



POLITECHNIKA ŁÓDZKA
INSTYTUT CHEMII ORGANICZNEJ

Żeromskiego 116, 90-924 Łódź,
Tel: 42-636-25-42, 42- 631-31-40

dr hab. inż. Beata Kolesińska, prof. PŁ,
tel: 42-631-31-49; e-mail: beata.kolesinska@p.lodz.pl

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Dziełak

Rozprawa mgr inż. Anny Dziełak zatytułowana „Synteza wielofunkcyjnych aminofosfonianów w trójskładnikowej reakcji fosfa-Mannicha” została wykonana na Wydziale Chemii Politechniki Wrocławskiej z Zakładzie Chemii Bioorganicznej.

Praca posiada złożoną, wielopoziomową strukturę, konsekwentnie dostosowaną do osiągnięcia nadrzędnego celu badań realizowanych w grupie badawczej dr hab. Artura Muchy, prof. PWr, który można określić jako badania nad nowymi efektywnymi metodami syntezy związków fosforoorganicznych, ze szczególnym naciskiem na fosforowe mimetyki aminokwasów oraz peptydów, która to klasa związków chemicznych ma różnorodne zastosowania zarówno jako substraty przy poszukiwaniu nowych leków, jak i środków ochrony roślin, a skończywszy na materiałach użytkowych w przemyśle chemicznym. Bez żadnych wątpliwości można stwierdzić, że tematyka badawcza podjęta w rozprawie jest bardzo aktualna i stanowi wkład w intensywnie rozwijany obszar badawczy jakim jest chemia kombinatoryczna oraz zielona chemia, gdyż wykorzystane w badaniach reakcje wieloskładnikowe są przedmiotem tych obszarów badawczych.

Uzyskane wyniki badań zostały opisane w pracy liczącej 173 stron. Praca posiada klasyczny układ i obejmuje: Wprowadzenie, Studium Literaturowe, Badania Własne, Część Eksperymentalną oraz Literaturę. Studium Literaturowe zawarte jest na 57 stronach i obejmuje opis stanu wiedzy bezpośrednio skorelowany z tematami badawczymi rozwijanymi sukcesywnie w rozprawie. Ta część pracy obejmuje podrozdziały dedykowane:

- ogólnej charakterystyce i zastosowaniu związków fosforoorganicznych, gdzie omówione zostały przykłady zastosowania tej klasy związków w syntezie organicznej oraz ich przemysłowego wykorzystania jako inhibitorów procesów korozji, środków zapobiegających tworzeniu kamienia kotłowego jak również modyfikatorów tworzyw sztucznych. W tym podrozdziale przedstawiony został również fragment omawiający

potencjał aplikacyjny związków fosforoorganicznych jako związków o ważnym znaczeniu biologicznym.

- reakcjom wieloskładnikowym. W ramach tego podrozdziału omówione zostały najważniejsze typy reakcji wieloskładnikowych: reakcja Hantzscha, reakcja Biginelli'ego, reakcja Mannicha, reakcja Passerini'ego oraz reakcja Ugi'ego. Drugi fragment tego podrozdziału dotyczył wykorzystania reakcji wieloskładnikowych w syntezie związków fosforoorganicznych (reakcja Passerini'ego, reakcja Ugi'ego oraz reakcja fosfa-Mannicha),
- wykorzystaniu wspomagania mikrofalowego w syntezie związków fosforoorganicznych, ze szczególnym uwzględnieniem reakcji wieloskładnikowych, w których w miejsce konwencjonalnego ogrzewania zastosowano promieniowanie mikrofalowe.

