



Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii
Katedra Chemii Organicznej & Stosowanej
Tamka 12, PL-91-403 Łódź
Tel. (48)(42) 635-57-61; Fax: (48) (42) 665-51-62
e-mail: grzegorz.mloston@chemia.uni.lodz.pl

prof. dr hab. Grzegorz Mloston

Łódź, 28 sierpnia 2018 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ, ZATYTUŁOWANEJ

‘Stereoselektywna synteza 3-metylidenodihydrochinolin-2(1*H*)-onów oraz 5-metylidenodihydrouracyli posiadających aktywność cytotoksyczną’

złożonej przez mgr inż. Marlenę PIETĘ Radzie Wydziału Chemicznego Politechniki Łódzkiej w celu uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych

Przesłana do oceny rozprawa doktorska została przygotowana w latach 2013-2018 pod opieką naukową Pana prof. dr hab. inż. Tomasza Janeckiego, znanego nie tylko w polskim, lecz także zagranicznym środowisku chemicznym specjalisty w zakresie badań nad rozwojem metod syntezy związków heterocyklicznych, potencjalnie użytecznych do celów chemii medycznej. W jego badaniach, charakterystyczną cechą jest szerokie wykorzystanie narzędzi syntezy organicznej oferowanych przez chemię związków fosforoorganicznych. Na ogół dużą, jeżeli nie najważniejszą rolę odgrywają także problemy stereochemiczne, a w szczególności otrzymywanie końcowych, chiralnych produktów w formie związków nieracemicznych, co ma podstawowe znaczenie przy późniejszej ocenie aktywności biologicznej każdego z rozseparowanych enancjomerów. Tak więc, w jego Zespole szeroko wykorzystywane są metody syntezy asymetrycznej, pozwalające na otrzymanie związków enancjomerycznie czystych lub co najmniej enancjomerycznie wzbogaconych. Tematykę recenzowanej rozprawy i metody zastosowane do realizacji zamierzonych celów odczytuję jako kontynuację badań prowadzonych od kilku dziesięcioleci w ‘Łódzkiej Szkole Chemii Związków Fosforoorganicznych’ na Wydziale Chemicznym PŁ.

Zadanie, które postawił przed Doktorantką prof. T. Janecki poległo na opracowaniu metod syntezy fosforylowanych oraz pozbawionych grupy fosforylowej nowych pochodnych chinolin-2-onu oraz uracylu. Oprócz achiralnych dietoksy estrów włączono do badań także *C*-chiralne diamidy, w których rolę grup chiralnych (pomocników chiralnych) pełniły fragmenty α -metylobenzyloaminy (tradycyjna nazwa jednej z najpopularniejszych amin I-rzędowych, dostępnych komercyjnie w formach czystych enancjomerów (*R*)- oraz (*S*)-). Szczególne nadzieje wiązano z pochodnymi 3-metylideno chinolin-2-onów oraz 5-metylideno uracylu, które otrzymywano z odpowiednich

pochodnych fosforylowanych w wyniku olefinacji przeprowadzonej metodą HWE (Hornera-Wadswortha-Emmons). Chodziło więc o wykonanie bardzo rozległego programu badań syntetycznych, a następnie poddanie otrzymanych produktów testom aktywności biologicznej. Celem podjętych prac było więc otrzymanie w czystej postaci dużej kolekcji nieznanych dotychczas związków heterocyklicznych, dla których można było oczekiwać, opierając się na licznych doniesieniach literaturowych, aktywności biologicznej, głównie aktywności cytotoksycznej.

Nie ma większej potrzeby szczegółowego omawiania zrealizowanych przez Doktorantkę badań. Chciałbym jednak podkreślić, że pomimo wielu napotkanych po drodze trudności udało się osiągnąć wszystkie założone na początku cele i następnie przetestować aktywność biologiczną kilkudziesięciu nowych pochodnych chinolin-2-onu oraz uracylu.

