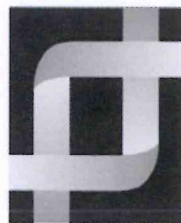


POLSKA AKADEMIA NAUK



INSTYTUT CHEMII BIOORGANICZNEJ
ul. Noskowskiego 12/14, 61-704 Poznań
tel.: centrala 0 61 852 85 03, sekretariat 0 61 852 89 19
fax: 0 61 852 05 32, e-mail: ibch@ibch.poznan.pl
REGON 000849327
NIP 777-00-02-062

Dr hab. Marcin K. Chmielewski, prof. nadzw. IBCh PAN

Poznań, 08.09.2016

Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk

Ul. Noskowskiego 12/14

61-704 Poznań

RECENZJA

Pracy doktorskiej mgr Klaudii Margas-Musielak

pt. "Synteza i właściwości oksiranowych pochodnych estrów kwasów fosfonowych"

Przedstawiona do recenzji dysertacja Pani mgr Klaudii Margas-Musielak została wykonana w Zakładzie Syntezy i Struktury Związków Organicznych Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza pod kierunkiem prof. dr hab. Henryka Koroniaka przy wsparciu promotora pomocniczego dr Magdaleny Rapp. Rozprawa dotyczy syntezy estrów kwasów fosfonowych zawierających wiązanie C-P oraz pierścieni oksiranowy. Zaprojektowanie i przeprowadzenie syntezy takich złożonych struktur chemicznych pozwala na otrzymanie nowych związków o unikalnych właściwościach oraz poszerza umiejętności syntetyczne eksperymentatora. Określenie czy nowe związki posiadają potencjalne właściwości biologiczne lub terapeutyczne jest obecnie kluczową przesłanką do podjęcia prac koncepcyjnych nad opracowaniem metody ich chemicznej syntezy. Analogii fosforanowe zawierające wiązanie P-C znane już są jako substancje o wysokiej aktywności biologicznej. Jako przykłady można podać fosfomycynę wykazującą aktywność przeciwbakteryjną, fosforanowy analog kwasu γ -amino- β -hydroksymasłowego (P-GABOB) jako inhibitor centralnego układu nerwowego oraz analog nukleozydowy (tenofovir) wykazujący działanie przeciwwirusowe. Podjęcie przez doktorantkę badań w kierunku syntezy nowych analogów fosforanowych uważam za jak najbardziej uprawnione i pożądane. Jest to jednak zadanie trudne i bardzo pracochłonne, dlatego współczesne strategie planowania syntezy chemicznej coraz częściej wykorzystują metody modelowania komputerowego *in silico* do określenia

MCh

potencjalnych właściwości. Zatem, jeśli występują ku temu możliwości należy komputerowo wspomagać działania syntetyczne.

Rozprawa doktorska jest obszerna i na 251 stronach zawiera typowe dla tego typu opracowań części: wykaz stosowanych skrótów, wstęp, część literaturową, cel pracy, dyskusję wyników, część eksperymentalną, podsumowanie i wnioski, bibliografię (która zawiera 145 pozycji), atlas widm oraz streszczenie w języku angielskim. Praca została przygotowana z najwyższą starannością, o czym świadczy wysoka estetyka prezentacji oraz dbałość o detale. Na szczególne wyróżnienie zasługuje umieszczenie klarownego atlasu widm, który pozwala czytającemu na szybkie zorientowanie się w omawianych szlakach syntetycznych oraz jakości otrzymanych preparatów. Dzięki przejrzystości poruszanie się po rozprawie nie sprawia dużych problemów, a jedynym dostrzeżonym przez recenzenta mankamentem jest fakt, że cel pracy powinien być umieszczony na początku całej rozprawy. Pozwoliłoby to na łatwe i szybkie zorientowanie się w kierunku prowadzonych prac oraz odwoływanie się do postawionych w nim hipotez, celów naukowych lub syntetycznych.

