

Dr hab. Anna Zawisza, prof. UŁ  
e-mail: [anna.zawisza@chemia.uni.lodz.pl](mailto:anna.zawisza@chemia.uni.lodz.pl)  
tel: (+48) 42 635 58 02

Łódź, dn. 05.05.2023 r.

## RECENZJA

### rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Trochy

pt. „Nowe aminoalkilofosfoniany o potencjalnej aktywności biologicznej”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Zakładzie Chemii Bioorganicznej Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, pod kierunkiem dr hab. Iwony Głowackiej, prof. uczelni. Badania przeprowadzone przez Doktorantkę są częścią szeroko zakrojonych prac prowadzonych w zespole Promotorki, dotyczących m.in. syntezy i stereochemii nowych pochodnych fosfonianowych mimetyków nukleozydów i nukleotydów o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych i przeciwwirusowych.

Rozprawa ma układ powszechnie przyjęty dla prac eksperymentalnych z zakresu chemii organicznej i została przygotowana w formie 176-stronicowej dysertacji. Składa się z trzech zasadniczych części o zbliżonej długości, to jest przeglądu literaturowego związanego z tematyką badań, prezentacji otrzymanych wyników badań wraz z dyskusją oraz części eksperymentalnej. W pracy znajduje się 175 odnośników do literatury. Praca poprzedzona jest wykazem osiągnięć naukowych na które składają się: współautorstwo 5 publikacji, 4 komunikaty konferencyjne, udział w projekcie badawczym, 2 nagrody Rektora za cykl publikacji oraz osiągnięcia organizacyjne Doktorantki. W dalszej części Autorka zamieściła wykaz skrótów użytych w pracy. Całość kończy spis cytowanej literatury oraz streszczenie w języku polskim i angielskim.

W pierwszym rozdziale zatytułowanym *Wstęp* Doktorantka wprowadza Czytelnika w realizowaną tematykę wykazując jej aktualność potwierdzoną danymi literaturowymi, jak również nakreśla cele badawcze. Dowiadujemy się, że w ramach przedstawionej rozprawy głównym celem podjętych przez Doktorantkę badań było zaprojektowanie i otrzymanie

enancjomerycznych azirydynofosfonianów, a następnie wykorzystanie ich w syntezie alkilofosfonianów sfunkcjonalizowanych grupami aminowymi i hydroksylowymi. W końcowym etapie zsyntezowane związki mgr Trocha postanowiła poddać ocenie ich aktywności przeciwwirusowej, przeciwbakteryjnej, przeciwgrzybiczej i przeciwnowotworowej. Podjęte badania uważam za ważne, zarówno ze względów poznawczych jak i aplikacyjnych.

Następnie Autorka przygotowała 20-stronicowe opracowanie poświęcone przeglądowi literaturowemu, w którym na początku opisuje metody syntezy *N*-(1-feniloetylo)azirydyno-2-karboaldehydu, a następnie jego wykorzystanie w syntezie biologicznie aktywnych związków, tj. pochodnych amfetaminy, pirolidyny i piperidyny oraz aminokwasów i aminoalkoholi.

Rozdział ten doskonale koreluje z podjętą tematyką badawczą, a jednocześnie potwierdza, że Doktorantka potrafi pozyskiwać niezbędne informacje i krytycznie analizować wcześniejsze prace. Właściwy układ *Części literaturowej* świadczy o dobrym rozeznaniu Doktorantki w literaturze przedmiotu i stanowi duże ułatwienie dla czytelnika pracy. Lektura tego rozdziału daje mi podstawę do stwierdzenia, że przeprowadzone studia literaturowe były solidnym fundamentem do projektowania i realizacji badań własnych, opisanych w następnym rozdziale. Ta część pracy napisana jest poprawnym językiem niebudzącym zastrzeżeń, chociaż nie udało się Autorce uniknąć drobnych omyłek czy błędów edytorskich, np.: Schemat 13 i tekst poniżej (str. 32) – niepoprawnie zapisane wzory związków **26**, **77** i **78**; należało użyć stereoizomeru (2*R*,1'*R*)-**26** jako związku wyjściowego w prezentowanym ciągu przemian.

