



WYDZIAŁ  
CHEMII

Uniwersytet Łódzki  
Katedra Chemii Organicznej

Łódź, dnia 12 października 2018 r.

**RECENZJA ROZPRAWY ZATYTUŁOWANEJ**  
**„Poszukiwanie biologicznie aktywnych azapurynowych analogów**  
**nukleotydów”**

**Złożonej przez Panią magister Annę HARTWICH w celu uzyskania stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Anny Hartwich została przygotowana w Zakładzie Chemii Bioorganicznej Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem Pani dr hab. Iwony E. Głowackiej.

Tematycznie osadzona jest ona w szeroko rozumianym obszarze chemii nukleotydów i ich analogów, który to temat od lat stanowi naukową wizytówkę Zakładu Chemii Bioorganicznej.

Rozprawa doktorska została przygotowana w formie liczącego 176 stron opracowania (książki). Składają się na nie *Wstęp*, *Część literaturowa*, *Badania własne*, *Podsumowanie wyników*, *Wnioski*, *Część doświadczalna* i *Bibliografia*. Organizacja tekstu jest logiczna i pozwalająca bez problemów podążać za tokiem narracji Autorki. Należy stwierdzić, że rozprawa została przygotowana w sposób bardzo staranny i dobrze uwypukla osiągnięcia doktorantki.

We *Wstępie* oraz *Części literaturowej* Doktorantka skupia się na przedstawieniu zagadnień związanych z otrzymywaniem, przemianami chemicznymi i aktywnością biologiczną 8-azapurynowych analogów nukleotydów. Przedstawione są tu również ogólne wiadomości dotyczące znaczenia nukleotydów, jako elementów budulcowych kwasów nukleinowych jak i znaczenie ich syntetycznych analogów w medycynie, jako leków o aktywności

tel. 42 635 57 50

ul. Tamka 12, 91-403 Łódź

e-mail: kchemorg@uni.lodz.pl

[www.chemia.uni.lodz.pl/kchorg](http://www.chemia.uni.lodz.pl/kchorg)

przeciwwirusowej i przeciwnowotworowej. Autorka, stosując schematy reakcji oraz analizę retrosyntetyczną omawia strategie otrzymywania 8-azapuryny, 8-azahipoksantyny, 8-azaguaniny i 8-azaadeniny. W dalszej części rozdziału Doktorantka przedstawia syntezę prowadzące do nukleozydów 8-azapurynowych (8-azanebularyny, 8-azaksantozyny, 8-azatioksantozyny, 8-azainozyny, 8-azaadenozyny i 8-azaguanozyny) oraz karbocyklicznych 8-azapurynowych analogów nukleozydów. Omawiane sekcje Rozprawy napisane są w sposób znamionujący dużą wiedzę i rozeznanie Doktorantki w tematyce chemii modyfikowanych nukleotydów. Drobną uwagą, jaką można mieć do tej części pracy jest to, że Autorka w dość małym stopniu cytuje najnowsze publikacje (z ostatnich 2-3 lat).

Na początku rozdziału *Badania własne* (strony 35-36) Autorka jasno definiuje cele swojej pracy. W zakresie chemii organicznej celem było otrzymanie czterech grup modyfikowanych acyklicznych analogów nukleotydów. Były to fosfonianowe pochodne pirymidyn-4-onu ze skondensowanym fragmentem 1,2,3-triazolowym (pochodne 8-azahipoksantyny), fosfonowe pochodne odpowiednio 1-deaza-8-azapuryny, 1-deazapuryny i 1-deazapuryn-8-onów. Uzasadnieniem otrzymywania ww. grup cząsteczek była chęć poznania ich aktywności biologicznej a konkretnie ustalenie wpływu budowy łańcucha łączącego modyfikowaną nukleo zasadę z grupą fosfoorganiczną na aktywność biologiczną. Kluczowym etapem otrzymywania fosfonianowych pochodnych z ugrupowaniem 1,2,3-triazolopirymidynowym była reakcja cykloaddycji odpowiednich azydoalkilofosfonianów z 2-cyjanoacetamidem. Natomiast pozostałe połączenia otrzymywała Doktorantka na drodze 4-etapowych syntez, których przebieg przedstawiono na schemacie 33 strona 36. Na kolejnych stronach rozdziału *Badania własne* omawiane są szczegółowo konkretne procedury eksperymentalne prowadzące do tytułowych cząsteczek. W pierwszej kolejności dyskutowane są syntezы azydoalkilofosfonianów **26a-k** a następnie ich reakcje cykloaddycji z 2-cyjanoacetamidem prowadzące do 5-amino-4-karbamoilo-1,2,3-triazoli **27a-f**. Karbamoilowe produkty pośrednie były

