

Prof. dr hab. Jarosław Lewkowski
Katedra Chemii Organicznej
Wydział Chemii Uniwersytetu Łódzkiego

Łódź, dn. 31 stycznia 2019 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej pana mgr inż. Michała Górnego vel Górniak
pt: „**Synteza związków aminofosfonowych zawierających jednostki fluorogenne**”

Praca doktorska przedstawiona mi do oceny wykonana została w Zakładzie Chemii Bioorganicznej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej pod kierunkiem prof. dr hab. Pawła Kafarskiego. Przyznać muszę, że gdyby nazwisko promotora nie widniało na stronie tytułowej niniejszej pracy, zorientowałbym się bez większych problemów, kto tę pracę promował, gdyż tematyka badań wykonywanych w zespole profesora Kafarskiego oraz sposób ich prowadzenia jest niezwykle charakterystyczny i rozpoznawalny w najlepszym tego słowa znaczeniu.

Praca dotyczy bowiem syntezy układów aminofosfonowych, która to tematyka jest bezsprzecznie realizowana przez profesora Kafarskiego i jego zespół z dużym powodzeniem, co więcej rozwijana z dużym rozmachem w aspekcie zarówno poznawczym, jak i w odniesieniu do ich zastosowań biologicznych. Praca magistra Górnego vel Górniak znakomicie się w tę tematykę wpisuje. Dodam jeszcze, że Politechnika Wrocławska jest kolebką polskich badań nad układami aminofosfonowymi, bo właśnie tu, legendarny profesor Przemysław Mastalerz prowadził swoje prace nad tymi układami.

Zanim rozpocznę jednak właściwą ocenę pracy w jej warstwie merytorycznej i językowej, przedstawię omawianą pracę w ujęciu statystycznym. Nie wiedzieć czemu, takie ujęcie stało się obowiązującym kanonem dla recenzji prac doktorskich w dziedzinie chemii, bo każda z wysłuchanych przeze mnie zawierała te informacje. Aby nie odbiegać nazbyt od ogółu i pokłonić się dogmatom, odnotowuję, co następuje: rozprawa doktorska pana Górnego vel Górniak liczy sobie 175 stron. Napisana została w sposób nieomal klasyczny, autor podzielił ją na siedem rozdziałów, z których pierwszy, zatytułowany „*Stan obecnej wiedzy w zakresie dysertacji*” stanowi przegląd literatury dotyczącej narzędzi diagnostycznych w medycynie, fluorescencyjnych sond oraz

układów aminofosfonowych. Pozostałe sześć rozdziałów dotyczy już własnych prac badawczych autora. Całość uzupełnia spis literatury liczący 136 pozycji.

Pierwsza część rozdziału „*Stan obecnej wiedzy w zakresie dysertacji*” wprowadzić ma czytelnika dość skomplikowany świat diagnostycznych narzędzi stosowanych głównie w medycynie takich jak: chipy diagnostyczne, macierze peptydowe, macierze białkowe i sondy fluorescencyjne. I z pewnością wprowadza. We wstępie do tegoż podrozdziału, autor wykłada filozofię narzędzi diagnostycznych, aby następnie omówić poszczególne metodologie ich tworzenia; w ten sposób czytelnik ma możliwość zapoznania się z metodami przygotowania macierzy peptydowych i białkowych oraz z najnowszymi trendami zastosowanych podłoży stałych. Dowiadujemy się, np., że płytki szklane i polimerowe nie są podłożami uniwersalnymi i że nanorurki węglowe jawią się jako materiał przyszłości. Tego fragmentu pracy, z uwagi na mój oczywisty brak kompetencji w tej dziedzinie, oceniać nie będę.

Podrozdział dotyczący sond fluorescencyjnych został napisany zgodnie z najlepszymi zasadami pisania podręczników – najpierw czytelnik zapoznany zostaje z fluorescencją jako zjawiskiem i dopiero wówczas autor omówił zastosowania fluorescencji w detekcji kationów metali i w badaniach biologii komórki.