Układ tej części pracy jest dostosowany do jednoznacznie sformułowanego celu badawczego oraz poszczególnych etapów zaplanowanych prac badawczych. Wybór materiału literaturowego obejmującego w sumie aż 305 pozycji (zacytowanych wyłącznie w części referatowej) jest głęboko przemyślany i prezentuje wszystkie najważniejsze publikacje, co pozwoliło na rzetelną i dogłębną prezentację stanu wiedzy z szerokiego obszaru chemii w zwyczajowo ograniczonej co do wielkości rozprawie doktorskiej. Pomimo dużego zróżnicowania tematów poszczególnych fragmentów przeglądu literaturowego, utrzymana jest spójność narracji dzięki starannemu doborowi referowanych publikacji i konsekwentnemu podporządkowaniu wszystkich części składowych nadrzędnemu celowi pracy. Pozwala to na wystawienie wysokiej oceny tej części rozprawy.

Jak należało oczekiwać, cel pracy powinien być przedstawiony jako odrębny rozdział po wprowadzeniu literaturowym dającym uzasadnienie dla wszystkich jego elementów składowych na tle współczesnego stanu badań, jednak został on zawarty we wprowadzeniu do badań własnych i w moim odczuciu nie został on przedstawiony w klarowny sposób, gdyż został on połączony z informacjami opisanymi w literaturze. Głównym celem pracy było opracowanie warunków trójskładnikowej reakcji fosfa-Mannicha prowadzącej do otrzymania bardziej złożonych polifunkcyjnych aminofosfonianów.

Cel główny był osiągnięty poprzez realizację zadań badawczych obejmujących:

- zastosowanie kwasów α -amino-*H*-fosfinowych jako substratów fosfinowych reakcji fosfa-Mannich'a,
- opracowanie warunków reakcji z użyciem zarówno pierwszo- jak i drugorzędowych amin,

- zbadanie zakresu stosowalności opracowanych reakcji jak i ich ograniczeń wraz ze zbadaniem ewentualnych produktów ubocznych,
- wykorzystanie opracowanych warunków reakcji do syntezy nowych potencjalnych inhibitorów wybranych enzymów: aminopeptydaz oraz ureaz.

Punktem wyjścia do podjętych badań była znana z wcześniejszych prac możliwość stosowania w reakcji fosfa-Mannicha pochodnych: fosforowodoru, kwasów i estrów fosforowych, w tym: kwasu podfosforowego, fosforynów dialkilowych, tiofosforynów dialkilowych oraz fosfinianów alkilowych. W ramach badań doktorantka jako pierwsze testowane komponenty aminowe zastosowała aminokwasy, zarówno z wolną I-rzędową grupą aminową, jak i pochodne aminokwasowe zawierające II-rzędową grupę aminową. Ważny fragment badań tych badań obejmował optymalizację parametrów kondensacji jak również badanie składu ilościowo-jakościowego surowych mieszanin reakcyjnych. Stwierdzono, że reakcja z aminokwasami zawierającymi II-rzędową grupę aminową zachodzi z wyższymi wydajnościami oraz wyklucza tworzenie produktów ubocznych, tym samym postulowane było stosowanie N-benzylowych pochodnych aminokwasów. Opracowana metoda syntetyczna pozwoliła Doktorantce na otrzymanie puli pochodnych fosfinowych pseudodipeptydów ze zróżnicowaną strukturalnie resztą aminokwasową. Otrzymane pochodne fosfinowych pseudodipeptydów charakteryzowały się średnią aktywnością inhibitorową względem wybranych aminopeptydaz. Na uwagę zasługuje podejście syntetyczne umożliwiające pseudodipeptydów fosfinowych z pochodnych zawierających nasycony pierścień 1,3,5-triazyny powstający w wyniku trimeryzacji produktu reakcji estrów metylowych aminokwasów z formaldehydem w środowisku zasadowym. Pochodne te z zadawalającymi wydajnościami tworzyły w reakcji z kwasami α -amino-fosfinowymi oczekiwane pseudodipeptydy fosfinowe w obecności katalizatorów kwasowych.

