



Warszawa, 19 sierpnia 2024

Recenzja pracy doktorskiej mgr. Mariusza Rosy
Reakcje nukleofilowej substytucji aromatycznej w syntezie wybranych hybryd porfiryńowych

Przedłożona do recenzji praca doktorska mgr. Mariusza Rosy została wykonana na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej. Promotorem rozprawy jest prof. dr hab. inż. Stanisław Ostrowski.

Jej celem była synteza układów hybrydowych porfiryńa / furoksan i porfiryńa / cukier oraz próba oceny ich użyteczności w terapii i diagnostyce nowotworów. Praca ta stanowi kontynuację wcześniejszych prac Promotora, poświęconych syntezie układów porfiryńowych. Przedstawiona rozprawa wpisuje się więc logicznie w tematykę realizowaną w zespole Promotora. Ze względu na własności fotochemiczne pochodnych porfiryń, poszukiwanie aktywnych biologicznie analogów i próby ich zastosowania w terapii i diagnostyce nowotworów zasługują na uwagę.

Praca została przygotowana w formie tradycyjnej rozprawy i wydana w formacie książkowym charakterystycznym dla rozpraw doktorskich składanych na Politechnice Warszawskiej. Liczy 140 stron i składa się z trzech głównych części – części literaturowej, omówienia wyników badań własnych i części eksperymentalnej. Praca zawiera również krótkie streszczenie po polsku i angielsku oraz wstęp, w którym Autor przedstawił uzasadnienie i cel pracy (nb. wzór związku **7** na rysunku 4 ma błędnie narysowany fragment furoksanu). Rozprawę kończy spis literatury (87 pozycji).

Część literaturową Autor poświęcił omówieniu reakcji substytucji w pozycjach β - i *mezo*- pierścienia porfiryńowego oraz reakcjom typu S_NAr w pierścieniach *mezo*-fenyłowych. Mimo ogromnej popularności badań układów porfiryńowych, literatura dotycząca tematyki rozprawy jest zadziwiająco skromna. Stawia to Autora rozprawy w dobrej sytuacji – nawet stosunkowo proste przekształcenia mają element nowości i pozwalają na otwarcie nowych ścieżek badawczych w syntezie pochodnych porfiryńowych. Wprowadzenie napisane jest jasnym i klarownym językiem. Omawiane problemy są dobrze zilustrowane licznymi schematami. Praktycznie nie pojawiają się błędy literowe, czy niezręczne sformułowania. Zaprezentowany przez Doktoranta materiał można uznać za w pełni wystarczający do zrozumienia stojących przed Doktorantem wyzwań badawczych i dobrze uzasadniający podjętą tematykę.

Kolejny rozdział – *Badania własne* – rozpoczyna opis syntezy substratów. Chociaż, jak zaznacza sam Autor, synteza większości podstawowych substratów porfiryńowych potrzebnych do realizacji badań jest opisana w literaturze, to jednak i tu udało się uzyskać kilka nowych wyników. Autor otrzymał np. nowe fluoroporfiryńy (**102g,h**), czy też zoptymalizował reakcje nitrowania pierścieni *mezo*-fenyłowych. Ponieważ zastosowanie w tych reakcjach dymiącego kwasu azotowego dawało produkty z niskimi wydajnościami,



Doktorant zaproponował nitrowanie za pomocą azotynu sodu w kwasie trifluorooctowym. W tym przypadku, po optymalizacji warunków reakcji wydajność pożądaných produktów była już co najmniej zadowalająca, a reakcje były powtarzalne. Co szczególnie istotne, użycie azotynu sodu jako czynnika nitrującego pozwala na selektywne otrzymywanie pochodnych mononitrowanych (Schemat 46). Niepowodzeniem zakończyły się natomiast próby wykorzystania *N,N*-dibenzyloamino-porfiryn. Ich nitrowanie było nieselektywne. Zdaniem recenzenta, zastosowanie metod przepływowych, umożliwiających dokładną kontrolę warunków reakcji, do nitrowania badanych pochodnych, powinno usunąć większość wspomnianych przez Autora problemów i, być może, znacznie poprawić wydajność procesu.

Następnie Autor omówił syntezę połączeń zawierających resztę furoksanu. Hybrydy porfiryna / furoksan zostały niedawno zsyntezowane w zespole Promotora. Budzą one duże zainteresowanie jako potencjalnie biologicznie aktywne pochodne – donory tlenu azotu(II). Doktorant opracował metodę syntezy pochodnych zawierających resztę furoksanu zarówno w pierścieniu *mezo*-fenylowym, jak i w pozycjach β,β porfiryn. W tym drugim przypadku, problemy z rozpuszczalnością substratów utrudniły skutecznie syntezę, szczególnie pochodnych dwupodstawionych. Co gorsza, produkty były prawdopodobnie mieszaniną furoksanu i związku dinitrozowego. Jednoznaczne określenie budowy produktu okazało się niemożliwe, jak rozumiem, z braku selektywnych metod analitycznych pozwalających na rozróżnienie tych grup funkcyjnych. W tej części rozprawy Autor używa dziwnego i niezręcznego określenia "obszary reagowania".

