

Prof. dr hab. Inż. Jacek Skarżewski
Zakład Chemii Organicznej, Wydział Chemiczny
Politechnika Wrocławska, Wyb. Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław
Tel.: (071) 320 2464
E-mail: jacek.skarzewski@pwr.wroc.pl

Wrocław, 1 sierpnia 2018

Opinia

o pracy doktorskiej pani mgr inż. Marleny Pięty pt. “Stereoselektywna synteza 3-metylidenodihydrochinolin-2(1H)-onów oraz 5-metylidenodihydrouracyli posiadających aktywność cytotoksyczną”

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska opisuje badania przeprowadzone przez Autorkę pod kierunkiem pana prof. dr hab. Tomasza Janeckiego w Instytucie Chemii Organicznej na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej. Praca ta stanowi kontynuację studiów wcześniejszych i związana jest z tematyką badawczą uprawianą od wielu lat w kierowanej przez prof. T. Janeckiego grupie badawczej. Ostatnio badania dotyczą wykorzystania reagentów Hornera-Wadswortha-Emmonsa do syntezy biologicznie ważnych 2-alkilideno-1-oksoheterocykli, a projekt ten był wspierany grantem NCN (Opus 4). Prace takie, poza wątkiem ściśle chemicznym, mają także istotny aspekt farmakologiczny. Otrzymywane produkty testowane są ze względu na ich możliwe zastosowania jako środki przeciwnowotworowe, a niektóre z nich wykazują obiecującą aktywność cytotoksyczną.

Zamiarem Autorki było wykorzystanie reakcji Hornera-Wadswortha-Emmonsa (HWE) do wprowadzenia do cząsteczek dihydrochinolin-2(1H)-onów i 5-dihydrouracyli egzocyklicznych grup metylenowych i otrzymanie w ten sposób kolekcji różnie podstawionych pochodnych, które mogą wykazywać pożądaną cytotoksyczność. Chcąc zbadać wpływ konfiguracji w podstawionych chiralnych pochodnych, Doktorantka

zamierzała w substratach do reakcji HWE przekształcić grupę dietoksyfosforylową w enancjomeryczne diaminofosfoniany przy użyciu (*R*) i (*S*)-1-feniloetyloaminy. Wybrana strategia syntezy odwołuje się zatem do zastosowania chiralnego pomocnika. Właściwe chiralne prekursory otrzymywane miały być na drodze addycji Michaela do odpowiednich α -fosforylo- α , β -nienasyconych laktamów. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż zastosowanie wybranego, łatwo dostępnego pomocnika nie miało dotąd precedensów w literaturze chemicznej. Praca jest w istocie poświęcona syntezie docelowej nowych, ważnych związków. W ogólnym zarysie przedstawiona analiza retrosyntetyczna wykorzystuje opracowaną wcześniej we własnym laboratorium metodę otrzymywania potrzebnych prekursorów, ale tym, co stanowi o nowości i znaczeniu przeprowadzanych prac, obok wspomnianego już zastosowania grupy bis(1-feniloetyloamino)fosforylowej, jest uzyskanie i zbadanie cytotoksyczności nieopisanych dotąd produktów docelowych. Tak postawione i skutecznie zrealizowane zadanie badawcze oceniam bardzo wysoko.

Dysertacja napisana jest w sposób klasyczny. Rozpoczyna ją wstęp, w którym sprecyzowane zostały ogólne zamierzenia badawcze, stanowiące zarazem tezę rozprawy doktorskiej. Zamierzenia te zostały jeszcze powtórzone we wstępie do rozdziału opisującego własne doświadczenia Doktorantki. W rozdziale zatytułowanym „Część referatowa” na 66 stronach zostało omówione użycie fosfonianowych i amidofosfonianowych pomocników chiralnych. Przedstawione zostały wypracowane skuteczne metody otrzymywania takich połączeń oraz ich zastosowania w syntezie asymetrycznej. Obok innych, w szczególności omówione zostały prace grup S. E. Denmarka oraz S. Hanessian. W tej części zacytowano ok. 60 prac oryginalnych, w większości z lat 1990. Na podkreślenie zasługuje kompetentne przytoczenie rozważań stereochemicznych (modeli) w połączeniu z obserwowanymi wynikami indukcji asymetrycznej. W interesująco napisanym tekście znalazłem tylko kilka drobnych niedoskonałości, np. str. 24 „Hydroliza zasadowa w rozcieńczonym kwasie solnym ...”, str. 63: co to jest „dokładna czystość optyczna”?

W sumie, ten fragment dowodzi zarówno kompetencji Doktorantki, jak i znaczenia oraz ogólnej użyteczności wybranej do własnej realizacji strategii. Sam tekst napisany jest zrozumiale i świadczy o dobrej znajomości zarówno ogólnych zasad syntezy organicznej, jak i głównych rezultatów prac poprzedników.