Następny podrozdział opisuje układy aminofosfonowe, metody ich otrzymywania oraz możliwości zastosowania tej grupy związków jako substancji antyproliferacyjnych, przeciwbakteryjnych oraz pestycydów. Przegląd możliwych zastosowań biologicznych ujęty został w rozdziale zatytułowanym: „Związki aminofosfonowe – obecność w nauce i praktyce”. Przegląd dość bogaty dodam, bo autor nie ograniczył się do opisanie takich układów handlowych jak glifosat (nazywany przez doktoranta **glifozatem**, doprawdy nie wiem czemu), bialafosu, czy fosfotrycyny. Pan Górny vel Górniak sięgnął po dość istotne, współczesne prace stwierdzające interesujące właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze aminofosfonianów oraz kilka prac traktujących o właściwościach inhibicyjnych niektórych aminofosfonianów, zwłaszcza dotyczących inhibicji proteazy serynowej.

Pisząc o syntezie układów aminofosfonowych, autor ujął wszystkie metody, które liczą się we współczesnej chemii. Opisał reakcję Kabachnika-Fieldsa, nazywając ją, słusznie zresztą, reakcją fosfa-Mannicha, wspominał reakcję nazwaną hydrofosfonylacją imin, o której należałoby raczej mówić hydrofosfonylowaniem imin, wszak nie mówimy „metylacja”, tylko „metylowanie”. Opisał również reakcję Oleksyszyna-Soroki. W dalszej kolejności pan Górny vel Górniak przedstawił rozdział poświęcony kwasom fosfonowym, a właściwie ich syntezie. Na początku rozdziału, autor zaznaczył, iż „*Drogi syntezy kwasów fosfonowych są naprawdę liczne...*” oraz, że przedstawi

metody: „*arbitralnie wybrane i najszerzej stosowane...*” Nie wiem, jakimi kryteriami autor się kierował i pozostaje dla mnie tajemnicą przyczyna, dla której „arbitralnie” pominął reakcję Arbuzowa. Choć przyznaję, że reakcje przytoczone w tym rozdziale są niezmiernie ciekawe. Niepokoi mnie jednak fakt, iż brak jest w tym rozdziale jakiegokolwiek odniesienia do literatury chemicznej, autor nie zacytował choćby jednej, jedynej pracy, która opisywałaby te reakcje. Dla mnie, jako recenzenta jest to poważny błąd merytoryczny, zaś dla mnie jako czytelnika – duża szkoda, bowiem chętnie poczytałbym więcej o reakcji ze schematu 1.3.24, czy 1.3.25. Jeszcze bardziej niepokojącym jest fakt, że związków będących produktami końcowymi reakcji ze schematów 1.3.24 i 1.3.25, **nie ma** w bazie REAXYS. Nie oznacza to oczywiście, że związki te nie istnieją, ale jestem zmuszony poprosić pana Górnego vel Górniak o wyjaśnienia w tej sprawie podczas obrony.

Celem pracy badawczej pana Górnego vel Górniak była synteza związków aminofosfonowych mających właściwości fluorescencyjne. Te związki mają posłużyć do konstrukcji chipów diagnostycznych mogących śledzić różnice między tkankami zmienionymi patologicznie, a zdrowymi. W tym celu, doktorant przeprowadził syntezę aminofosfonianów, które poddane zostały reakcji transestryfikacji, tak, aby do grupy fosfonowej wprowadzić grupy mające właściwości fluorescencyjne.

W pierwszym kolejności, do syntezy aminofosfonianów, autor postanowił wykorzystać reakcję Kabachnika-Fieldsa zmodyfikowaną przez profesorów Oleksyszyna i Sorokę. Otrzymał w ten sposób szereg aminofosfonianów pochodnych benzaldehydu, naftaleno-1- i -2-karboaldehydu, antraceno-9-karboaldehydu oraz trzech izomerycznych nitrobenzaldehydów. Planowana reakcja di-transestryfikacji nie doprowadziła do oczekiwanych produktów, natomiast dość żmudna w wykonaniu, trójetapowa reakcja polegająca na mono-hydrolizie aminofosfonianu, chlorowaniu monoestru i reakcji chlorofosfonianu fenyłowego z odpowiednimi alkoholami doprowadziła do otrzymania mieszanych estrów kwasów aminofosfonowych.

