

Dr hab. Zbigniew Kałuża, prof. nadzw.  
Instytut Chemii Organicznej  
Polskiej Akademii Nauk

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

**zatytułowanej „*Badania nad katalizowaną solami miedzi(I) asymetryczną reakcją terminalnych alkinów z acyklicznymi nitronami*”**

złożonej przez mgr Łukasza Muchę Radzie Naukowej Instytutu Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk w celu uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych

Odkrycie bakteriobójczych własności penicyliny dokonane w 1928 przez Alexandra Fleminga rozpoczęło nową erę w medycynie. Za to odkrycie, jak również za ustalenie pełnej struktury penicyliny i dalsze prace związane z produkcją pierwszego skutecznego leku przeciwko infekcjom bakteryjnym, Fleming, Florey i Chain, zostali uhonorowani w 1945 r. Nagrodą Nobla. Zapoczątkowało to dalsze badania nad tą grupą związków, których struktury posiadają wspólny element: czterocząłonowy pierścień  $\beta$ -laktamowy. Do tej pory wydzielono szereg antybiotyków  $\beta$ -laktamowych, takich jak cefalosporyny, karbapenemy, monobaktamy, jak też otrzymano syntetyczne pochodne o zmodyfikowanych właściwościach. Pod koniec ubiegłego wieku dokonano interesującej obserwacji, że pochodne  $\beta$ -laktamów, zarówno naturalne jak i syntetyczne wykazują również inne rodzaje aktywności biologicznej, np. przeciwnowotworowe, antywirusowe, przeciwgrzybiczne, obniżają poziom cholesterolu i selektywnie blokują szereg istotnych enzymów. Toteż nic dziwnego, że w wielu grupach badawczych, w tym w zespole prof. Furmana, są nadal prowadzone prace nad rozwojem nowych metod syntezy asymetrycznej tej klasy związków.

Tematyka przedłożonej rozprawy doktorskiej wykonanej w ramach studiów doktoranckich w Instytucie Chemii Organicznej PAN, pod opieką naukową prof. Bartłomieja Furmana jest ściśle związana z prowadzonymi od kilku lat w jego zespole badaniami, a tytuł pracy w pełni odpowiada jej treści. Rozprawa została przygotowana w klasyczny sposób. Liczy łącznie 142 strony i zawiera 6 zasadniczych rozdziałów. „Część literaturowa” pod względem objętości jest

najobszerniejsza i została przedstawiona na 56 stronach tekstu. Dwie dalsze części rozprawy stanowią „Badania własne” (42 stron) oraz „Część eksperymentalna” (25 stron). Doktorant zamieścił w rozprawie bardzo cenne dla czytelnika „Podsumowanie” oraz wykaz cytowanej literatury, obejmujący 179 pozycji.

„Badania własne” Autor poprzedził obszernym przeglądem literaturowym zatytułowanym „Nitrony w chemii organicznej”. W zasadzie są to trzy powiązane ze sobą przeglądy. Pierwszy jest poświęcony metodom syntezy nitronów. Autor szczegółowo opisał literaturowe drogi ich otrzymywania, opatrując cennym komentarzem, w którym wskazał wady i zalet poszczególnych metod, a także ograniczenia wynikających z budowy substratów. Drugi podrozdział „Zastosowanie nitronów w syntezie organicznej” przybliży czytelnikowi zagadnienia związane z reaktywnością nitronów. Autor skupił się głównie na addycji nukleofilowej do nitronów i dipolarnej cykloaddycji. W ostatnim podrozdziale została szczegółowo opisana reakcja Kinugasy, w której z terminalnych alkinów i nitronów w obecności katalizatora, soli miedzi(I) otrzymuje się  $\beta$ -laktamy. Tytułowa reakcja została odkryta dość dawno, w 1972 r. a następnie na wiele lat zapomniana. Począwszy od końca ubiegłego wieku obserwuje się renesans badań nad asymetryczną reakcją Kinugasy, do czego w znacznym stopniu przyczyniły się prace zainicjowane kilka lat temu przez prof. Chmielewskiego, a aktualnie kontynuowane w zespole prof. Furmana. W tym podrozdziale Autor zaznajamia czytelnika zarówno z mechanizmem reakcji, aktualną literaturą na ten temat, jak i z rezultatami badań zespołu. Przeglądy te są dobrze napisane, kształcące, a dobór materiału jest adekwatny do tematyki rozprawy i pozwala czytelnikowi na łatwą analizę badań własnych Doktoranta. Świadczą również, że Doktorant przed przystąpieniem do badań szczegółowo zapoznał się z problematyką zagadnienia.

Głównym celem, jaki wyznaczył sobie Autor, było opracowanie metody syntezy  $\beta$ -laktamów w asymetrycznej reakcji Kinugasy pomiędzy acyklicznymi nitronami i strukturalnie zróżnicowanymi alkinami.