następnie przekształcane w finalne pochodne 8-azahipoksantyny **28a-f, i-k** na drodze reakcji cyklizacji z ortomrówczanem trietylu. W dalszej części rozdziału Doktorantka dokładnie opisuje stosowane przez nią metody otrzymywania aminoalkilofosfonianów **29a-f**. Są to kolejno reakcje Michaelisa-Arbuzowa (aminoalkilofosfoniany **29a-c**) oraz reakcja Gabriela (aminoalkilofosfoniany **29d-f**). Na kolejnych stronach Autorka przedstawia syntezy aminofosfonianów sfunkcjonalizowanych grupą hydroksylową (cząsteczki **29g-h**) i metoksyłową (cząsteczki **29j, l**). Kluczowymi etapami na drodze otrzymywania pochodnych hydroksylowych były reakcje otwarcia pierścienia epoksydowego oraz reakcja Pudownika. Opisana w dalszej części rozdziału strategia syntezy 1-deaza-8-azapuryn (**32a-l**), 1-deazapuryn (**33a-l**), 1-deazapuryn-8-onów (**34a-l**) oraz ich pochodnych fosfonowych (kwasów fosfonowych **35a-l, 36a-l i 37a-l**) składała się zasadniczo z 3 etapów. Pierwszy obejmował reakcje substytucji nukleofilowej w 2-chloro-3-nitropirydynie otrzymanymi wcześniej aminoalkilofosfonianami dietylu. Redukcja grupy nitrowej w otrzymanych na tej drodze [(3-nitropirydyn-2-ylo)amino]alkilofosfonianach dietylu **30a-l** prowadziła do serii [(3-aminopirydyn-2-ylo)amino]alkilofosfonianach dietylu **31a-l**. W trzecim etapie [(3-aminopirydyn-2-ylo)amino]alkilofosfoniany dietylu **31a-l** poddawane były reakcjom cyklizacji. Odpowiednio reakcja diazowania/wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji związków **31a-i** prowadziła do pochodnych 1-deaza-8-azapuryny (**32a-l**). Natomiast pochodne 1-deazapuryny (**33a-l**) oraz 1-deazapuryn-8-ony (**34a-l**) otrzymała Doktorantka na drodze reakcji z syntonami jednowęglowymi tj. ortomrówczanem trietylu i 1,1'-karbonylodiiimidazolem (CDI). W ostatnim etapie prac syntetycznych otrzymane fosfoniany **32a-i, 33a-i, 34a-f i 34j-l** były przekształcone w kwasy fosfonowe. Wszystkie nowo otrzymane cząsteczki zostały scharakteryzowane przez Doktorantkę przy pomocy spektroskopii <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>31</sup>P NMR, IR oraz analizy elementarnej. W tym miejscu wypada zadać pytanie, dlaczego Doktorantka nie stosowała spektrometrii mas, która to metoda jest obecnie standardową i bardzo przydatną techniką analityczną w chemii organicznej. Lektura poświęconej syntezie części rozdziału *Badania własne*

pozwala na stwierdzenie, że Pani Anna Hartwich jest zdolną eksperymentatorką swobodnie stosującą w swoich badaniach wiele typów reakcji organicznych np. reakcje Michaelisa-Arbuzowa, Pudovnika, alkilowania, syntezę Gabriela i utlenianie Swerna. Mogę również stwierdzić, że Doktorantka jest osobą biegłą w interpretacji danych spektroskopowych w tym widm  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  i  $^{31}\text{P}$  NMR i wykorzystaniu informacji z nich płynących do ustalania budowy złożonych cząsteczek organicznych.