Drugą zastosowaną przez pana Górnego vel Górniak metodą syntezy aminofosfonianów była reakcja hydrofosfonowania (lub jak autor chce: hydrofosfonylacji) imin (zasad Schiffa) różnych aldehydów aromatycznych i aromatycznych amin. Gwoli ścisłości, ta reakcja bywa również nazywana reakcją aza-Pudovika i tę nazwę, piszący te słowa lubi najbardziej.

Aby takową reakcję przeprowadzić, autor niniejszej rozprawy dokonał syntezy całego szeregu imin zawierających w swych cząsteczkach takie ugrupowania, jak naft-1-yłowe, naft-2-yłowe, antraceno-9-yłowe, nitrofenylowe, a następnie wykorzystał je do syntezy aminofosfonianów difenyłowych, poprzez addycję fosforynu difenyłowego i dibenzyłowego do azometinowych wiązań zasad Schiffa.

Żonglując warunkami reakcji, stosując raz wrzący toluen, innym razem wrzący acetonitryl, autor otrzymał dość pokaźny zestaw aminofosfonianów difenylowych i dibenzylowych. Czasem, produktami reakcji były monoestry kwasów aminofosfonowych. Sporo spośród badanych prób syntez było nieudanych, to znaczy wyniki eksperymentów były sprzeczne z oczekiwaniami autora (i jak miemam promotora). Nie jest to w najmniejszym stopniu zarzut z mojej strony, pracując przez lata ze związkami aminofosfonowymi, wiem jak bardzo kapryśne potrafią one być, co więcej, jak bardzo nieprzewidywalny jest przebieg zarówno reakcji Kabachnika-Fieldsa, jak i reakcji aza-Pudovika. Nie dziwi mnie wobec tego, cały szereg niepowodzeń autora, wiem natomiast, że na francuskie zawołanie „*chapeau-bas*” zasługuje on bardzo, zważywszy na to, jak wiele z badanych przez siebie reakcji „nakłonił” do „współpracy”.

Kolejnym etapem pracy pana Górnego vel Górnika były próby otrzymania kwasów aminofosfonowych na drodze addycji produktu reakcji fosforynu trietylowego z bromkiem trimetylosylilowym do imin i późniejszej metanolizy. Owym produktem reakcji fosforynu trietylowego z BrTMS jest najprawdopodobniej fosforyn tri(trimetylosylilowy), ale może być nim również fosforyn di(trimetylosylilowy). Tą drogą, autor otrzymał 11 kwasów aminofosfonowych.

Ukoronowaniem badań pana Górnego vel Górnika miały być badania fluorescencyjne otrzymanych układów jako potencjalnych markerów. Niestety, nie dało się ich wykonać dla wszystkich otrzymanych związków, co, według autora spowodowane było niedostateczną czystością zsyntezowanych związków, a co za tym idzie niemiernymi wynikami. Wybrane związki badano pod kątem ich oddziaływań z enzymami z homogenatów tkankowych zdrowych i patologicznie zmienionych. Wyniki tychże badań pozwoliły autorowi stwierdzić, że jego założenia dotyczące możliwości stosowania układów aminofosfonowych do odróżniania tkanek zdrowych od zmienionych chorobowo są słuszne. Stwierdził on ponadto, że im większa jest ilość pierścieni w wielopierścieniowym podstawniku aromatycznym, tym większa jest fluorescencja. Zgadzam się z tym, ale prowokuje mnie to do zadania pytania, czemu wobec tego, pan Górny vel Górnik zakończył na podstawniku antracenowym, czemu nie sięgnął po tetracen lub piren. Zwłaszcza układy pirenowe, gdyż pomógłbym zaoszczędzić autorowi sporo pracy, podsyłając mu próbki aminofosfonianów pochodnych pirenu, których sporą ilość mam w laboratoryjnej lodówce w Katedrze.