Część literaturowa wprowadza czytelnika w tematykę związaną z biologicznie aktywnymi pochodnymi fosfonianów. Doktorantka przedstawia metody tworzenia wiązania C-P, a wraz z nimi przegląd wykorzystania metod syntetycznych do otrzymania oksiranofosforanów. Szkoda, że doktorantka nie wspomniała o metodzie tworzenia wiązań P-C z wykorzystaniem *H*-fosfonianów, które rozwijane były przez ostatnie lata przez prof. Stawińskiego we współpracy z poznańskim ośrodkiem PAN (ostatnie opracowanie: Recent Advances in H-Phosphonate Chemistry. Part 2 Synthesis of C-Phosphonate Derivatives Phosphorus Chemistry II volume 361 of the series Topics in Current Chemistry pp 179-216 DOI 10.1007/128_2014_563). W dalszej części opracowania przedstawiono rozdziały omawiające fluorowane oksiranofosforany wraz z obszerną analizą właściwości oraz zależności strukturalnych tej klasy związków. Część literaturową kończy rozdział o zastosowaniu oksiranofosforanów, co jest ważnym czynnikiem w kontekście uzasadnienia podjęcia tej tematyki badawczej.

Na tym etapie oceny chciałbym poprosić doktorantkę o odpowiedź na następujące pytania:

1. Czym doktorantka tłumaczy zmniejszenie kwasowości P-C fosfonianów po wprowadzeniu atomu fluoru do grupy metylenowej (Tabela 1, strona 24)?
2. Atom fluoru jest często uwikłany w oddziaływania bliskiego kontaktu czyli wiązania wodorowe. W związku z tym mam pytanie, czy siła wiązania wodorowego C-F ... H-R zależy od hybrydyzacji atomu węgla przyłączonego bezpośrednio do atomu fluoru, i jeśli tak to w którym przypadku atom fluoru będzie lepszym akceptorem wiązania wodorowego C(sp³)-F czy raczej C(sp²)-F?

M. An.

3. Kandydatka wspomina w swojej pracy o potencjalnych właściwościach antywirusowych oksiranofosfonianów, czy wiadomo, na który proces aktywności wirusa mogą one wpływać i czy oksiranofosfoniany działają bezpośrednio czy jako leki, które po przekształceniach metabolicznych uzyskują farmaceutyczną aktywność czyli tzw. *prodrugs*?

Dyskusja Wyników poprzedzona jest krótkim ale precyzyjnym opisem celu ocenianej pracy. Cel został jasno zdefiniowany i dotyczy opracowania i przeprowadzenia chemicznej syntezy czterech fosfodiestrów zawierających atom fluoru oraz pierścieni oksiranowy. W dalszej części kandydatka podejmuje się badania wpływu atomu fluoru na reaktywność otrzymanych oksiranów oraz określenie struktury (stereochemii) otrzymanych związków za pomocą metod spektroskopowych. Z tą częścią związana jest również moja uwaga krytyczna, dotycząca braku numeracji omawianych struktur w celu pracy (Rysunek 15, 16, 17). Związki te mają wprowadzić nadaną numerację, ale później (odpowiednio **120**, **124**, **134**, **141**). Brak spójności w numeracji ogranicza porównanie związków będących celem rozprawy ze związkami opisywanymi w dalszej części opracowania (dyskusja wyników oraz część eksperymentalna). Utrudnia to także potwierdzenie, że cel pracy został zrealizowany.

Analiza wyników oraz dyskusja są zilustrowane dużą ilością grafiki, na którą składa się: 10 schematów przedstawiających struktury i modele chemiczne, 14 schematów przeprowadzonych reakcji chemicznych, 15 schematów mechanizmów szeroko diskutowanych w pracy, 4 rysunki obrazujące analizę widm NMR oraz 9 tabel. Sposób prezentacji wyników pokazuje, że doktorantka rozumie i potrafi wyjaśnić zachodzące przemiany chemiczne zarówno w zakresie preparatyki jak i mechanizmów chemicznych. W dyskusji wyników doktorantka bardzo dokładnie i szczegółowo opisuje kolejne etapy wykonywanych syntez. Omawiane mechanizmy przekształceń chemicznych poparte są dogłębną analizą dwuwymiarowych widm rezonansu jądrowego dla kolejnych jąder atomowych. W tym miejscu należy docenić wysiłek, jaki doktorantka włożyła w analizy wykazując tym samym biegłą znajomość technik NMR, które są obecnie niezbędnym narzędziem chemika-syntetyka.