Na zakończenie badań syntetycznych Doktorant podjął próbę, dodajmy od razu że udaną, otrzymania hybryd porfiryna / cukier. Wprowadzenie fragmentu sacharydowego miało na celu poprawienie rozpuszczalności syntezowanych porfiryn w płynach ustrojowych, co jest niezbędne do ich praktycznego zastosowania. Do wprowadzenia fragmentu cukrowego Autor zastosował reakcję S_NAr nitroporfiryn z atomem halogenu w pozycji *orto* z cukrami posiadającymi niezabezpieczoną pierwszorzędową grupę hydroksylową (w jednym przypadku również drugorzędową). Po optymalizacji procesu (najlepszym rozpuszczalnikiem okazała się trietyloamina), Doktorant był w stanie otrzymać pożądanę pochodną z dobrymi i bardzo dobrymi wydajnościami. Substratami były zarówno wolne porfiryny, jak i ich kompleksy z metalami. Co ważne, powodzeniem zakończyły się również próby odbezpieczenia grup hydroksylowych w resztach cukrowych, chociaż Autor stosował bardzo drastyczne metody (stężony kwas solny i wysoka temperatura). Zastosowanie znanych w chemii cukrów, łagodnych metod usuwania zabezpieczeń izopropylidenowych, powinno dać znacznie wyższe wydajności produktów.

Ta część opisu badań własnych sprawiła Doktorantowi najwięcej problemów. O ile sprawnie porusza się On w chemii i opisach porfiryn, to chemia cukrów sprawia Mu wyraźny problem. W tekście występują liczne błędy nomenklaturowe i dyskusyjne wzory produktów. Przede wszystkim, nie mamy tu do czynienia z glukozą, galaktozą itp. W syntezie używane są np. (odpowiednio zabezpieczone) glukopiranoza, rybofuranozyd itd. Po odbezpieczeniu grup hydroksylowych, cukry z wolną pozycją anomeryczną tworzą na ogół złożone mieszaniny. Autor co prawda o tym wspomina w dyskusji i opisie widm NMR, ale nie znajduje to odzwierciedlenia we wzorach produktów na schematach. Produkt **178** (pochodna glukozy) na pewno nie zachowa struktury furanozy; produktami głównymi będą dwie piranozy, z niewielką tylko domieszką furanoz. W przypadku pochodnych galaktozy należy spodziewać się sytuacji odwrotnej – dominować powinny furanozy, z nieco mniejszym udziałem piranoz. Natomiast na stronie 80 Doktorant stwierdza, że *tylko*



porfiryne, która przechodzi do roztworu reaguje szybko we wszystkich pozycjach. Natomiast nierozpuszczona - nie reaguje w ogóle, co jest chyba "oczywistą oczywistością".

Na zakończenie tej części rozprawy Autor przedstawia wyniki badań biologicznych czterech pochodnych wykonane w Katedrze Biotechnologii Medycznej P.W. Badane związki wykazywały wystarczającą do badań komórkowych rozpuszczalność. Cytotoksyczność pochodnych cukrowych była niska, zarówno wobec linii komórkowych ludzkiego czerniaka, jak i zdrowych komórek. Nieco wyższą cytotoksyczność miała pochodna fluorowa. Wychwyty komórkowy był badany na linii komórkowej raka płuc. W tym przypadku najsilniej wychwytywana była pochodna zawierająca resztę galaktozy. Warto by sprawdzić również pochodne L-ramnozy, która wykazuje duże powinowactwo do komórek rakowych i w wielu badaniach biologicznych jej pochodne należą do najbardziej aktywnych. Otrzymane wyniki zachęcają do podjęcia dalszych badań nad syntezą hybryd porfiryne / cukier i badaniem możliwości ich wykorzystania w terapii i diagnostyce raka. Szkoda, że nie zostały zbadane pochodne z resztą furoksanu. We wstępie do rozprawy Autor zachwalał ich potencjalne zastosowanie w terapii. Chętnie usłyszę uzasadnienie ich pominięcia w testach biologicznych.

Rozprawę doktorską zamyka obszerna *Część eksperymentalna* zawierająca szczegółowy opis przeprowadzonych syntez i analizy strukturalnej. Przy każdym opisie Autor zamieścił wzór strukturalny związku, co ułatwia analizę prezentowanych danych. Recenzent z przyjemnością stwierdza, że ta część pracy została przygotowana bardzo starannie. Eksperymenty zostały należycie opisane, Doktorant wykonał wszystkie niezbędne analizy. Przypisania struktury otrzymanych związków nie budzą moich wątpliwości. Korekty wymagają jedynie niektóre nazwy pochodnych cukrowych, zgodnie z obowiązującymi regułami nomenklaturowymi (np. zamiast 1-O-metylo-2,3-O-izopropylideno- β -D-rybofuranosa powinno być 2,3-O-izopropylideno- β -D-rybofuranozyd metylu) i niektóre wzory strukturalne.

Na uwagę zasługuje strona edytorska rozprawy. Praktycznie nie pojawiają się uchybienia w interpunkcji czy niezręczności stylistyczne. Autor uniknął także stosowania żargonu naukowego. Bardzo nieliczne błędy, które udało mi się dostrzec, nie wpływają na ocenę wartości naukowej pracy. Także pod względem merytorycznym nie mam do przedstawionej pracy zastrzeżeń. Uważam, że założone cele zostały osiągnięte. Doktorant opracował syntezę nieopisanych wcześniej hybryd porfiryne. Badania biologiczne kilku z nich potwierdziły obiecujący profil aktywności, co zachęca do podjęcia dalszych badań nad syntezą ich analogów. Znaczna część uzyskanych wyników została opublikowana w czterech publikacjach, co jest wynikiem godnym podkreślenia.

W mojej opinii przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pana mgr. Mariusza Rosy spełnia wymagania zwyczajowe i wymogi obowiązującej ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym. Dlatego też wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Warszawskiej wniosek o dopuszczenie mgr. Mariusza Rosy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zbigniew Pakulski