Kolejny rozdział zajmujący strony od 41 do 88 zatytułowany *Omówienie wyników badań* Autorka rozpoczyna od przedstawienia dokładnego planu pracy oraz założeń projektu, po czym następuje szczegółowy opis i dyskusja przeprowadzonych syntez i analiz otrzymanych związków.

Jako substraty do syntezy enancjomerycznych propylofosfonianów sfunkcjonalizowanych grupami aminowymi i hydroksylowymi Autorka wybrała odpowiednie (azirydyn-2-ylo)metylofosfoniany, które na drodze reakcji otwarcia pierścienia azirydynowego różnymi nukleofilami, tj. anionem wodorkowym, azydkowym czy octanowym przekształciła w docelowe pochodne.

Kluczowym etapem w syntezie pierwszej serii enancjomerycznie czystych związków była reakcja Kabachnika-Fieldsa odpowiednich enancjomerycznie czystych (2*R*,1'*S*)- oraz (2*S*,1'*R*)-*N*-(1-feniloetylo)-azirydyno-2-karboaldehydów z benzyloaminą oraz fosforynem

trietylowym, prowadząca w każdym przypadku do utworzenia pary diastereoizomerycznych azirydynofosfonianów **27** w stosunku 1:4. Otrzymane w ten sposób cztery nowe enancjomerycznie czyste azirydynofosfoniany – [(1*S*,2*R*,1'*S*)-**27** i (1*R*,2*R*,1'*S*)-**27** oraz (1*R*,2*S*,1'*R*)-**27** i (1*S*,2*S*,1'*R*)-**27**] poddane reakcji wodorolitycznego otwarcia pierścienia azirydynowego dały odpowiednie (1*S*,2*R*)-, (1*R*,2*R*)-, (1*R*,2*S*)- i (1*S*,2*S*)-1,2-di(*tert*-butoksykarbonyloamino)propylofosfoniany dietylu **28**. Struktury zsyntezowanych fosfonianów oraz ich konfiguracje absolutne zostały potwierdzone/ustalone na podstawie danych spektroskopowych oraz doniesień literaturowych.

W dalszej części badań azirydynofosfoniany **27** posłużyły Doktorantce jako substraty w syntezie enancjomerycznie czystych *N*-Boc-pochodnych 1,2,3-triaminopropylofosfonianów **29b**, a także odpowiednio chronionych 1,2-diamino-3-hydroksypropylofosfonianów **30b** w regiospecyficznym otwarciu pierścienia azirydynowego anionem azydkowym lub octanowym, odpowiednio. Reakcja azirydynofosfonianu (1*S*,2*R*,1'*S*)-**27** i jego enancjomeru (1*R*,2*S*,1'*R*)-**27** z kwasem octowym, w odróżnieniu od analogicznej reakcji diastereoizomerycznych fosfonianów (1*R*,2*R*,1'*S*)-**27** i (1*S*,2*S*,1'*R*)-**27**, przebiegała z utworzeniem szeregu produktów ubocznych, których powstawanie Autorka wyjaśniła rozważając odpowiednie stany przejściowe. Na uwagę zasługuje fakt dokonania szeregu optymalizacji prowadzonych reakcji, choćby zastosowanie promieniowania mikrofalowego w reakcji otwarcia pierścienia azirydynowego kwasem octowym w enancjomerycznych azirydynofosfonianach, skracające znacząco czas tego procesu. Wybrane azirydynofosfoniany **27** jak również odpowiednio sfunkcjonalizowane aminopropylofosfoniany **30** poddane zostały ocenie aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwgrzybiczej, przeciwwirusowej, przeciwnowotworowej oraz zdolności do zwiększania aktywności przeciwbakteryjnej antybiotyków, w ramach współpracy z kilkoma ośrodkami krajowymi oraz z Uniwersytetem w Leuven.