Moją szczególną uwagę zwróciła przeprowadzana przez doktorantkę reakcja otwierania pierścienia oksiranowego związku **120** za pomocą azydku sodu oraz regioselektywnego rozszczepienia związku **141** w obecności różnych czynników nukleofilowych. Doktorantka bardzo trafnie określiła zależność pomiędzy mechanizmem (SN1 czy SN2) a rodzajem nukleofila (aminy czy aniony). Pozwoliło to na prostą syntezę dużej ilości bardzo ciekawych fosfonianów oraz lepsze poznanie tej wyjątkowo użytecznej reakcji. Zdecydowanie jest to bardzo dobrze przygotowana dyskusja wyników własnych. Z analizy baz danych wynika, że związki **141** jak również **120** nie zostały jeszcze opisane i opublikowane w literaturze

naukowej. Czy w związku z tym doktorantka zamierza opublikować te bardzo interesujące wyniki własne? Jeżeli tak to chciałbym zasugerować inną nazwę dla związku **141**, która w moim przekonaniu jest bliższa prawidłowej nomenklaturze chemicznej i którą prezentuję poniżej.

diethyl $\{(3S,4S)\text{-}4\text{-fluoro-1-oxaspiro[2.5]octan-4-yl}\}$ phosphonate **141**

Na zakończenie analizy dysertacji, spełniając obowiązek recenzenta, chciałbym zwrócić doktorantce uwagę na drobne błędy językowe, merytoryczne, niedociągnięcia i niejasności. Należy stwierdzić, że jest ich tak niewiele, że w żaden sposób nie mogą wpłynąć na pozytywną ocenę rozprawy. Dla porządku muszę je wymienić poniżej jednakże nie będę ich odczytywał publicznie.

Strona 24 Tabelka 1 „fosfonianów (druga deprotonacja)” chyba chodzi o drugą stałą dysocjacji

Strona 71 Tabelka 13 „halohydrynofosfonianów” ? nazwa niepoprawna

Strona 73 *rodziale 6* – literówka

Strona 73 *trityloaminy* i *benzhydyloaminy* – lepiej takich nazw nie stosować nazwy w nawiasie są prawidłowe

Strona 85 Schemat 42 zamiast (v) powinno być (iii)

Strona 87 (*Tabela1*) powinno być Tabela 16 warto podać pozycję „pozycja 2”

Strona 94 *poboczny diastereoizomer* to nie jest prawidłowe określenie

Strona 99 *obecność wiązania podwójnego* - na jakiej podstawie to stwierdzono?

Strona 163 „*został przepuszczony przez kolumnę*” sugerowałbym stwierdzenie „został naniesiony (podany) na górę kolumny a następnie kolumnę poddano przemywaniu eluentem o składzie ...”

Strona 168 (i inne miejsca) „*reakcja związku ... dała ...*” zdecydowanie lepiej brzmi: w wyniku reakcji związku z... powstaje ...

Pani mgr Klaudia Margas-Musielak jest współautorem jednego artykułu naukowego w czasopiśmie *Journal of Fluorine Chemistry* (IF=2,213, PM=25) oraz 5 komunikatów konferencyjnych. Nie znalazłem natomiast żadnych informacji dotyczących zgłoszeń patentowych w omawianym zakresie merytorycznym. W świetle potencjalnego zastosowania biologicznego syntetyzowanych związków chemicznych uważam, za zasadne podjęcie kroków w celu uzyskania ochrony prawnej opracowanych rozwiązań w postaci zgłoszenia patentowego. Celem zgłoszenia mogą być zarówno nowe związki, sposób ich syntezy jak potencjalne właściwości przemysłowe.