Autor jako podstawę swoich badań przyjął metodologię opracowaną w zespole prof. Furmana. W pierwszym etapie otrzymał kilka terminalnych alkinów, zarówno chiralnych jak i achiralnych zawierających atom tlenu w pozycji  $\alpha$  do wiązania potrójnego, co jak wykazano wcześniej, wpływa pozytywnie na reaktywność i stereo-selektywność reakcji Kinugasy. Wychodząc z dostępnego handlowo w obu formach enancjomerycznych kwasu jabłkowego, Autor w kilku prostych literaturowych etapach otrzymał odpowiednie (R) i (S) aldehydy w których układ 1,3-diolu został

zabezpieczony w postaci acetonidu. Następnie działając odczynnikiem Bestmanna-Ohiry, aldehydy te przekształcił w jednym etapie w zaplanowane pochodne acetylenowe. Łatwo dostępny z D-mannitolu acetonid (R)-aldehydu glicerynowego posłużył w ten sam sposób do syntezy odpowiedniej (S)-acetylenowej pochodnej. W celu otrzymania analogicznej pochodnej terminalnego acetyleno o konfiguracji (R), należy użyć acetonidu (S)-aldehydu glicerynowego, który ze względu na wysoką cenę (L)-mannitolu, otrzymuje się kilkoma drogami z witaminy C. Jednak taka synteza nie jest równie wydajna jak z mannitolu, a główny problem polega na tym, że aldehyd otrzymujemy w postaci rozcieńczonego roztworu wodnego, z którego niezwykle trudno jest go wydzielić. Autor zaproponował i z sukcesem zrealizował nową metodę syntezy acetonidu (S)-aldehydu glicerynowego z estru metylowego kwasu (S)-glicerynowego. Zgodnie z literaturą ester ten, można łatwo otrzymać z dobrą wydajnością, w trzech etapach z taniej L-seryny. Redukcja estru wodorkiem diizobutyloglinowym w organicznym rozpuszczalniku daje z wysoką wydajnością (S)-aldehyd glicerynowy, który jak wykazał Autor na przykładzie syntezy (S)-acetylenowej pochodnej, można bez wydzielenia użyć w kolejnych etapach.

Autor otrzymał szereg chiralnych acyklicznych nitronów w reakcji N-benzylohydroksyloaminy z tymi samymi aldehydami, które użył również do syntezy pochodnych acetyleno. Świadczy to o inteligentnym zaplanowaniu badań, tak aby z kilku podstawowych reagentów, w tym przypadku chiralnych aldehydów, otrzymać zarówno nitrony jak i pochodne terminalnych acetylenów, co umożliwił szybkie i dogłębne zbadanie wpływu ich budowy na przebieg reakcji. Wyniki jedenastu testowych reakcji Kinugasy Autor przedstawił w tabeli 12 (str. 87)

Reakcje achiralnego alkinu **81** z nitronami **77ent** i **80** prowadziły do czterech możliwych diastereomerów w prawie równych ilościach. W pozostałych przypadkach oba komponenty reakcji były chiralne. We wszystkich reakcjach z jednym wyjątkiem, powstawały wyłącznie dwa epimeryczne  $\beta$ -laktamy (*cis* i *trans*), różniące się konfiguracją na atomie C-3. Świadczy to o wysokiej stereo selektywności pierwszego etapu reakcji: cykloaddycji. Autor zauważył, że we wszystkich przypadkach powstawały diastereomery, w których atomy wodoru na atomie C-4 i na węglu- $\alpha$  w stosunku do alkinu są zawsze w ułożeniu *anti*. Powyższe obserwacje Autor w sposób przekonujący poparł rysunkami stanów przejściowych.

Poprawna analiza uzyskanych wyników eksperymentalnych, nie było by możliwe bez pewnej a za razem szybkiej metody oznaczenia konfiguracji względnej i absolutnej wszystkich produktów reakcji Kinugasy.

W Instytucie Chemii Organicznej od wielu lat działają prężnie doświadczony zespół zajmujący się ustalaniem struktury związków organicznych metodami spektroskopowymi. Zespół prof. Frelek, który specjalizuje się w metodach spektrometrii optycznej, a w szczególności znane są jej prace z zakresu oznaczania struktury związków za pomocą dichroizmu kołowego oraz zespół prof. Jaźwińskiego, dla którego magnetyczny rezonans jądrowy nie ma tajemnic. Zatem wybór metody był łatwy: połączenie spektroskopii dichroizmu kołowego (CD) i  $^1\text{H-NMR}$ . Taka strategia umożliwiła prawidłowe oznaczenie konfiguracji we wszystkich otrzymanych produktach.