W ostatnim paragrafie rozdziału *Badania własne* przedstawione zostały wyniki badań aktywności przeciwwirusowej, cytostatycznej i cytotoksycznej otrzymanych fosfonianów **27a-f**, **27 i-k**, **28a-f**, **28i-k**, **32a-i**, **33a-i**, **34a-f**, **34j-l**, **35a-i**, **36a-i**, **37a-f** i **37j-l**. Badania te prowadzone były we współpracy z Instytutem Badań Biomedycznych Rega Katolickiego Uniwersytetu w Leuven (Belgia) oraz Zakładem Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej (Katedra Biologii i Biotechnologii) Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Należy zaznaczyć, że w chwili pisania przez Doktorantkę swojej Rozprawy nie były jeszcze znane wyniki testów biologicznych dla fosfonianów **32a-i**, **33a-i**, **34a-f**, **34j-l** oraz kwasów fosfonowych **35a-i**, **36a-i**, **37a-f** i **37j-l**. Pozostałe cząsteczki nie były aktywne lub wykazywały niewielką aktywność biologiczną (przeciwbakteryjną). W rozdziale *Podsumowanie wyników* Doktorantka w zwięzły sposób przedstawia najistotniejsze wyniki swojej pracy. W następnym rozdziale w 12 punktach przedstawione zostały najważniejsze wnioski wynikające z prac eksperymentalnych. Na 12 punktów 10 odnosi się do zagadnień stricte chemicznych. Dwa pozostałe odnoszą się do biologii. Brakuje mi tu jasnej odpowiedzi na postawione na stronie 36 pytanie o zależność struktura-aktywność. Czy wobec braku aktywności biologicznej przebadanych cząsteczek nie należałoby w jednym z punktów sformułować wniosku, że struktura łącznika alifatycznego nie ma zasadniczego wpływu na aktywność biologiczną (oczywiście w odniesieniu do konkretnych opisanych w pracy molekuł)? Przedostatnim rozdziałem pracy jest *Część doświadczalna* czyli szczegółowy opis procedur eksperymentalnych stosowanych przez Doktorantkę.

Lektura tego rozdziału pozwala czytelnikowi w pełni ocenić ogrom pracy wykonanej przez Autorkę na stole laboratoryjnym. Opisano w nim, bowiem ponad 150 procedur syntetycznych! Są one napisane precyzyjnym językiem, co umożliwia ich powtórzenie przez innych eksperymentatorów. Pisząc omawiany rozdział Doktorantka nie uchroniła się od pewnych małych błędów i niedociągnięć o których z obowiązku recenzenta należy nadmienić. Są to: a) brak konsekwencji w opisie widm  $^1\text{H}$  NMR (czasami podana jest liczba wiązań dla stałej sprzężenia  $^3J$  a czasami nie  $J$ ), zaburzenie właściwej geometrii wiązań na rysunkach cząsteczek (przykładowo wzór 34 na stronie 138, kąt ostry C-C-N?), we wzorach cząsteczek ze stereogenicznym atomem węgla fakt ten powinien być bardziej zaznaczony (np. cząsteczka 36i strona 156). Uwagi powyższe mają charakter kosmetyczny i w niczym nie umniejszają wartości pracy. *Bibliografia* jest ostatnim rozdziałem rozprawy, w którym Doktorantka cytuje sumarycznie 179 pozycji obejmujących prace oryginalne, przeglądowe oraz patenty.

Lektura rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Hartwich pozwala stwierdzić, iż jest ona doświadczoną eksperymentatorką zdolną do samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Jestem przekonany, że osiągnięcia w zakresie chemii organicznej opisane w rozprawie wnoszą nowy i znaczący wkład w rozwój chemii organicznej modyfikowanych nukleotydów. Należy podkreślić, iż uzyskane przez Panią magister wyniki zostały opublikowane w dwóch doskonałych czasopismach o cyrkulacji międzynarodowej (*Synlett*, **2013**, 24, 1162-1163 i *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **2015**, 190, 2207-2221) oraz w Wiadomościach Chemicznych (*Wiadomości Chemiczne*, **2017**, 71, 148-175). Co więcej, Doktorantka prezentowała swoje wyniki w formie 9 komunikatów konferencyjnych na krajowych kongresach i konferencjach. Dodatkowo, Pani Anna Hartwich jest współautorką jednej publikacji nie wchodzącej w zakres rozprawy doktorskiej (*Tetrahedron: Asymmetry*, **2017**, 28, 135-145).

Wszystkie powyższe informacje oraz fakty z naukowego życia Doktorantki rysują postać młodej dynamicznie rozwijającej się osoby o dużym potencjale intelektualnym i wielkich możliwościach rozwoju w przyszłości.

W podsumowaniu z całym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca mgr Anny Hartwich spełnia wszystkie wymagania określone w obowiązującej Ustawie o Stopniach i Tytule Naukowym odnośnie trybu uzyskania stopnia naukowego doktora. Wnoszę zatem o jej przyjęcie i o dopuszczenie Pani mgr Anny Hartwich do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. nadzw. UŁ dr hab. Konrad M. Kowalski