Na początku celem własnych prac doświadczalnych było efektywne otrzymanie kluczowych związków pośrednich w syntezie. Po zmodyfikowaniu procedur literaturowych Doktorantka z aldehydu o-aminobenzoesowego, po cyklizacji, otrzymała 3-dietoksyfosforylochinolin-2-on z 44% wydajnością. Jednak skuteczniejsza była metoda wykorzystująca aldehyd o-nitrobenzoesowy i cyklizację po redukcji grupy nitrowej dająca 78% tego samego produktu. Po przeprowadzeniu N-alkilowania nienasycony laktam poddawano addycji-1,4 związków Grignarda uzyskując odpowiednie fosfoniany o konfiguracji *trans*. Transformacja fosfonianu z formaldehydem w obecności zasady dawała końcowe, racemiczne 3-metylidenodihydrochinolin-2(1H)-ony. W celu otrzymania stosownych pochodnych 5-dietoksyfosforylouracylu mgr Pięta zastosowała reakcję kondensacji N-podstawionych dietoksyfosforyloacetamidów z diacetalem DMF, a potem wymianę dimetyloaminy w reakcji z pierwszorzędowymi aminami (addycja-eliminacja). Kolejny etap polegał na zamknięciu pierścienia z fosgenem. Cała ta synteza wymagała licznych eksperymentów optymalizacyjnych. Otrzymane pochodne poddano reakcji addycji-1,4 ze związkami Grignarda, a także redukcji. W rezultacie otrzymano racemiczne produkty, w przypadku addycji-1,4, o konfiguracji *trans*. Cykl przemian kończyła reakcja HWE i wprowadzenie do układu uracylu sprzężonej grupy metylidenowej. Prace podjęte w ramach następnego etapu zmierzały do wprowadzenia podstawnika alkilowego lub aryłowego w sposób stereokontrolowany. W tym celu dietoksyfosfoniany przekształcono w odpowiednie dichlorki kwasów fosfonowych, aby po reakcji z enancjomeryczną 1-feniloetyloaminą uzyskać odpowiednie chiralne bis-amidy. Analogiczne jak poprzednio reakcje z odczynnikami Grignarda dały *trans*-addukty, teraz ze znaczną przewagą jednego diastereomeru. Co więcej, po chromatografii kolumnowej udział głównego izomeru wzrastał nawet do ca. 99% d.e. Jak pokazały widma NMR, a przede wszystkim analiza rentgenostrukturalna monokryształów, konfiguracja nowych centrów stereogenicznych dla większościowych produktów była *like*, tj. *R* pomocnik generował *R,R* konfiguracje, a *S* pomocnik dawał głównie *S,S*-produkt. Podobnie jak poprzednio dla pochodnych racemicznych, tutaj także pochodne fosfonianowe zostały poddane reakcji HWE i otrzymano odpowiednie kolekcje tytułowych związków w postaci enancjomerycznej. Co więcej, część z nich została otrzymana w obu enancjomerycznych formach, a wcześniej jako racemat. Pozwoliło to na zbadanie wpływu budowy stereochemicznej tych połączeń

na ich właściwości cytotoksyczne. Jak wynika z przytoczonych oznaczeń IC_{50} , tylko w nielicznych przypadkach obserwowano 2-4 krotne zmiany tego parametru. Dysertacja nie przynosi szerszej dyskusji zmian właściwości cytotoksycznych pod wpływem zmian strukturalnych. Jest to zupełnie zrozumiałe, bo praca dotyczy chemii, syntezy, w tym syntezy asymetrycznej.

Ogólnie chemiczna część zadania została wykonana z powodzeniem, a otrzymane pośrednie i końcowe produkty zostały poprawnie scharakteryzowane i opisane. Budowę otrzymywanych związków przekonująco potwierdziły przeprowadzone badania strukturalne. Ten fragment prac zasługuje w mej opinii na uznanie. Szkoda jednak, że Doktorantka tak sprawnie opisująca modele stereochemiczne w części referatowej, sama nie pokusiła się o przedstawienie hipotezy mechanistycznej (modelu stanu przejściowego) wyjaśniającej obserwowaną przez Nią indukcję asymetryczną. Warta docenienia jest zademonstrowana biegłość w wydzielaniu produktów oraz sprawna interpretacja widm i właściwe wnioski dotyczące struktury wyciągnięte na podstawie technik ^{31}P , ^{13}C i 1H NMR. Na szczególne podkreślenie zasługuje także rozmiar wykonanej pracy: w dysertacji opisano aż 194 nowe związki!

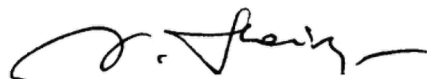
Rozprawa jest napisana poprawnym językiem, a stosowana nomenklatura chemiczna jest moim zdaniem prawidłowa. Do obowiązków recenzenta należy jednak wskazanie dostrzeżonych pomyłek i błędów redakcyjnych. Jest ich naprawdę bardzo niewiele. Mój protest budzi „niedoreagowanie” (str. 86) oraz „...do roztworu wodoru sodu (1,2 ekw.)w DMF ...” (str. 89).

Dostrzeżone usterki redakcyjne nie deprecjonują wartości naukowej przeprowadzonych badań, które oceniam jako znakomite. Podkreślam tu zwłaszcza znaczenie naukowe wprowadzenia do syntezy asymetrycznej nowego pomocnika chiralnego, bardzo duży zakres wykonanych prac oraz dobre opanowanie przez Autorkę warsztatu chemika-syntetyka i poprawne posługiwanie się metodami analizy strukturalnej. Oryginalne rezultaty opisane w dysertacji były już przedstawione w trzech znakomitych publikacjach: *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 1891-1893; *RSC Adv.* **2015**, 5, 78324-78335; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2017**, 28, 567-576, a we wszystkich tych pracach pani mgr Pięta jest pierwszym autorem. Dodatkowo, dołączone do tych publikacji materiały uzupełniające dokumentują zarejestrowane wyniki analityczne,

potwierdzające rzetelność rezultatów. Publikacje te znalazły już oddźwięk w literaturze naukowej. Wg. WoS pierwsza praca była już cytowana 3 razy, a druga 4 razy.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia z naddatkiem wymogi stawiane takim pracom przez Ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz. U. z 2003, Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) i wnoszę o dopuszczenie pani mgr Marleny Pięty do dalszych etapów przewodu.

W oddzielnym piśmie proszę Radę Wydziału o rozważenie wyróżnienia recenzowanej pracy.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. Pięty', with a long horizontal flourish extending to the right.