UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Dr hab. Konrad Misiura, prof. UMK
Katedra Technologii Chemicznej
Środków Leczniczych

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr. Tomasza Jakubowskiego

p.t.:

Boranofosfoniany – właściwości i nowe drogi syntezy

Aktualnie w naukach chemicznych ciągle przywiązuje się dużą wagę do opracowywania nowych metod syntezy związków, które następnie mogą być wykorzystywane do badań biochemicznych, farmaceutycznych i diagnostycznych. Synteza chemiczna stała się elementem szerszego i zunifikowanego podejścia badawczego jakim jest chemia biologiczna. Jądrem tej chemii jest otrzymywanie kluczowych komponentów komórkowych jakim są między innymi kwasy nukleinowe. Fragmenty kwasów nukleinowych odgrywają istotną role w diagnostyce medycznej, a ich liczne modyfikacje mają ogromny potencjał terapeutyczny.

A zatem trudno jest przecenić wagę badań nad opracowywaniem nowych, wydajnych metod syntezy analogów nukleozydów i oligonukleozydów oraz analizę ich właściwości chemicznych. Biorąc powyższe pod uwagę wybór tematu ocenianej pracy doktorskiej uważam za bardzo trafny. Temat ten zrealizowano w Zakładzie Chemii Komponentów Kwasów Nukleinowych ICHB PAN w Poznaniu. Celem realizowanej pracy były badania nad nowymi możliwościami syntezy boranofosfonianów oraz zbadanie reaktywności monoestrów boranofosfonianowych wobec utleniaczy i określenie ich trwałości. Założony program badań został zrealizowany przez pana mgr. Tomasza Jakubowskiego pracującego pod opieką prof. Jacka Stawińskiego i pani dr Joanny Romanowskiej. Jest mi nieco trudno zdefiniować horyzont czasowy, w którym recenzowane badania były wykonane, ale przypuszczam, że były to lata 2014-2019.

Katedra Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Collegium Medicum UMK, ul. dr. A. Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz
tel.: 52 585 35 22; fax: 52 585 39 20, e-mail: kmisiura@cm.umk.pl
www.cm.umk.pl

Prezentująca wyniki tych prac rozprawa liczy 137 stron i ma układ klasyczny tj. składa się z części teoretycznej, celu pracy, dyskusji wyników, podsumowania, części eksperymentalnej, literatury.

W części literaturowej liczącej 30 stron i 48 odnośników literaturowych został przedstawiony aktualny stan wiedzy na temat boranofosfonianowych analogów nukleotydów i oligonukleotydów. Temat ten znakomicie koresponduje z całością rozprawy, gdyż właśnie w tym obszarze zlokalizowane są badania własne Doktoranta. Przedstawiony opis jest w miarę wyczerpujący i obejmuje prace o znaczeniu historycznym, jaki i aktualne kierunki badań. Przegląd ten obejmuje zarówno analizę stosowanych metod syntezy, jak i podstawowe właściwości boranofosfonianów. Za szczególnie interesujący uważam fragment opisujący otrzymywanie stereoregularnych boranofosfonianowych analogów DNA, zarówno metodami chemicznymi jak i enzymatycznymi. W części poświęconej syntezie zabrakło mi jedynie pracy Wady i wsp. (grudzień 2019) opisującej syntezę chimerycznych fosforo/ boranofosfonianowych fragmentów DNA. Związki te są wysoce obiecujące w koncepcji antysensowych terapeutycznych kwasów nukleinowych. Niestety podrozdział 1.2.5 „Właściwości i zastosowanie biologiczne boranofosfonianów" jest niekompletny. Przede wszystkim zabrakło mi omówienia prac nad wykorzystaniem pochodnych boranofosfonianowych jako związków przeciwwirusowych. Różnego typu pochodne leków typu NRTI (nukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy) są przecież intensywnie badane w Zakładzie , w którym Doktorant pracuje. Również należałoby wspomnieć o możliwym wykorzystaniu analogów boranofosfonianowych w terapii siRNA. Powyższe uwagi nie zmieniają faktu, że całościowo część teoretyczną pracy uważam za bardzo wartościową.

Następnie w dwustronicowym Celu pracy pan mgr Jakubowski dokonał zwartego wprowadzenia w tematykę rozprawy oraz przedstawił trzy zasadnicze cele swoich badań. Realizacja tych celów została przedstawiona w części Dyskusja wyników, która liczy 63 strony.

Pierwsza część tej dyskusji , którą można również zdefiniować jako badania własne, obejmuje prace nad syntezą boranofosfonianów w formie zarówno mono, jak i diastrów. Doktorant rozpoczął badania te od opracowania optymalnego źródła boranu stosowanego w tych syntezach. We wcześniejszych badaniach wykorzystano kilka handlowo dostępnych reagentów boranujących, ale stosowanie każdego z nich obarczone było pewnymi wadami. Opracowana przez mgr. Jakubowskiego metoda z wykorzystaniem borowodorku sodu i jodu jako utleniacza wydaje się być optymalną. Jednocześnie Doktorant zdefiniował, że rodzaj stosowanego rozpuszczalnika ma istotny wpływ na przebieg reakcji boranowania H-fosfonianów i najlepszym do tego celu jest acetonitryl. W trakcie tych badań wykonano szereg analiz modelowych reakcji, których postęp śledzono za pomocą nowoczesnych technik spektralnych tj. ^{11}B i ^{31}P NMR. Uzyskane wyniki były również racjonalizowane przez analizę możliwych