M. G.

Na tym etapie oceny proszę o odpowiedź na następujące pytania:

1. Proszę o wyjaśnienie, czy doktorantka wykonywała analizę czystości patentowej i czy rozważała ochronę własności *know-how* uzyskanych wyników przed opublikowaniem?
2. Dlaczego nie wykonano wysokorozdzielczej analizy masowej dla syntetyzowanych produktów pośrednich, a szczególnie dla nowych związków. Taka analiza jest niezbędna dla prawidłowego potwierdzenia struktury otrzymanych związków?
3. Doktorantka podejmując cel syntetyczny zdawała sobie sprawę z faktu, że otrzymując nowe pochodne fosforanów może otrzymać związki o aktywności biologicznej. Świadczą o tym chociażby wpis na stronie 85. W związku z tym chciałbym się zapytać: Dlaczego nie podjęto próby określenia potencjalnych właściwości biologicznej np. na podstawie testów komórkowych dla nowo otrzymanych pochodnych?

Podjęta tematyka, jak również szerokość prac syntetycznych i analitycznych zaprezentowanych w dysertacji pozwala mi stwierdzić, że Pani mgr Klaudia Margas-Musielak w pełni osiągnęła poziom naukowy wymagany do uzyskania tytułu naukowego doktora nauk chemicznych. Po lekturze rozprawy jestem przekonany, że jest ona sprawnym eksperymentatorem dobrze poruszającym się w zagadnieniach zaawansowanej chemii organicznej oraz osobą, która potrafi stawiać hipotezy naukowe oraz rozwiązywać postawione przez nią zadania.

Za najważniejsze oryginalne osiągnięcia naukowe Autorki uznaję:

1. Otrzymanie na drodze chemicznej syntezy czterech zupełnie nowych związków chemicznych (fosfonianów) o potencjalnym działaniu biologicznym.
2. Prawidłową charakterystykę drogi syntezy wraz z gruntowną i szczegółową analizą strukturalną i mechanistyczną na poszczególnych jego etapach.
3. Badanie reakcji zamknięcia pierścienia oksiranowego w 1,2 halogenohydrynofosfonianach pod wpływem zasad.
4. Badanie reakcji nukleofilowego i regioselektywnego otwarcia pierścienia oksiranowego wraz z analizą produktów tego przekształcenia
5. Wykazanie, że przebieg reakcja otwierania pierścienia oksiranowego w związku **141** zależy od zastosowanego czynnika nukleofilowego i określenie że reakcja z aminami przebiega według SN1 a z azydkiem sodu lub HBr według SN2
6. Określenie wpływ atomu fluoru na reaktywność otrzymanych oksiranów.

Na podstawie przeprowadzonej recenzji stwierdzam, że rozprawa doktorska pani mgr Klaudii Margas-Musielak, spełnia wszelkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim przez *Ustawę z*

dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym. Należy zaznaczyć, że została przygotowywana pod opieką promotora oraz promotora pomocniczego, i stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego w zakresie chemii organicznej. Kandydatka zaprezentowała szeroką wiedzę teoretyczną w dziedzinie chemii oraz praktyczne umiejętności przeprowadzając opisane w rozprawie syntezy organiczne, co zostało poprawnie udokumentowane. W związku z powyższym wnioskuję do Rady Wydziału Chemii UAM o dopuszczenie kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W opinii recenzenta praca doktorska pani mgr Klaudii Margus-Musielak jest opracowaniem wyróżniającym się zarówno w zakresie przejrzystości jak i klarowności przedstawienia wyników. Sam temat oraz sposób jego podejmowania, wyczerpująca analiza strukturalno-mechanistyczna oraz jakość otrzymanych wyników skłania mnie do złożenia wniosku do Rady Wydziału Chemii UAM o wyróżnienie tej pracy doktorskiej.

Z poważaniem



dr hab. Marcin K. Chmielewski