



**UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA
COLLEGIUM MEDICUM W BYDGOSZCZY
KATEDRA I ZAKŁAD CHEMII OGÓLNEJ
ul. Dębowa 3 85-626 Bydgoszcz**

Bydgoszcz 31 grudnia 2012

Prof. dr hab. Marcin Dramiński

Recenzja

pracy doktorskiej mgr Anny Czarneckiej zatytułowanej „Synteza analogów 5' fosforanów nukleozydów, zawierających układ 1,2,3- triazolowy w części fosforanowo-cukrowej , z zastosowaniem chemii click”.

Przedstawiona do recenzji praca składa się z 232 stron wydruku komputerowego formatu A4 z żywą paginacją stron. Praca została wykonana w Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod kierunkiem profesora UAM dr hab. Lecha Celewicza. Praca zawiera poza stroną tytułową precyzyjny spis treści (6 stron), streszczenie w języku angielskim (4 str.) wykaz używanych skrótów (4 str.), dwie strony wstępu, 67 stron części literaturowej, 2 strony celu badań, 76 stron dyskusji wyników, 49 stron części eksperymentalnej , 4 strony podsumowania oraz 10 stron wykazu cytowanej literatury(210 pozycji) i dwie strony spisu publikacji własnych.

Przedstawiona do recenzji praca powstała w wyniku fascynacji p. mgr Anny Czarneckiej i Zespołu kierowanego przez prof. dr hab. Lecha Celewicza reakcjami azydów z alkinami. Kariera tych reakcji wybuchła po 2001 roku kiedy to laureat nagrody Nobla K. B. Sharpless razem z młodymi współpracownikami (H.C.Kolb i M. G. Finn) rozpropagował artykułem w Angewandte Chemie (Int.Ed. 2001,40,2004-2021) idee „chemii click”. Zastosowania grupy azydowej w chemii cyklicznych dioli wywodzących się z utlenianego cykloheksa- 1,4- dienu a następnie odkrycie przez M.Meldala i wsp. (J.Org.Chem.**67**,3057(2002)) i K.B. Sharpless'a i wsp.(Angew.Chem.Int.Ed.**41**,2596 (2002)) katalitycznych właściwości Cu^+ w reakcjach kondensacji azydów z terminalnymi alkinami zostało twórczo zastosowane w Poznaniu. Zainteresowania poznańskich Chemików skupione na chemii nukleotydów i alkaloidów sprawiły , że wybór nowych badań pozostał w zakresie tych klas związków organicznych.

Doktorantka postanowiła sprawdzić, czy czynne biologicznie nukleozydy lub nukleotydy połączone ze znanymi alkaloidami chininowymi uzyskują lepsze od substancji składowych właściwości inhibitorowe. Takie założenie badań wynikło z przekonania, że biodostępność związków dla modyfikacji mechanizmów wewnątrzkomórkowych przemian, zależy od logP, wskaźnika który zmienia się przy otrzymywaniu projektowanych połączeń. Dodatkowym uzasadnieniem jest to , że uzyskiwany układ 1,2,3-triazolowy jest bioizosteryczny z wiązaniami peptydowymi lub (i) fosforanowymi. Powinno to sprzyjać aktywności koniugatów wobec ważnych komórkowych procesów enzymatycznych.

Założenia były słuszne, bo pani Anna Czarnecka uzyskała kilka koniugatów (**227, 237, 244, 246, 259**) których stężenia inhibitorowe wobec różnych modelowych komórek w laboratoryjnych hodowlach były w zakresie 2,0-3,7 µg/ml. Wartości te są porównywalne z nukleozydowymi składnikami koniugatów. Jest to duże osiągnięcie w syntezie związków, które mogą być lekami. Stanowi to podstawę i cenną wskazówkę do syntezy jeszcze skuteczniejszych związków hamujących wzrost komórek nowotworowych. Doktorantka przebadła również właściwości fluorescencyjne niektórych koniugatów(**251,252**). Badanie to daje możliwości zastosowania tych nowych związków jako sond fluorescencyjnych przy badaniu przemian nukleozydów w układach żywych.

