



**WYDZIAŁ
CHEMII**

Uniwersytet Łódzki

**UNIwersYTET ŁÓDZKI
WYDZIAŁ CHEMII
KATEDRA CHEMII ORGANICZNEJ I STOSOWANEJ**

ul. Tamka 12
91-403 Łódź
tel. (+48) 42 635 57 73
katchois@uni.lodz.pl

Dr hab. Anna Zawisza, prof. UŁ
e-mail: anna.zawisza@chemia.uni.lodz.pl
tel: (42) 635 58 02

Łódź, dn. 19.03.2018 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgra Grzegorza Łopatkiewicza

pt. „Stereokontrolowana synteza Idraparyny”

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgra Grzegorza Łopatkiewicza wykonana została w Zespole Stereokontrolowanej Syntezy Organicznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem Pana Profesora Jacka Młynarskiego.

Naukowa ranga i znaczenie osiągnięć w dziedzinie chemii węglowodanów jak i stereokontrolowanej syntezy organicznej grupy Profesora Młynarskiego, upoważniają mnie do stwierdzenia, że mgr Łopatkiewicz wykonywał swoją pracę doktorską w bardzo dobrym laboratorium, dysponującym ugruntowaną wiedzą i możliwościami technicznymi do przeprowadzenia związanych z tematem pracy badań.

Rozprawa liczy 217 ponumerowanych stron i ma bardzo przyjemną szatę graficzną, co niewątpliwie ułatwia jej czytanie. Również pod względem edytorskim praca prezentuje się bardzo dobrze, a zauważone drobne i bardzo nieliczne błędy językowe nie zasługują na wzmiankę.

Praca ma układ typowy dla prac z zakresu chemii organicznej – składa się z trzech głównych części o zbliżonej długości, to jest przeglądu literaturowego związanego z tematyką badań, prezentacji otrzymanych wyników badań wraz z dyskusją i części eksperymentalnej. W pracy znajduje się 139 odnośników do literatury.

We wstępie do pracy Doktorant uzasadnia wybór tematyki, dowodząc konieczności poszukiwania nowej, wydajnej i selektywnej syntezy pentasacharydowego leku przeciwzakrzepowego – idraparyny sodowej, analogu powszechnie znanej i stosowanej klinicznie heparyny. Biorąc pod uwagę krótki okres półtrwania heparyny oraz fakt, że jej stosowanie może prowadzić do wielu efektów ubocznych jak powikłania krwotoczne czy

trombocytopenia, za w pełni zasadne uważa się poszukiwania skutecznych syntetycznych analogów heparyny. Z wymienionych powodów uznaję wybrany temat recenzowanej pracy doktorskiej za ważny, zarówno ze względów poznawczych jak i aplikacyjnych.

Doktorant bazując na doniesieniach literaturowych o istniejących strategiach syntezy idraparyny jasno formułuje cel pracy, którym było opracowanie nowego podejścia polegającego na zmniejszeniu ilości etapów glikozydowania pomiędzy fragmentami pentasacharydu z czterech do dwóch, z wykorzystaniem łatwo dostępnego disacharydu - celobiozy, ze zdefiniowanym już wiązaniem β -1,4-glikozydowym. Temu też zagadnieniu poświęcona jest część literaturowa pracy, która stanowi doskonałe wprowadzenie do badań własnych Doktoranta.

Właściwy układ całej „Części literaturowej” i inteligentny dobór treści jednoznacznie świadczy o dobrym rozeznaniu Doktoranta w literaturze przedmiotu i stanowi duże ułatwienie dla czytelnika pracy.

Doktorant rozpoczyna przegląd literaturowy od przedstawienia prac van Boeckela i Petitou, dotyczących poszukiwań syntetycznego odpowiednika heparyny, który mógłby pełnić rolę antykoagulantu w organizmie ludzkim. Doktorant omawia prace polegające na sprawdzeniu, które fragmenty w heparynie są odpowiedzialne za wiązanie się z białkiem AT III powodując kaskadę krzepnięcia krwi. Po rozważeniu konformacji składowych jednostek pentasacharydu, Autor przedstawia badania dotyczące wpływu grup funkcyjnych czy konfiguracji na pojedynczych centrach stereogenicznych, jak również wprowadzenia różnych eterowych zabezpieczeń grup hydroksylowych na proces aktywacji AT III. Przeprowadzone badania wykazały, że idraparyna sodowa może z powodzeniem pełnić rolę heparyny, toteż w kolejnej części Doktorant przedstawia dotychczas opracowane i opisane metody jej syntezy. Wszystkie dotychczasowe przykłady syntezy idraparyny, które zostały opisane w czterech publikacjach, polegały na modyfikacjach cząsteczki glukozy, a następnie łączeniu ich ze sobą. Pan mgr Łopatkiewicz kończy tę część przeglądu literaturowego porównaniem metod syntezy pod kątem ilości etapów reakcji oraz wydajności całkowitej, niejednokrotnie samodzielnie dokonując obliczeń lub poprawiając obliczenia autorów cytowanych prac. Całość zamyka opis innych związków mogących pełnić rolę antykoagulantów oraz aktualny stan badań nad działaniem idraparyny.