Część eksperymentalną, autor opisał bardzo przejrzysto, do tego stopnia, że chcąc wykonać tę, czy inną reakcję na podstawie jego opisu, byłbym to w stanie zrobić bez większych problemów. I muszę tu z całą mocą stwierdzić, że jest to najlepiej napisana i przygotowana część pracy. Pozostałe części napisane są dość chaotycznie, autor stosował język, który w jego zamyśle miał

prawdopodobnie brzmieć bardzo „naukowo” i „poważnie”, a w konsekwencji spowodował, iż przekazywane przesłanie stało się niejasne. Egzaltowany sposób wypowiedzi pana Górnego vel Górniak sprawił, iż niektóre sformułowania brzmiały, delikatnie mówiąc, dziwnie. Aby nie być gołosłownym, niech mi będzie wolno przytoczyć kilka przykładów:

- „grupa związków zawierających wspólny mianownik w postaci grupy blokującej...” str. 110
- „uzyskanie wysoko rozdzielonych mieszanin poreakcyjnych”, str. 100
- „Za sprawą wszechobecnego pędu rozwojowego, jesteśmy w stanie...” str. 8
- „Zarówno macierze białkowe, jak i peptydowe charakteryzują się ogromnym potencjałem poznawczym...” str. 13
- „W rezultacie tworzy się przyczółek do dalszego rozwoju struktur...”, str. 33
- „Odkrycie białafosu pozwoliło na poznanie antybakteryjnej aktywności jego krótkich peptydów.” str. 36

czy tytuł rozdziału „Stan wiedzy w zakresie dysertacji”

I, oczywiście kilkanaście innych, których wymieniać nie będę, bo nie jest moim celem konsternowanie autora, a jedynie zasugerowanie mu bardziej ascetycznej formy przekazu, czyli, aby ująć myśl bardziej serdecznie: *pisz Pan, Drogi Panie nieco prostszym językiem.*

Nie będę także wymieniać błędów korektorskich, może poza jednym, który mimowolnie można uznać za błąd merytoryczny. W opisie do schematu 3.3.12 jest „... fosforynu difenylowego”, a powinno być „fosforynu dibenzylowego”. Pozostałe nie mają znaczenia i choć występują, nie zmieniają sensu zdań czy fraz.

Dość oryginalny sposób numeracji związków jest szczególnym mankamentem pracy – Drogi Autorze, proszę mi wierzyć, że nadawanie związkom symboli, które są bliźniaczo podobne do numerów schematów i rozdziałów nie ułatwia czytania książki.

Na koniec, mała uwaga, pierwszy raz spotkałem się z pracą doktorską, w której brak jest listy publikacji autora pracy, zwłaszcza tych artykułów, na których oparty został doktorat. Ale, w dzisiejszej dobie, znalezienie wszystkich publikacji tej, czy innej osoby jest kwestią 10 minut, co uczyniwszy, przekonałem się, że pan Górny vel Górniak jest współautorem co najmniej trzech artykułów. Do pracy, nie dołączono także życiorysu zawodowego doktoranta, nie wiem, wobec tego, czy otrzymał kiedykolwiek grant z jakiegokolwiek źródła, czy działał w samorządzie doktorantów albo, czy wykazywał jakąkolwiek aktywność organizacyjną w ramach Wydziału. Nie wiem nic na ten temat, wobec czego nie mogę wystawić panu Górnemu vel Górniak zwyczajowej „laurki”, jak to czyni się dziś w recenzjach doktoratów.

Reasumując, lista „błędów i wypaczeń” pana Michała Górnego vel Górniak nie świadczy w żadnej mierze o mojej niskiej ocenie jego pracy. Wręcz przeciwnie, pracę pana Górnego vel Górniak uważam za ciekawą i oceniam bardzo wysoko, ale jako krytyczny czytelnik pokazuję jej słabsze punkty. Nie obniżają one jednak wartości merytorycznej pracy, a jedynie sprawiły, iż pracę pana Michała czytało mi się niekomfortowo. Natomiast w sprawie rozdziału poświęconego układom fosfonowym poprosiłbym o wyjaśnienia, bowiem w obecnym stanie ten rozdział nie stanowi żadnej wartości naukowej.

Wobec powyższego, uważam, że praca pana mgr inż. Michała Górnego vel Górniak spełnia wymogi ustawowe (*artykuł 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki*) oraz, co ważniejsze – wymogi zwyczajowe stawiane pracom doktorskim i wnioskuję do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie Go do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Jerzy
Lewkowicz