Droga do uzyskania końcowych produktów prowadziła od podstawowych bloków budulcowych, którymi były proste związki fosforoorganiczne, takie jak *N*-podstawione (dietoksy)fosforyloacetamidy, z fragmentami aldehydu *o*-amino benzoowego (dla pochodnych chinolin-2-onu) oraz I-rzędowych amin alifatycznych (dla pochodnych uracylu). Jako kluczowe etapy konstrukcji podstawowych pierścieni heterocyklicznych Doktorantka zastosowała reakcje heterocyklizacji przeprowadzone w warunkach zoptymalizowanych po przeprowadzeniu wielu eksperymentów wstępnych. W pierwszej serii zastosowano cyklizację wyjściowego amidu w obecności piperydiny, a w drugiej heterocyklizację przygotowanego wcześniej enamino amidu typu **82** z użyciem niezawodnego fosgenu COCl₂. Optymalizacja tej procedury wymagała od Doktorantki bardzo dużo pracy, gdyż próby zastąpienia reaktywnego fosgenu mniej hazardowymi odczynnikami, jak np. trifosgenem dawały bardzo niezadawalające rezultaty. Uwodorowania 6-członowych pierścieni heterocyklicznych przeprowadzono z dużym powodzeniem używając do tego celu *L*-selektrydu w roztworze tetrahydrofuranu. Kolejny etap realizowany w obydwu seriach pochodnych fosforylowych, polegał na olefinowaniu pierścieni heterocyklicznych w oparciu o dobrze znaną reakcję HWE. W tym miejscu chciałbym zgłosić moją pierwszą uwagę krytyczną zaznaczając, że w badanych reakcjach to raczej formaldehyd był odczynnikiem olefinującym pierścienie heterocykliczne, a nie odwrotnie (w kilku miejscach, np. a str. 7, Doktorantka pisze o 'olefinacji aldehydu mrówkowego).

Kolejnym etapem pomyślnie zrealizowanych badań było przeprowadzenie pochodnych (dietoksy)fosforylowych w dichlorki kwasów fosfonowych, które bez oczyszczania traktowano enancjomerycznie czystą (*R*)- lub (*S*)-fenyloetyloaminą (**98**) dochodząc w ten sposób, po prostej procedurze chromatograficznej, do enancjomerycznie czystych diamidofosfonianów. Ostatni nurt całego cyklu syntetycznego, ważny do podkreślenia w tekście recenzji, polegał na wysoce diastereoselektywnym alkielowaniu uwodorowanych pochodnych fosforylowych i następnej reakcji HEW prowadzącej do

enancjomerycznie czystych pochodnych metylidenowych z podstawnikiem alkilowym ulokowanym przy chiralnym atomie węgla, obok grupy metylidenu, po przeciwnej stronie grupy karbonylowej. Takie, enancjomerycznie czyste alkilo-metylideno pochodne zostały przygotowane z dobrymi wydajnościami, zarówno w szeregu pochodnych chinoliny jak i uracylu.

Końcowa faza prac eksperymentalnych, polegająca na zbadaniu aktywności biologicznej otrzymanych dwóch serii związków zarówno w formie racematów jak i czystych enancjomerów, została przeprowadzona w pracowniach Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Te badania miały na celu zbadanie ich aktywności anty-nowotworowych wobec linii komórkowych ostrej białaczki szpikowej HL-6 i limfoblastycznej NLM-6, a także linii komórkowych raka piersi MCF-7. W większości przypadków stwierdzono aktywności niskie do umiarkowanych. Z kolei, w serii związków enancjomerycznie czystych nie stwierdzono znaczących różnic aktywności cytotoksycznej dla obydwu badanych enancjomerów.

W podsumowaniu ogólnej charakterystyki opisanych badań, pragnę stwierdzić, że Doktorantka zrealizowała obszerny program prac eksperymentalnych posługując się nowoczesnymi narzędziami syntezy organicznej, wykorzystując na każdym etapie metody spektroskopowe, głównie spektroskopię ^1H - oraz ^{31}P -NMR, jako podstawowe metody diagnostyczne dla monitorowania przebiegu reakcji oraz ustalania struktury otrzymywanych produktów. W kilku przypadkach proponowane struktury otrzymanych związków końcowych zostały jednoznacznie potwierdzone wynikami analizy rentgenostrukturalnej. Te wszystkie walory pozwalają na stwierdzenie, że przedstawiana do recenzji rozprawa spełnia wszystkie wymagania merytoryczne, a opisane samodzielnie i już częściowo opublikowane wyniki, nie budzą najmniejszych wątpliwości, że Pani Marlena Pięta jest ich głównym autorem.