Aby przeprowadzić te badania mgr Anna Czarnecka wykonała dużą mrowczą pracę w zakresie syntez chemicznych. Otrzymała trzy 5'-azydo pochodne nukleozydów(**10,210,215**) jedną 4'-azydopochodną (**3**) oraz fosforan **155** jako komponenty zawierające czynną grupę N₃ oraz pochodne alkinowe (zarówno N-,O-,C-) jako składniki nienasycone niezbędne do kondensacji (**156, 56, 247, 61, 65, 66**). Są to pochodne alkaloidów chininowych, jak i fosforany zawierające wiązanie potrójne. Związki te , otrzymywane były wielokrotnie różnymi drogami syntetycznymi. Doktorantka powtarzała syntezy stosując własne modyfikacje i udoskonalenia aby otrzymać pośrednie produkty w ilościach niezbędnych do dalszych eksperymentów. Pośrednie i końcowe pochodne otrzymane do wytworzenia układów 1,2,3-triazolowych były identyfikowane i tożsamość udowodniono analizą widm ¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS, IR. Identyfikacja i

analiza widm jest w pełni prawidłowa. Przeprowadzone syntezy i identyfikacje produktów świadczą o dobrym opanowaniu warsztatu syntetycznego w chemii organicznej.

Najtrudniejsze okazały się syntezy z użyciem aminokwasowych pochodnych O-propargilo-fosforanowych. Gdy w końcu, odwracając kolejność syntezy udało się otrzymać koniugat **236** i uzyskać planowaną drogą **238** i **239** okazały się one mało lub średnio aktywne przy hamowaniu wzrostu komórek nowotworowych. Prawdopodobnie zaskoczeniem była znaczna aktywność pochodnych o częściowo podobnej strukturze, nie zawierających reszty kwasu fosforowego i związanych z nią aminokwasów (**237** i **244**).

Ciekawa i godna uwagi jest dyskusja niepowodzeń w zastosowaniu w reakcjach koniugacji; np. związki **228-230** (propargilowe pochodne fosforanowe) kondensują jedynie w „warunkach Meldala” (dodatek Cu^+) a nie w „warunkach Sharpelessa” (redukcja Cu^{++} do Cu^+). Autorka tłumaczy to zachowanie się związków kompleksowaniem jonów Cu^{++} z resztami aminokwasów i przeszkodą stąd wynikająca dla redukcji. Inne kłopoty syntetyczne i trudności są również logicznie przedyskutowane (np. nietrwałość wiązania nukleozydowego czy rozpad azydków nukleozydów).

Z obowiązku podaję listę zauważonych omyłek, błędów literowych i usterek:

str. 33

W schemacie 15 doktorantka cytuje pracę [27] w której przekształcenie związku **29** w **30** wymaga reakcji Wittiga. W opisanym schemacie zabrakło dodatku $\text{P}(\text{CH}_3)_3$ aby grupy aldehydowe przekształcić w $=\text{CH}_2$

str. 45

9 od góry jest *chemii nukleozydów* powinno być: chemii nukleotydów

str.53

11 od dołu jest *przez komórkę* powinno być: przez błonę komórkową

str.56

6 od dołu jest „*Lipofilowa cząsteczka fosfatydylo-AZT(107)*” a na rysunku pokazano lipofilową cząsteczkę fosforanu tymidyny.

str.63

1 od góry jest (**125**) powinno być (**126**)

str.75

2 od góry jest (*schemat 45, szlak syntetyczny oznaczony kolorem czerwonym*). Na schemacie koloru zabrakło.

str.77

5 od dołu jest „*biomolekół*” powinno być: biomolekuł

str.80

w najniższym wierszu tabeli: wzory $\text{Cu}(0)$ Cu SO_4 powinny być zmienione miejscami.

str. 98

„*otrzymywanie... 11 z wydajnością (ok 20%)* a na str. 172 i 173 podano wydajności 12% i 3% to nieścisłość.

str.103

2 od dołu podano odnośnik Hata[13], którego nie udało się odszukać. W roczniku 1980 w J.Chem.Soc.Perkin Trans. 1 na str.1306 jest praca James R. Hanson, a w J.Chem.Soc.Perkin Trans.2 na str. 1306 jest praca Yoshio Kodama i innych.

str.148

Wzór związku **157**-atomy bromu powinny być związane wiązaniami odwrotnie znaczone.

str166 i 167 i 168

Koniugat związków **48** z **156** powinien być wszędzie oznaczony jako **259** a na schemacie 108 i w tekście jest **260**

Usterka w numeracji pierwszych stron. Kilka nienumerowanych pustych stron.

Przeczytana praca mgr Anny Czarneckiej sprawia dobre wrażenie. Część teoretyczna dokładnie opisuje zagadnienia wykorzystane następnie w praktycznej realizacji postawionego zadania syntetycznego. Uzyskane rezultaty badań biologicznych sprawiają, że przedstawione opracowanie powinno być dalej rozwijane i publikowane.

Stwierdzam, że praca doktorska p. mgr Anny Czarneckiej spełnia wszystkie kryteria określone Ustawą z 14 marca 2003 roku dla tytułów i stopni naukowych. Z przekonaniem stawiam wniosek Radzie Wydziału Chemicznego Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie mgr Anny Czarneckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Praca zasługuje na wyróżnienie.