Doktorantka w sposób systematyczny przebadala zakres stosowalności reakcji fosfa-Mannicha z aminami alifatycznymi. W tym przypadku również stwierdziła, że korzystniejsze jest stosowanie II-amin, dlatego też w badaniach optymalizacyjnych stosowane były N-benzylowane pochodne amin. Opracowane warunki syntetyczne zaadaptowane zostały w badaniach z różnymi alifatycznymi aminami II-rzędowymi (zarówno cyklicznymi jak i acyklicznymi). Otrzymane aminofosfiniany przetestowane zostały jako inhibitory ureaz wybranych patogenów. Wyniki tych badań wykazały, że najbardziej aktywnym z nich był związek wywodzący się z n-heksyloaminy. Ostatni etap badań dotyczył prób zastosowania amin aromatycznych w reakcji fosfa-Mannicha. Wykazane zostało, że zastąpienie konwencjonalnego ogrzewania promieniowaniem mikrofalowym umożliwia otrzymanie

oczekiwanych produktów. Doktorantka, na tym etapie badań przeprowadziła żmudne badania mające na celu opracowanie warunków reakcji gwarantujących selektywne otrzymywanie finalnych produktów. Wykazała, że reaktywność aromatycznych amin nie zależy od ich rzędowości.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że wszystkie prace nad opracowaniem warunków reakcji fosfa-Mannicha z użyciem zróżnicowanych strukturalnie amin, formaldehydu oraz N-blokowanych kwasów α -amino-fosfinowych zmierzały do opracowania metod syntetycznych użytecznych z punktu widzenia badań przemysłowych, gdyż na każdym etapie podejmowano próby oczyszczania finalnych produktów na drodze krystalizacji.

Uzyskane wstępne wyniki uznać należy za niezwykle obiecujące.

Lekturę tekstu rozprawy uznaję za wielce stymulującą do głębszych przemyśleń. Po przeczytaniu rozprawy nasunęły mi się jednak pytania, na które chciałabym uzyskać odpowiedzi:

1. Jakie były przesłanki w stosowaniu zróżnicowanych strukturalnie fosfinowych analogów aminokwasów, na różnych etapach prac badawczych stosowane były: fosfinowe analogi: fenyloglicyny (Cbz-PhgPH), homofenyloalaniny (Cbz-hPhePH), glicyny (Cbz-GlyPH)?

2. Jakie były przyczyny zastosowania takiej ilości zmiennych eksperymentalnych (rozpuszczalnik: etanol, lub etanol-woda), stechiometria reagentów: kwas : amina : formaldehyd (1:2:3, 1:2:4, 1:1:4), czasy reakcji w badaniach nad zastosowaniem N-benzyloamin w kondensacji fosfa-Mannicha (rozdział 7.3.)?

3. Jak powinien wyglądać zapis reakcji Mannicha w tabeli 1 (strona 19)?

4. Co Doktorantka ma na myśli pisząc „monochlorowodorki – podwójne sole wewnętrzne i zewnętrzne”?

5. Czy w badaniach nad optymalizacją reakcji fosfa-Mannicha z różnymi aminami sprawdzane były warunki pełnej konwersji (całkowity zanik substratu fosforowego)?, badania takie powinny bowiem dać odpowiedź o „skrajnych” warunkach prowadzenia reakcji.

6. Jakie mogą być przyczyny zróżnicowania składu izomerów *cis* i *trans* pomiędzy pochodnymi wywodzącymi się z II-rzędowych N-benzyloamin (rozdział 7.3) dla których stosunek nie przekraczał 1:10, a pochodnymi wywodzącymi się z aminokwasów, dla których zawartość *cis* izomeru sięgała nawet 40%?