Rozprawa została przygotowana w klasycznej formie i stanowi bardzo obszerne opracowanie przedstawione na 251 stronach wydruku komputerowego. Nie ukrywam, że rzetelna lektura takiego tekstu jest dla recenzenta sporym wyzwaniem i bardzo czasochłonnym zajęciem. Na całość rozprawy składa się 7 rozdziałów, w tym 3 główne, dotyczące 'Części referatowej' (68 stron), 'Badań własnych' (66 stron) oraz najobszerniejszej 'Części doświadczałnej' (98 stron). Wszystkie zostały przygotowane starannie i są wzbogacone o przejrzyste schematy oraz liczne tabele niezbędne dla właściwej analizy ponadprzeciętnie obszernego materiału eksperymentalnego. Opisy uzyskanych produktów są wystarczające dla potwierdzenia ich struktury. Czystość próbek nowych związków została potwierdzona nie tylko metodami spektroskopowymi, lecz także wynikami analizy elementarnej, co niestety, zdarza się coraz rzadziej w obecnie przygotowanych rozprawach doktorskich. Opisy ciał stałych zawierają

oznaczone temperatury topnienia, które zawsze stanowią ważną część dokumentacji właściwości fizyko-chemicznych nowych związków organicznych.

W logiczny sposób, w ‘Części referatowej’ przedstawiono w formie opracowania przeglądowego zagadnienia ważne dla późniejszej dyskusji własnych wyników. Szczególnie ciekawie wypada zawartość Części 3.3., w której zreferowano wykorzystanie amidofosfonianowych i fosfonianowych pomocników chiralnych. Przy lekturze tego tekstu, wbrew wcześniejszym oczekiwaniom okazało się, że chodzi o grupy *C*-chiralne (a nie *P*-chiralne), a szczególne znaczenie w zakresie omawianych zastosowań posiadają związki aminowe, a szczególnie (*R,R*)- oraz (*S,S*)-enancjomery *trans*-1,2-diaminocykloheksanu, znanego pod kryptonimem DACH. Zebrane przykłady pokazują raz jeszcze jak ważny jest ten związek w szeroko rozumianej syntezie asymetrycznej.

Ogólnie można stwierdzić, że rozprawa daje się dobrze czytać jako tekst opisujący problemy chemii organicznej. Niemniej znalazłem w nim sporo miejsc, które wymagają korekty językowej lub dodatkowych wyjaśnień w trakcie obrony, np.

- 1) Problem ‘olefinowania formaldehydu’ zasygnalizowałem już wcześniej i proszę o komentarz w tej sprawie.
- 2) Str. 6 (i kilka innych): prowadzone tutaj terminy ‘.... aktywnych hybryd ...’ oraz ‘..... nowe, hybrydowe układystr. 8)’ stanowią swego rodzaju neologizmy w nazewnictwie chemicznym i moim zdaniem nie ma potrzeby wprowadzania go do języka fachowego, którym opisuje się problemy chemii organicznej. Domyślam się, że jest to próba zastąpienia takich terminów jak ‘związki policykliczne/poliheterocykliczne’ lub ‘pierścienie skondensowane’.
- 3) Uwaga ogólna: zgodnie z przyjętymi zasadami opisywania wyników z zakresu chemii organicznej, numery przypisywane związkom podawanym z pełnymi nazwami, powinny być ujęte w nawiasy.
- 4) Str. 7: ‘Znaczna ilość spośród tych związków’ powinno zostać zastąpione przez: ‘Znaczna liczba tych (lub takich) związków’
- 5) Str. 9: ‘.... w roli spełniającej definicję pomocnika chiralnego’ Powinno zostać zastąpione przez ‘... w roli pomocnika chiralnego ...’
- 6) Str. 10: ‘.... alkilidenofosforan **1** w reakcji Wittiga ...’ byłoby lepiej zastąpić przez ‘... ylid fosforowy **1** w reakcji Wittiga’
- 7) Str. 11: ‘Czystość optyczna nie była duża i wynosiła 5-17%.’ Należałoby zastąpić ‘Czystość optyczna była bardzo mała i wynosiła tylko 5-17%.’
- 8) Str. 24: ‘Hydrolyza zasadowa w rozcieńczonym kwasie solnym’ – to chyba spore nieporozumienie wymagające korekty, prawda ?