Lektura tego rozdziału daje mi podstawę do stwierdzenia, że przeprowadzone studia literaturowe były solidnym fundamentem do projektowania i realizacji badań własnych, opisanych w następnym rozdziale.

Poniżej jedyna drobna uwaga dotyczących tej części pracy:

- błędnie podano numer diacetonidowej pochodnej glukozy (str. 53); powinno być **2.92**, a nie **2.88**.

Kolejny rozdział zajmujący strony od 69 do 120 zatytułowany „Badania własne” Autor rozpoczyna przedstawieniem podstawowych założeń badań oraz analizy retrosyntetycznej dla zaproponowanej syntezy idraparyny, po czym następuje szczegółowy opis i dyskusja przeprowadzonych syntez i analiz otrzymanych związków. Z uwagi na to, że uzyskane wyniki przeszły już proces recenzji w czasopiśmie, rola recenzenta jest uproszczona.

Mgr Łopatkiewicz badania rozpoczął od ustalenia dogodnej metody epimeryzacji D-cukru do jego L-analogu, tak aby w sposób wydajny i selektywny otrzymać kluczowy fragment pentasacharydowego łańcucha idraparyny jakim jest kwas L-iduronowy (fragment G). Dokonując szczegółowego przeglądu literaturowego zdecydował się na reakcję borowodorowania z następczym utlenieniem, która pozwala na selektywną zmianę konfiguracji na C5. Metoda ta nie wymagała otwarcia pierścienia cukru, dzięki czemu z powodzeniem mogła zostać zastosowana w disacharydach, pozwalając na realizację zaplanowanej strategii syntezy idraparyny 1+2+2. Co ważne, umiarkowana selektywność tej metody może być jej zaletą, gdyż odzyskany cukier o konfiguracji D, może posłużyć jako prekursor dla fragmentu EF idraparyny. Wstępną optymalizację warunków reakcji borowodorowania z następczym utlenieniem Autor przeprowadził dla zsyntezowanych 5-enopiranozydów metylowych zabezpieczonych odpowiednio grupami benzyłowymi oraz metylowymi. Najlepsze rezultaty otrzymał dla reakcji prowadzonych z zastosowaniem kompleksu $BH_3 \cdot THF$ jako odczynnika borowodorującego: wyd. 83% i dr 1:5.5 (D-Glc : L-Ido) dla pochodnej benzyłowej oraz wyd. 84% i dr 1:8.5 (D-Glc : L-Ido) dla pochodnej metylowej, dowodząc wpływu grup zabezpieczających na przebieg reakcji. W kolejnym etapie badań Doktorant wykonał syntezę szeregu pochodnych mono- i disacharydów, różniących się grupami zabezpieczającymi, dla których przeprowadził reakcje borowodorowania. Uzyskane rezultaty pozwoliły na określenie wpływu poszczególnych pozycji w cukrze na diastereoselektywność reakcji borowodorowania. Kluczowymi dla epimeryzacji na piątym atomie węgla jednostki cukrowej okazały się grupy zabezpieczające w pozycjach 1 oraz 4. Co ważne, uzyskane rezultaty pozwoliły na zbudowanie generalnego modelu borowodorowania w cukrach, opisującego stereoselektywność reakcji i korelacje między wydajnością produktu L-ido, a wielkością i położeniem stosowanych grup ochronnych. Tak zaplanowany tok badań i umiejętność wyciągania wniosków świadczą o dojrzałości naukowej mgra Łopatkiewicza.