Błędy i uchybienia natury edytorskiej są nieliczne i nie utrudniają lektury pracy, ale z obowiązku zmuszona jestem do wymienienia niektórych z nich:

strona 73, w podpisie do rysunku 85 jest Cbz-GlyPh, powinno być Cbz-GlyPH, zapis Ph sugeruje obecność grupy fenylowej,

strona 88, zwrot "pozwalają na otrzymanie produktów z lepszą wydajnością i bez większych komplikacji mieszaniny" jest zbyt żargonowy,

strona 96, autorka pisze „Hydrogenolizę grupy Bzl można łatwo śledzić za pomocą ^1H NMR”, brakło słowa wynik hydrogenolizy, lub postęp hydrogenolizy,

strona 97, autorka pisze „Duża ilość aminy całkowicie zahamowuje postęp reakcji”, coś znaczy duża ilość aminy, na tej samej stronie, autorka pisze Produkt **64** powstawał w bardzo małej ilości”, co to znaczy bardzo mała ilość,

strona 100, termin „przeróbka” jest zbyt daleko idącym żargonem chemicznym, na tej samej stronie, autorka pisze, „Dodatkowo N-benzylową pochodną **69** poddano hydrogenolizie katalizowanej palladem z dodatkiem HCl, w celu usunięcia obu grup: Cbz i Bzl”, pochodna **69** przedstawiona na rysunku 120 (strona 99) nie zawiera grupy ochronnej Cbz,

strona 136, stwierdzenie „aminokwasów karboksylowych” jest niepoprawne, należało bądź użyć stwierdzenia aminokwasów, bądź aminokwasów naturalnych,

Za dyskusyjne uznaję uwagi przedstawione poniżej:

1. Szkoda, że w opisach procedur syntetycznych pominięto informację o temperaturach topnienia finalnych związków. W części eksperymentalnej dla części związków opisana jest pełna charakterystyka obejmująca analizy: ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^{31}P NMR oraz MS, zaś dla części jedynie ^1H NMR oraz ^{31}P NMR. W opisie zabrakło również informacji o czystościach finalnych związków.
2. Ostatni punkt, który chciałabym przedstawić dotyczy przejrzystości dysertacji dla czytelnika. Po pierwsze jak już wspominałam, brak jest precyzyjnego wskazania celu pracy oraz zakresu prac badawczych. Przejrzystość tych fragmentów utrudnia informacje literaturowe. Dodatkowym utrudnieniem jest również opisywanie własnych wyników w formie bezosobowej, co utrudnia proste rozróżnienie własnych wyników od danych literaturowych, czy też danych dotyczących prac badawczych w zespole. Przykładowo, rozdział 5 pracy zawarty w badaniach własnych przedstawia metody syntezy kwasów α -amino-*H*-fosfinowych. W rozdziale tym przedstawione są syntezy fosfinowych analogów aminokwasów: fenyloglicyny, homo-fenylalaniny oraz glicyny (związki **1-3**), które Doktorantka stosuje w swoich badaniach. Jednak, z uwagi na fakt, że w części eksperymentalnej opis syntezy tych związków nie jest przedstawiony należy zakładać, że związki te były otrzymane w zespole badawczym,

jednak Doktorantka ich nie syntezowała sama. W moim odczuciu, rozdział ten wprowadza utrudnienia w przejrzystości dysertacji.

Na szczególne wysoką ocenę zasługuje również edytorska oprawa pracy. Dysertacja jest zredagowana bardzo starannie, błędy i uchybienia natury edytorskiej są nieliczne i nie utrudniają lektury pracy. Przytoczone powyżej zestawienie uchybień świadczy, że redakcja tekstu rozprawy znajduje się na bardzo wysokim poziomie a uwagi o charakterze dyskusyjnym nie podważają jej warstwy merytorycznej i w żadnej mierze nie wpływają na moją pozytywną ocenę pracy. Dysertacja daje odpowiedzi na szereg niezmiernie ważnych i aktualnych pytań.

