aminową posiadał dodatkowe podstawniki takie jak grupa metylowa, metoksyłowa, atom chloru czy bromu. Nie znalazłem racjonalnego uzasadnienia takiego doboru. Oczywiście jest, że nie ma możliwości przebadania wszystkich wariantów ale dobór pochodnych aniliny do syntezy nie może być

wyłącznie uwarunkowany handlowym dostępem do tych związków. Tym nie mniej, przeprowadzone badania pozwoliły na ustalenie pewnych zależności. Dla estrów dimetylowych najsilniejszą toksyczność w stosunku do bakterii *Aliivibrio fischeri* oraz skorupiaków *Heterocypris incongruens* wykazały pochodne **2c** i **2f** posiadające podstawnik p-metylofenylowy lub p-metoksyfenylowy na grupie aminowej. Ich aktywność pokrywała się również z fitotoksycznością, która była umiarkowana i pozbawiona selektywności. Z tego powodu nie można oczekiwać ich zastosowania jako herbicydy ale należy pamiętać o ich toksyczności dla środowiska naturalnego. Natomiast w przypadku estrów fenylowych aminofosfonianów zaobserwowano, że związek **4b** okazał się bardziej toksyczny dla bakterii *Aliivibrio fischeri* a związki **4a** i **4e** były bardziej toksyczne dla skorupiaków *Heterocypris incongruens*. Pozostałe związki **4c-d** wykazały umiarkowaną toksyczność w stosunku do bakterii *Aliivibrio fischeri* oraz skorupiaków *Heterocypris incongruens*. Różnice prawdopodobnie wynikają z odmiennego metabolizmu bakterii i skorupiaków. Nie zmienia to faktu, że wprowadzenie dużych ilości tego typu herbicydów jest wstania zniszczyć istniejącą równowagę w środowisku naturalnym.

Druga część prac badawczych przeprowadzonych przez Doktorantkę dotyczyła otrzymywania *N*-aryloamino-(5-nitrofur-2-ylo) metylofosfonianów dimetylu (dietylu lub difenyłu) w wyniku reakcji aza-Pudovika. Rezultaty zostały opublikowane w *Chemosphere* 2017 i *Chemical Papers* 2018. Generalnie wszystkie związki wykazały się ekotoksycznością, która obejmowała wyższe rośliny lądowe (owies i rzodkiewka) (*Avena sativa* i *Raphanus sativus*), skorupiaki (*Heterocypris incongruens*) oraz gram ujemne bakterie (*Aliivibrio fischeri*). Pochodne *N*-metoksyfenylowe wykazały wyższą toksyczność w stosunku do owsa i rzodkiewki, natomiast pochodne *N*-metylofenylowe były bardziej toksyczne dla skorupiaków i bakterii. Opis osiągnięć Doktorantki w rozdziale 11.6 dotyczący publikacji w *Chemical Papers* 2018 jest zbyt skromny. Synteza prezentowanych związków oczywiście oparta jest o reakcję aza-Pudovika ale ich aktywność przeciwbakteryjna opisana jest zbyt powierzchownie. Lektura wspomnianej publikacji jest bardzo interesująca bo estry dimetylowe *N*-aryloamino-(5-nitrofur-2-ylo) metylofosfonianów **2b**, **2c** i **2f** okazały się być toksyczne w stosunku do odpornych na metycylinę szczepów gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*). Niestety związki te były również bardzo toksyczne dla linii komórkowych L929 oraz HeLa. Dowodzi to, że otrzymane związki są toksyczne dla każdego organizmu żywego co właściwie wyklucza ich praktyczne wykorzystanie. W publikacji tej autorzy wspominają o możliwości odmiennej aktywności enancjomerów estrów *N*-aryloamino-(5-nitrofur-2-ylo) metylofosfonianów ale Doktorantka nic o tym nie wspomina oraz nie komentuje w rozdziale 11.6.

Wypełniając obowiązki i korzystając z przywileju recenzenta pragnę wspomnieć poniżej o pewnych nieścisłościach o charakterze redakcyjno-korektorskim jakie zanotowałem w trakcie lektury autoreferatu. Niestety jest ich zbyt wiele, dlatego wybrałem tylko kilka.

- 1) Nazewnictwo związków jest w wielu miejscach niepoprawne. Wynika to ze spolszczenia nazw angielskich np. strona 4 linia 5 „dimetyloamino(2-pirolilo)metylofosfonianów” powinno być amino-(piro-2-ylo)metylofosfonianów dimetylu.
- 2) Liczne błędy w rysunkach i schematach, rys 3 i 4 str. 11, schemat 2 str.17, schemat 3 i 4 str.18, schemat 7 str.27,
- 3) Błędy językowe: str. 13 „Synteza związków chemicznych zawierających pirolowym układ pierścieni...”, „antybakteryjne struktury”, str. 15 „...większość TNT (80-85%) transformowana jest na drodze [cytat].”, str.16 „metabolitów zawierających pochodnych hydrazyny”, str. 18 „karbaminiany benzyłowy”
- 4) Jak wygląda podstawnik 5-nitrofurfuryłowy rozdział 11.5 i 11.6 str. 30 i 31 ?
- 5) Proszę o wyjaśnienie schematu 2 str.17. Powinien on dotyczyć otrzymywania kwasu aminofosfonowego ale produkt końcowy na schemacie jest fosforanem.

Przedstawione powyżej uwagi dotyczące pewnych nieścisłości o charakterze redakcyjno-korektorskim nie mają wpływu na pozytywną całościową ocenę rozprawy. Jej lektura dowodzi, że postawione cele syntetyczne zostały w pełni zrealizowane a Doktorantka jest chemikiem-organikiem zdolnym do rozwiązywania istotnych zadań obejmujących planowanie i wykonanie transformacji chemicznych. Godny uwagi jest również fakt, że otrzymane związki w ramach współpracy zostały przebadane pod kątem ich fito- i ekotoksyczności. W świetle tej oceny stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa spełnia wymogi ustawowe stawiane pracom doktorskim i wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie Pani mgr Marty Siedlarek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