Kolejna część pracy dotyczyła syntezy tytułowej idraparyny z wykorzystaniem D-(+)-celobiozy oraz α -D-glukopiranozydu metylowego jako substratów. Kluczowymi etapami w tak zaplanowanej syntezie było selektywne zabezpieczenie grup hydroksylowych przy C2, C3 oraz C2', C3', a także epimeryzacja na C5' D-(+)-celobiozy. Oczekiwana selektywność Autor uzyskał przez zabezpieczenie grup hydroksylowych w postaci acetonidów i przeprowadzenie reakcji metylowania w pozycjach C2' i C3'. Dalsze przekształcenia, obejmujące m. in. zabezpieczenie grupy w pozycji 1 poprzez przeprowadzenie jej w 1,6-anhydro pochodną, wraz z finalną reakcją epimeryzacji na C5' wg metodologii opracowanej w pierwszej części pracy, doprowadziły do otrzymania dwóch diastereoizomerycznych produktów (analogów fragmentów **EF** i **GH** idraparyny) w 14 etapach z wydajnościami odpowiednio 9 i 6%. Fragment **GH** poddano dalszym przekształceniom, otrzymując w ośmiu etapach jego α -glikozyd metylowy z 32% wydajnością. Monosacharydowy fragment **D** Doktorant otrzymał w pięciu etapach z całkowitą wydajnością 58%. Otrzymane w ten sposób fragmenty **D**, **EF** i **GH** zostały ze sobą połączone w reakcji glikozydowania metodą Schmidta, dając w pełni zabezpieczoną idraparynę w 32 etapach, z najdłuższą liniową ścieżką liczącą 23 etapy i całkowitą wydajnością 1,7% liczoną względem tej 23 etapowej drogi syntezy. Choć uzyskana wydajność jest niższa niż opisywana przez B. Yu (4%), to okazała się jak dotąd najkrótszą drogą syntezy zabezpieczonej idraparyny. Niewątpliwie dodatkową zaletą opracowanej metodologii jest fakt, że pozwala ona na łatwy dostęp do innych pentasacharydowych antykoagulantów, poprzez modyfikację monosacharydowej podjednostki **D**.

Poniżej nieliczne uwagi do tej części pracy, zgłoszone właściwie dla potwierdzenia dokładnego przeczytania tekstu:

- str. 75, dość niefortunne wydaje się określenie 'odwracany disacharyd' użyte do disacharydu poddawanego reakcji epimeryzacji w pozycji C5', jak również wyrażenie na str. 92 'podzieliłem powstałe disacharydy' zamiast rozdzieliłem powstałe disacharydy;
- str. 87, Rys. 3.5 przedstawia porównanie struktury związku **3.54**, a nie **3.56** do uogólnionej disacharydowej pochodnej; podobnie diacetylowa pochodna, o której Autor pisze na str. 109 posiada oznaczenie **2.69**, nie **2.6**;
- str. 112, Schemat 3.28 związki **3.160** i **3.161** to β -glikozydy metylowe;
- str. 117, Schemat 3.32: należałoby ujednolicić sposób zapisywania grupy metylowej.

Następny rozdział „Część eksperymentalna” zajmujący strony od 121 do 208 dokładnie dokumentuje przeprowadzone badania. Wszystkie eksperymenty zostały należycie

opisane, a budowę wszystkich otrzymanych związków Autor potwierdził metodami spektroskopowymi, dla wszystkich nowych pochodnych zamieszczając także wyniki analizy ESI MS. Analizy struktury otrzymanych związków nie budzą moich wątpliwości, niestety niekiedy nie podano temperatur topnienia i wartości skręcalności, a także porównania z wartościami literaturowymi dla znanych związków (ta uwaga nie dotyczy nowych pochodnych, dla których zamieszczono pełną analizę). Za niefortunne uznaję wyrażenia 'fazę organiczną przesuszono na bezwodnym siarczanem(VI) sodu' (str. 127), czy wielokrotnie powtarzane 'frakcje organiczne/przesącz zagęszczono'. Uważam, że bardziej odpowiednim określeniem byłoby tutaj 'zateżono'. W nazwach związków **3.1**, **3.3**, **3.5**, **3.154-3.161** oraz **3.165** błędnie podano konfigurację jednostki **D** – powinno być α -L-Ido.

Na zakończenie chciałabym podkreślić bardzo dobre przygotowanie Doktoranta z zakresu technik magnetycznego rezonansu jądrowego, co pozwoliło w przekonujący sposób udowodnić struktury uzyskanych związków.

Przedstawione uwagi nie wpływają na końcową ocenę rozprawy. Cel pracy – stereokontrolowana synteza idraparyny został zrealizowany pomyślnie. Autor wykazał się niewątpliwie dobrym przygotowaniem merytorycznym, dużą starannością w planowaniu i przeprowadzeniu eksperymentów.

W podsumowaniu chciałabym stwierdzić, że wyniki przedstawione w rozprawie doktorskiej są bardzo wartościowe, posiadają elementy nowości naukowej i zostały już opublikowane w trzech publikacjach naukowych w bardzo dobrych czasopismach (dwie w *J. Org. Chem.* i jedna w *Carbohydr. Res.* o sumarycznym IF = 11.794).