mechanizmów tych przemian. Podobną analizę dokonano dla reakcji aktywacji H-fosfonianu i określono, że stosowanie do tego celu chlorku trimetylosililowego w obecności trietyloaminy jest rozwiązaniem optymalnym. Doktorant prowadził również badania nad wykorzystaniem do tego celu innych zasad tak jak sód, wodorek sodu oraz tert-butanolan i izopropanolan sodu. Wydajności tworzących się w ten sposób produktów były porównywalne do tych uzyskanych przy użyciu trietyloaminy jako zasady. Ciekawe również były próby wykorzystania w tych reakcjach DBU jako zasady i stwierdzenie, że w tym przypadku uzyskano mieszaniny produktów, a maksymalny stopień przereagowania substratu wyniósł jedynie 80%.

Mgr Jakubowski podjął również próby rozszerzenia stosowalności opracowanych przez niego metod syntezy boranofosfonianów na otrzymywanie analogów boranotiofosfonianowych. Na podstawie analizy widm mieszanin reakcyjnych wykazał, że pożądany produkt tworzył się z wydajnością od 40 do 69%, czyli całkiem dobrą. Produkt boranotiofosfonianowy był jednak trudny do wyizolowania w stanie czystym i dlatego nie kontynuowano badań w tym zakresie.

Podsumowując tą część badań mgr. Jakubowskiego można z pełnym przekonaniem stwierdzić, że opracował on nową, wydajną i prostą metodę otrzymywania boranofosfonianów w postaci mono- i diestrów. Wykorzystał on również te procedury do otrzymywania boranofosfonianowych pochodnych azydotymidyny. Ku zaskoczeniu recenzenta ten fragment badań został przedstawiony bardzo lapidarnie. Brakuje w części eksperymentalnej danych spektralnych dla tych połączeń, a przede wszystkim brak jest odniesienia się do możliwych właściwości przeciwwirusowych tych potencjalnie aktywnych analogów AZT.

W następnym rozdziale mgr Jakubowski opisał badania nad syntezą pirydynioboranofosfonianów. Powstawanie tych pochodnych było nieoczekiwane ale stanowiło interesującą możliwość opracowania nowej metody syntezy tej klasy związków. Tworzyły się one w reakcji boranofosfonianów z jodem lub chlorkiem trytylowym prowadzonych w obecności nadmiaru pirydyny. Podobnie jak i w poprzedniej części Doktorant skoncentrował się na analizach możliwych mechanizmów tworzenia się pirydynioboranofosfonianów, a pominął opis możliwych aktywności biologicznych tych połączeń.

W ostatniej, trzeciej części swoich badań mgr Jakubowski odniósł się do kwestii stabilności monoestrów boranofosfonianów. Sprawa ta była już wcześniej opisywana w literaturze przede wszystkim w kontekście potencjalnego wykorzystania tych związków do badań biologicznych. Doktoranta interesowały natomiast uwarunkowania syntetyczne tej nietrwałości. Związki te ulegają rozpadowi z wytwarzaniem wyjściowych monoestrów H-fosfonianowych. Dlatego też w syntezie pirydynioboranofosfonianów tak istotna była reakcja *in situ* boranofosfonianów i prowadzenie dwóch etapów podczas jednej syntezy.

Przeprowadzone badania zostały udokumentowane w Części eksperymentalnej. Opis badań syntetycznych jest bardzo dobry. Jedynie pewną trudność w korelacji Badań własnych i Części eksperymentalnej stanowi brak numeracji otrzymywanych związków. Przeprowadzone doświadczenia zostały zrealizowane pod względem merytorycznym bez zarzutu. Na szczególne podkreślenie zasługuje dogłębna analiza otrzymywanych mieszanin reakcyjnych za pomocą ^{11}B-i ^{31}P-NMR.

Wyniki uzyskane przez pana mgr. Jakubowskiego dokumentują jego zdolności badawcze w zakresie chemii organicznej. Zostały one opublikowane w pięciu publikacjach. W jednej z nich doktorant jest pierwszym współautorem. Dwie ostatnie publikacje ukazały się w wiodących periodykach z dziedziny chemii organicznej i medycznej. A zatem aktualny dorobek naukowy mgr. Jakubowskiego jest bardzo dobry. Mnie szczególnie zainteresowały rozważania mechanistyczne stanowiące istotne uzupełnienie badań syntetycznych. Jedyną moją uwagą o charakterze dyskusyjnym do recenzowanej rozprawy jest brak odniesień do możliwych aktywności biologicznych części otrzymywanych związków.

W podsumowaniu stwierdzam, że oceniana praca wnosi istotny wkład w rozwój badań nad syntezą i właściwościami boranofosfonianów, co stanowi oryginalny i twórczy dorobek naukowy Autora. Biorąc to pod uwagę wnoszę o dopuszczenie pana mgr. Tomasza Jakubowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
KATEDRY TECHNOLOGI
CHEMICZNEJ ŚRODKÓW LECZNICZYCH

dr hab. Konrad Misiura, prof. UMK

Bydgoszcz, 21.05.2020 r.