W ramach recenzowanej pracy opracowano metodę syntezy złożonych związków zawierających motyw strukturalny N-C-P-C-N, co daje dostęp do nowych pochodnych aminofosfonianów, które mogą znaleźć szerokie zastosowanie. Zbadano zakres syntetyczny nowej reakcji fosfa-Mannicha z użyciem amin, formaldehydu oraz kwasów α -amino-H-fosfinowych. Wykazane zostało, że II-rzędowe aminy alifatyczne z powodzeniem mogą być stosowane w trójskładnikowej reakcji fosfa-Mannicha, tworząc finalne produkty z zadawalającymi wydajnościami. Uzyskane produkty przebadane zostały pod kątem ich aktywności inhibitorowej względem ureaz wybranych patogenów oraz wyselekcjonowanych aminopeptydaz. Stwierdzono, że w puli testowanych związków obecne są pochodne o interesujących właściwościach inhibitorowych. Doktorantka podjęła również próby zastosowania amin aromatycznych jako składnika trójkomponentowej reakcji fosfa-Mannicha. Okazało, się jednak, że dopiero w warunkach zastosowania promieniowania mikrofalowego możliwe jest uzyskanie oczekiwanych produktów. Doktorantka próbowała również rozszerzyć pulę substratów karbonylowych w reakcji fosfa-Mannicha, jednak pomimo zastosowania: chloroacetaldehydu, kwasu glioksalowego oraz aldehydu salicylowego jedynymi produktami reakcji były odpowiednie pochodne hydroksymetylofosfinowe. Wbrew temu, co mogłoby się wydawać, że ten etap prac zakończył się niepowodzeniem, to jednak biorąc pod uwagę cel pracy, czyli opracowanie nowej metody syntezy złożonych związków fosforoorganicznych oraz zbadanie zakresu stosowalności opracowanej metody, nawet brak pomyślnych wyników reakcji, stanowi informację wartościową z punktu widzenia wiedzy o zakresie stosowalności reakcji. We wszystkich przypadkach wnioskowanie jest dobrze uzasadnione materiałem eksperymentalnym. Analiza wyników eksperymentów jest krytyczna co wzbudza zaufanie do wyciąganych wniosków.

Podsumowując, wysoko oceniam wybór bardzo ambitnego tematu badań w pełni zgodnego ze współczesnymi kierunkami badań zarówno o charakterze podstawowym jak i potencjalnie aplikacyjnym. Wysoce pozytywnie oceniam zastosowanie zróżnicowanych i nowoczesnych metod badawczych, trudny, interdyscyplinarny charakter wykonanych prac niezbędnych dla zrealizowania wszystkich zadań badawczych. Na szczególne uznanie zasługuje nie tak często spotykana biegłość zarówno w wykorzystywaniu szerokiego arsenału metod syntetycznych jak i sprawność w posługiwaniu się złożonymi, współczesnymi technikami analitycznymi. Umiejętności te wystawiają najlepsze świadectwo gruntownej wiedzy oraz dojrzałości naukowej Doktorantki. Wysoko oceniam postęp jaki recenzowana rozprawa wnosi w rozwój chemii organicznej, chemii kombinatorycznej jak i zielonej chemii.

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż uzyskane w ramach rozprawy doktorskiej wyniki badań opublikowane zostały w latach 2010-2015 w czasopismach indeksowanych w JCR. Na opublikowany dorobek mgr inż. Anny Dziełak, które tematycznie związane są z rozprawą doktorską łącznie składają się 2 artykuły opublikowane w czasopismach indeksowanych w JCR oraz 3 artykuły w czasopismach o zasięgu krajowym (w dwóch pracach Doktorantka jest jedynym autorem). Dodatkowo Doktorantka jest współautorem jednej pracy w czasopiśmie indeksowanym w JCR oraz dwóch zgłoszeń patentowych.

Biorąc pod uwagę powyższe fakty z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa spełnia ustawowe i zwyczajowe kryteria stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym z późn. zm. W związku z tym wnoszę do Rady Wydziału Chemii Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie mgr inż. Anny Dziełak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Beata Kolesińska