- 9) Str. 45 (także str. 65): ‘... użyto triflalu metylu’ powinno być skorygowane na ‘... użyto triflanu metylu ...’ (dla estrów organicznych opisywanych w j. polskim, należy stosować nazwy: sulfonianów, tosylianów, octanów, benzoesanów, etc.)
- 10) Str. 53: na tej stronie 2-metylocyklopentenon jest opisany jako związek **146** (dwa razy !), natomiast na Schemacie 40 (ta sama strona) ma on numer **145**. Jeden z tych numerów należy skorygować.
- 11) Str. 55: Związki o wzorze ogólnym **175** (Schemat 3.41) to etery oksymów, a nie oksymy ! Pomiedzy obydwoma klasami związków organicznych występują duże różnice właściwości chemicznych, m.in. ważny jest problem właściwości kwasowo-zasadowych !
- 12) Str. 94 (także str. 67): nie jestem zwolennikiem stosowania określenia ‘związki zawadzone przestrzennie’ i dlatego, zamiast ‘mniej zawadzonego ‘zagłębienia’ w karboanionie’ proponowałbym stosować określenie ‘zagłębienie mniej osłonięte zawadą przestrzenną ...’
- 13) Str. 63: co oznacza opis ‘... po wygaszeniu reakcji zimnym kwasem octowym ...’ ? Domyślam się, że chodziło o ‘lodowaty kwas octowy’, co jest tradycyjnym określeniem dla czystego, 100%-owego kwasu octowego.
- 14) Str. 65, Schemat 3.48: zamiast acetonitrylu CH_3CN jako zastosowanego rozpuszczalnika, w schemacie podano izonitryl metylu CH_3NC !
- 15) Str. 71: proszę o wyjaśnienie używanego na tej stronie pojęcia ‘.. czwartorzędowe cyajnohydryny ...’
- 16) Str. 109: co miałyby oznaczać określenie: ‘... swobodne ogrzewanie ...’ ? Nie ma ono zastosowania w używanej terminologii preparatyki organicznej i domyślam się, że chodziło o ‘... powolne (lub łagodne) ogrzewanie’.

Przedstawione uwagi krytyczne nie obniżają mojej wysokiej oceny wyników opisanych i skomentowanych w recenzowanej rozprawie doktorskiej. Znaczna część uzyskanych wyników została już opublikowana w 3 pracach zamieszczonych w uznanych czasopismach obiegu międzynarodowego (łączna wartość IF wynosi 7.255) oraz zaprezentowana na IV Sesji Wyjazdowej Doktorantów PŁ (Rogów 2014). Ponadto, wiadomo mi, że kolejna publikacja znajduje się w ostatniej fazie przygotowania przed wysłaniem do redakcji *Molecules*. Warto również zaznaczyć, że część rozprawy została zrealizowana w ramach Grantu OPUS, w latach 2013-2016.

Po zapoznaniu się z rozprawą złożoną przez Panią mgr inż. Marlenę Piętę oraz jej osiągnięciami publikacyjnymi, uważam, że zostały spełnione wszystkie wymagania formalne oraz obyczajowe stawiane kandydatom do uzyskania stopnia doktora w zakresie nauk chemicznych, w dyscyplinie chemia

organiczna. W oparciu o takie stwierdzenie, zwracam się do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Łódzkiej z wnioskiem o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów postępowania w jej przewodzie doktorskim.

Ponadto, mając na uwadze wyjątkowo szeroki zakres przeprowadzonych prac eksperymentalnych, wartość uzyskanych, pozytywnych wyników, interdyscyplinarny charakter pracy oraz dorobek publikacyjny związany z opisanym projektem, zgłaszam rozprawę Pani mgr inż. Eweliny Pięty do wyróżnienia na zasadach przyjętych na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej.

KIEROWNIK
KATEDRY CHEMII ORGANICZNEJ
I STOSOWANEJ
prof. zw. dr hab. Grzegorz Mlostof