Ostatnim zadaniem którego podjął się Autor, było opracowanie nowej metody syntezy tzw.  $\beta$ -laktamu Kaneki, związku szeroko wykorzystywanego do przemysłowej produkcji antybiotyków penemowych i karbapenemowych. Na podstawie analizy retrosyntetycznej, Autor zaproponował syntezę tego związku, jak się można było spodziewać, z chiralnego nitronu (**94b**) i handlowo dostępnego (R)-but-3-yn-2-ol (**93**). Oba komponenty zostały poddane reakcji Kinugasy, dając związek o odpowiedniej konfiguracji na atomie C-3. Kolejno, jednoczesne usunięcie litem w amoniaku dwóch grup benzytowych i utlenienie powstałego kwasu **95b** czteroctanem ołowiu dało  $\beta$ -laktam Kaneki z łączną wydajnością 52%. Ta krótka i jednocześnie wydajna metoda syntezy omawianego związku, może być konkurencyjna w stosunku do istniejących obecnie rozwiązań. Choć omawiana synteza nie jest zbyt skomplikowana, to tę część badań oraz sam nowatorski pomysł oceniam bardzo wysoko.

Wszystkie otrzymane związki zostały w pełni scharakteryzowane, zarówno metodami fizykochemicznymi jak i spektroskopowymi a ich struktury zostały ustalone w sposób nie budzący wątpliwości. Praca jest w zasadzie napisana poprawnie i klarownie, a szata graficzna jest staranna. Można mieć pewne zarzuty co do niezwykle małych rozmiarów struktur związków na schematach, co w pewnym stopniu utrudnia śledzenie opisywanych przemian.

Z obowiązków recenzenta muszę jednak wskazać na błędy edytorskie, których nie brakuje, a także przekazać swoje krytyczne i polemiczne uwagi.

1. str.13, Schemat 3, brak atomu azotu we wszystkich  $\beta$ -laktamach.

2. str.70. Tabela 11, pt. „Alkiny i nitrony wykorzystywane w dalszych badaniach” Pięć alkinów bez numerów i siedem nitronów również bez numerów nigdzie więcej nie pojawia się w pracy.

3. str.79. Autor pisze: „Korzystając ze zmodyfikowanej przeze mnie procedury literaturowej, L-serynę przekształciłem w ester kwasu ...” Autor zapewne przez skromność nie wyjaśnił jednak, na czym polegała ta modyfikacja i jaki odniosła skutek.

4. str.71 i 76. Na schematach 71 i 82 są przedstawione szczegółowo te same literaturowe syntezy chiralnego aldehydu z kwasu jabłkowego, z których Autor otrzymuje odpowiednie nitrony (Schem. 71) lub alkiny (Schem. 82). Co więcej, na każdym schemacie oddzielnie jest opisana synteza aldehydu z kwasu (R)-jabłkowego i identyczna synteza z enancjomeru (S) tego kwasu. I tu rodzi się pytanie, w jakim celu te syntezy zostały przedstawione w tak nietypowy sposób?

5. W części eksperymentalnej Autor porównując wartości t.t. lub skręcalności właściwej otrzymanych przez siebie związków z danymi literaturowymi, nigdzie nie podając odnośnika literaturowego, co jest powszechnie przyjęte.

6. Moim zdaniem Autor powinien wskazać gdzie i przez kogo zostały wykonane zarówno pomiary CD jak i analiza krystalograficzna dwóch związków.

7. W części eksperymentalnej Autor wielokrotnie opisuje szczegółowo przeprowadzone przez siebie literaturowe syntezy znanych związków, co może być w pewnym stopniu przydatne dla czytelników. Jednak nie rozumiem, w jakim celu wykonuje w wielu przypadkach kosztowne, pełne analizy znanych i opisanych związków, łącznie z analizą elementarną, spektrometrią mas wysokiej rozdzielczości, widm NMR i w podczerwieni. Przykłady można znaleźć np. na str.116, gdzie Autor w pełni analizuje znany acetonid aldehydu (R)-glicerynowego jak również otrzymany z niego znany nitron.

Powyższe uwagi nie mają istotnego wpływu na moją ogólną pozytywną ocenę dysertacji. Podsumowując, pan mgr Łukasz Mucha wykonał interesującą, logicznie zaplanowaną pracę, a przeprowadzone badania posiadają istotną wartość merytoryczną. Na szczególną pochwałę zasługuje opracowanie nowej efektownej metody syntezy  $\beta$ -laktamu Kaneki.

Interesująca napisane opracowanie literaturowe i obszerna analiza uzyskanych rezultatów świadczy, o tym że Doktorant jest w pełni ukształtowanym młodym naukowcem.

Stwierdzam zatem, że recenzowana rozprawa doktorska, odpowiada wymogom stawianym przez Ustawę pracom doktorskim i wnoszę do Komisji ds. Studiów Doktoranckich i Rekrutacji Rady Naukowej Instytutu Chemii Organicznej o dopuszczenie Autora pracy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Warszawa, 7.01.2016.