Wszystkie przebadane związki wykazywały jednak słabą aktywność przeciwbakteryjną wobec testowanych szczepów. Największym osiągnięciem tej części projektu było wykazanie, że związki (1*S*,2*R*,1'*S*)-**27** i (1*R*,2*S*,1'*R*)-**27** działają jako adiuwanty antybiotyków  $\beta$ -laktamowych w stosunku do szczepu MRSA. Ponadto wykazywały aktywność cytostatyczną wobec komórek nowotworowych linii HT-1080 oraz wobec komórek linii MCF-7.

Drugą część badań, skoncentrowaną na optymalizacji warunków reakcji dla poszczególnych etapów syntezy propylofosfonianów sfunkcjonalizowanych grupami aminowymi i hydroksylowymi przy C2 i C3 (**36–38**), Doktorantka prowadziła na układach

racemicznych, po czym przeprowadziła syntezy odpowiednich związków enancjomerycznie wzbogaconych. Prekursorem fosfonianów **36–38** był (*R/S*)-(azirydyn-2-ylo)metylofosfonian dietylu **34**, który w reakcji z diwęglanem di-*tert*-butylu lub bromkiem benzylu dał odpowiednio aktywowany azirydynofosfonian (*R/S*)-**35a** i nieaktywowany (*R/S*)-**35b**. (*R/S*)-[*N*-(*tert*-Butoksykarbonylo)azirydyn-2-ylo]metylofosfonian dietylu (*R/S*)-**35a** został także użyty jako substrat w reakcjach otwarcia pierścienia azirydynowego anionem azydkowym oraz octanowym. W obu przypadkach atak nukleofila następował zarówno na atom węgla C3 jak i C2 pierścienia azirydynowego, prowadząc do powstania mieszaniny dwóch regioizomerycznych produktów. Z kolei reakcje otwarcia pierścienia azirydynowego w (*R/S*)-(*N*-benzyloazirydyn-2-ylo)metylofosfonianu dietylu (*R/S*)-**35b** przebiegały regiospecyficznie, a atak nukleofila następował na mniej podstawiony atom węgla C3.

Syntezę enancjomerycznie wzbogaconych fosfonianów **36–38** mgr Trocha przeprowadziła wykorzystując jako substraty odpowiednie enancjomerycznie wzbogacone (*R*)- oraz (*S*)-2,3-epoksypropylofosfoniany dietylu (*R*)-**32** oraz (*S*)-**32** (ee = odpowiednio 92 i 96%) otrzymane z epiteneku (*R/S*)-**32** w wyniku hydrolitycznego rozdziału kinetycznego (HKR) w obecności katalizatora Jacobsena. Okazały się one wartościowymi substratami w syntezie zarówno aktywowanych i nieaktywowanych azirydynofosfonianów oraz produktów ich dalszych przemian, powstałych w wyniku otwarcia pierścienia różnymi nukleofilami. Dla większości pochodnych Autorka opracowała skuteczne metody określania czystości enancjomerycznej. Wszystkie nowe związki (racemiczne jak i enancjomerycznie wzbogacone) przekazane zostały do oceny ich aktywności przeciwwirusowej, przeciwbakteryjnej, cytostatycznej oraz działania jako adiuwanty antybiotyków  $\beta$ -laktamowych.

*Omówienie wyników badań kończą Podsumowanie i Wnioski*, w których Autorka przedstawiła zrealizowane cele.

Ta część pracy napisana jest poprawnym językiem niebudzącym zastrzeżeń, chociaż nie udało się Autorce uniknąć kilku pomyłek/niejasności oraz błędów edytorskich, o których wspominał z obowiązku recenzenta:

1. Str. 49/50 tekst pod Schematem 25 nie koresponduje z tym co zamieszczono na Schemacie. Autorka dokonując ustalania konfiguracji nowowygenerowanego centrum stereogenicznego pisze: „Ponieważ centrum stereogeniczne na atomie C2 w azirydynofosfonianach **27**, a tym samym i w diaminofosfonianach **28** jest znane i zależy od użytego *N*-(1-fenyletylo)azirydyno-2-karboaldehydu **26** ustaliłam, że opisany wcześniej w literaturze fosfonian (*1R,2S*)-**28** powstał z azirydynofosfonianu (*1R,2S,1'S*)-**27**

otrzymanego z aldehydu (2*S*,1'*S*)-**26**. Z uwagi na stereochemiczny przebieg reakcji Kabachnika-Fieldsa drugim z diastereoizomerycznych azirydynofosfonianów **27** otrzymanemu z aldehydu (2*S*,1'*S*)-**26** przypisałam konfigurację (1*S*,2*S*,1'*S*)-**27**, a w konsekwencji taką samą również powstałemu z niego diaminofosfonianowi (1*S*,2*S*)-**28** (Schemat 25)” podczas gdy prawidłowy opis powinien brzmieć „...opisany wcześniej w literaturze fosfonian (1*R*,2*S*)-**28** powstał z azirydynofosfonianu (1*R*,2*S*,1'*R*)-**27** otrzymanego z aldehydu (2*S*,1'*R*)-**26**. Z uwagi na stereochemiczny przebieg reakcji Kabachnika-Fieldsa drugim z diastereoizomerycznych azirydynofosfonianów **27** otrzymanemu z aldehydu (2*S*,1'*R*)-**26** przypisałam konfigurację (1*S*,2*S*,1'*R*)-**27** ...” Jest to ewidentna pomyłka poczyniona na etapie redagowania recenzowanej pracy, gdyż wyniki tych badań i poprawne do nich wnioski zostały opublikowane zdecydowanie wcześniej (Tetrahedron: Asymmetry 2017, 28, 1602–1607).

2. Str. 52, Rysunek 9 – niewielki błąd w strukturze fosfonianu (1*S*,2*R*)-**28** (należy usunąć atom C pomiędzy N a C(O)OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).
3. Str. 92, ostatni akapit dotyczy związku (*R/S*)-**35b**, a nie jak zapisano (*R/S*)-**35a**.
4. Niefortunne wydaje się sformułowanie „zawadzony atom węgla” użyte kilkakrotnie w pracy; bardziej odpowiednie wydaje się „załączony lub podstawiony atom węgla”.

Następny rozdział *Część doświadczalna* zajmujący strony od 100 do 159 dokładnie dokumentuje przeprowadzone badania. Wszystkie eksperymenty zostały należycie opisane, a budowę wszystkich otrzymanych związków Autorka potwierdziła metodami spektroskopowymi. Dla wszystkich kluczowych, nowych pochodnych zamieszczone zostały także wyniki analizy elementarnej. Zamieszczone opisy oraz analiza strukturalna nie budzą zastrzeżeń.

Pracę autorstwa mgr Aleksandry Trochy z merytorycznego punktu widzenia oceniam wysoko, a drobne uwagi nie wpływają na końcową ocenę rozprawy. Założony cel pracy został w pełni zrealizowany.

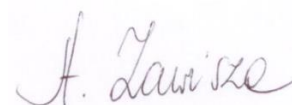
Podsumowując moją ocenę rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Trochy podkreślić muszę wysoką chemiczną jakość i dobrze dobraną formę planowania i przedstawienia problemów oraz ich precyzyjne rozwiązanie. Należy podkreślić szeroki zakres wykonanych prac badawczych, które Doktoranta zaplanowała i zrealizowała jak również biegłość w analizowaniu wyników oraz wyciąganiu wniosków.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) oraz art. 187 ustawy z dnia

20 lipca 2018 r., przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.). Stanowi ona oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki, a także umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Z pełnym przekonaniem wnioskuję do Rady Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o przyjęcie rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Trochy i dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie w uznaniu dorobku naukowego i wartości recenzowanej pracy zwracam się do Wysokiej Rady z wnioskiem o wyróżnienie niniejszej rozprawy.

A handwritten signature in cursive script, reading "A. Zawisze". The signature is written in dark ink on a light-colored background.