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016 r. poz. 882 i 1311). Z pełnym przekonaniem wnioskuję do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego o przyjęcie rozprawy doktorskiej mgra Grzegorza Łopatkiewicza i dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie w uznaniu dorobku naukowego i wartości pracy prosiłabym o rozważenie przez Wysoką Radę dołączonego do recenzji wniosku o wyróżnienie niniejszej pracy.





**WYDZIAŁ
CHEMII**

Uniwersytet Łódzki

UNIwersYTET ŁÓDZKI

WYDZIAŁ CHEMII

KATEDRA CHEMII ORGANICZNEJ I STOSOWANEJ

ul. Tamka 12

91-403 Łódź

tel. (+48) 42 635 57 73

katchois@uni.lodz.pl

Dr hab. Anna Zawisza, prof. UŁ
e-mail: anna.zawisza@chemia.uni.lodz.pl
tel.: (42) 635 58 02

WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE

rozprawy doktorskiej mgra Grzegorza Łopatkiewicza

pt. „Stereokontrolowana synteza Idraparyny”

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgra Grzegorza Łopatkiewicza wykonana została w Zespole Stereokontrolowanej Syntezy Organicznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Jacka Młynarskiego.

Autor postawił przed sobą bardzo ambitny cel jakim było opracowanie nowej, wydajnej i selektywnej syntezy pentasacharydowego leku przeciwzakrzepowego – idraparyny sodowej, analogu powszechnie znanej i stosowanej klinicznie heparyny. Biorąc pod uwagę krótki okres półtrwania heparyny oraz fakt, że jej stosowanie może prowadzić do wielu efektów ubocznych, za w pełni zasadne uważa się poszukiwania skutecznych syntetycznych analogów heparyny. Z wymienionych powodów uznaję wybrany temat recenzowanej pracy doktorskiej za ważny, zarówno ze względów poznawczych jak i aplikacyjnych.

W pierwszej części pracy Doktorant przeprowadził dogłębne studia literaturowe, które były solidnym fundamentem do ustalenia dogodnej metody epimeryzacji D-cukru do jego L-analogu. Co godne podkreślenia, uzyskane rezultaty Autor z powodzeniem wykorzystał w syntezie idraparyny, ale pozwoliły mu one także na zbudowanie generalnego modelu borowodorowania w cukrach, opisującego stereoselektywność reakcji i korelacje między wydajnością produktu L-ido, a wielkością i położeniem stosowanych grup ochronnych.

Kolejna część pracy dotyczyła syntezy tytułowej idraparyny z wykorzystaniem α -D-glukopiranozydu metylowego oraz D-(+)-celbiozy, co jest zupełnie nowym podejściem i pozwoliło na wyeliminowanie dwóch reakcji glikozydowania, wykonywanych podczas syntezy pentasacharydu. W pełni zabezpieczoną idraparynę Doktorant otrzymał w 32 etapach,

z najdłuższą liniową ścieżką liczącą 23 etapy i całkowitą wydajnością 1,7% liczoną względem tej 23 etapowej drogi syntezy. Choć uzyskana wydajność jest niższa niż opisywana przez B. Yu (4%), to okazała się jak dotąd najkrótszą drogą syntezy zabezpieczonej idraparyny. Niewątpliwie dodatkową zaletą opracowanej metodologii jest fakt, że pozwala ona na łatwy dostęp do innych pentasacharydowych antykoagulantów, poprzez modyfikację monosacharydowej podjednostki **D**.

Uważam, że Autor wykazał się niewątpliwie dobrym przygotowaniem merytorycznym, a także dużą starannością w planowaniu i przeprowadzeniu eksperymentów. Ponadto, określanie chemicznej budowy syntezowanych związków, o tak rozbudowanej strukturze, wymagało od Doktoranta specjalistycznej wiedzy z zakresu chemii organicznej jak i dobrej znajomości technik spektroskopowych.

W podsumowaniu chciałabym stwierdzić, że wyniki przedstawione w rozprawie doktorskiej są wartościowe, posiadają elementy nowości naukowej i zostały już opublikowane w trzech publikacjach naukowych w bardzo dobrych czasopismach (dwie w *J. Org. Chem.* i jedna w *Carbohydr. Res.* o sumarycznym IF = 11.794). To bez wątpienia świadczy o dużym potencjale naukowym Doktoranta.

W uznaniu dorobku naukowego i wartości pracy prosiłabym o rozważenie przez Wysoką Radę wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgra Grzegorza Łopatkiewicza.

