

Prof. dr hab. inż. Piotr Kowalski,
Instytut Chemii i Technologii Organicznej
Politechnika Krakowska

Kraków, 17.11.2014 r.

Recenzja pracy doktorskiej mgr Mateusza Misy
pt. „Badania nad nową strategią syntezy metabolitów zearalenonu”
wykonanej w Zakładzie Chemii Organicznej
Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego
pod kierunkiem doc. dr hab. Janusza Sepiōła

Zearalenon o nazwie systematycznej (3*S*,11*E*)-14,16-dihydroksy-3-metylo-3,4,5,6,9,10-heksahydro-1*H*-2-benzoksacyklotetradecin-1,7(8*H*)-dion z chemicznego punktu widzenia jest 14-członowym laktonem kwasu rezorcynowego. Zearalenon jest mikotoksyną wytwarzaną przez różne szczepy grzybów gatunku *Fusarium*, które rosną na zbiorach zbóż. Tak więc występuje on głównie w zbożach i w przetworach zbożowych, ale również w bananach, orzechach włoskich, soi i piwie. Zearalenon wywołuje działanie estrogenne u zwierząt, ale jak dotąd nie stwierdzono szczególnie niekorzystnych objawów spowodowanych przez zearalenon u człowieka.

Celem przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej mgr Mateusza Misy była synteza zearalenonu i jego pochodnych, różniących się między sobą ilością grup hydroksylowych w pierścieniu benzenowym. W planie pracy przedstawiono dwie drogi syntezy tego układu, a w każdym z nich końcowym etapem był etap laktonizacji. Koncepcja pierwszej ścieżki syntezy zearalenonu zakładała kondensację pochodnej 2-formylobenzamidu z cynkopochodną 5-jodopentanianu etylu, co miało prowadzić do pochodnej olefinowej, a z ta z kolei po reakcji z odpowiednią pochodną 5-halogenopentan-2-olu miała dawać substrat do końcowego etapu laktonizacji. Według drugiej planowanej metody syntezy zearalenonu, połączenie do procesu laktonizacji miano otrzymać w wyniku kondensacji 2-hydroksyundec-10-en-6-onu z pochodnymi kwasu benzooesowego.

Proponowane przez Doktoranta ścieżki syntezy zearalenonu, względem metod opisanych w literaturze, miały wykorzystywać w roli substratów proste i tanie reagenty o właściwościach bardziej przyjaznych dla środowiska. Tak przedstawiony plan badań pracy doktorskiej mgr Mateusza Misy należy uznać za bardzo interesujący i celowy.

Praca doktorska zawierająca 161 stron podzielona jest na wstęp, przegląd literatury, założenia i cel pracy, badania własne, opis eksperymentów i piśmiennictwo (174 pozycje).

Część literaturowa stanowi przegląd piśmiennictwa dotyczącego metod wytwarzania zearalenonu i jego metabolitów, gdzie końcowym etapem procesu jest laktonizacja układu. W tej części Autor omówił prace, opisujące sposoby wytwarzania części aromatycznej i alifatycznej układu zearalenonu oraz metody ich sprzężenia do połączeń poprzedzających finalny proces laktonizacji. Na uznanie zasługuje komentarz do stosowanych reakcji Wittiga, Stillego czy metatezy odnoszący się zarówno do warunków reakcji jak i ich efektywności. Przegląd jest dobrze powiązany z tematyką pracy, a zawarte w nim treści, stanowią dobrą podstawę do analizy wyników opisanych w części poświęconej badaniom własnym Autora. Zaprezentowany materiał, oparty jest na starannie dobranych pracach źródłowych, w większości przypadków z okresu ostatnich piętnastu lat, co korzystnie świadczy o aktualności tematyki badawczej. Część literaturową kończy omówienie występowania i aktywności biologicznej zearalenonu.

Po zwięzłym przeglądzie literaturowym następuje starannie napisany rozdział poświęcony badaniom własnym.

Opis badań własnych, zgodnie z planem, rozpoczęto od syntezy połączeń, stosowanych w syntezie zearalenonu według pierwszej metody. Stosowany w tej metodzie 2-formylo-4,6-dimetoksy-*N,N*-dietylobenzamid otrzymano z dobrą, 91% wydajnością, według zmodyfikowanej metody opisanej w literaturze, w reakcji 2,4-dimetoksy-*N,N*-dietyloformamidu i *N,N*-dimetyloformamidu w obecności *tert*-butylolitu, a kolejny z reagentów, 5-jodopentanian etylu, z δ -walerolaktonu. Synteza 5-halogenopentan-2-olu, jako kolejnego z reagentów, wymagała procedury prowadzącej do otrzymania odpowiedniego enancjomeru o konfiguracji (*S*). Reakcja otwarcia pierścienia 2-metylotetrahydrofuranu przebiegała z niską wydajnością, natomiast redukcja grupy karbonylowej 5-chloropentan-2-onu przebiegała z wydajnością ilościową, dając jednak produkt będący mieszaniną racemiczną. Enancjoselektywna redukcja 5-chloropentan-2-onu za pomocą NaBH_4 w obecności proliny pozwalała otrzymać enancjomer (*S*) z około 32% *ee*. Posiadając, założone w planach syntezy zearalenonu reagenty, przystąpił Doktorant do kondensacji 2-formylo-4,6-dimetoksy-*N,N*-dietylobenzamidu z cynko pochodną jodopentanianem etylu, chcąc uzyskać „olefinową” pochodną benzamidu. Pomimo wielu prób, polegających na zmianie rozpuszczalnika i katalizatorów, nie obserwowano postępu reakcji. Oczekiwanego produktu „olefinowego” nie uzyskano również w reakcji Wittiga przy zastosowaniu soli fosfoniowych, otrzymywanych z uprzednio uzyskanego jodopentanianu etylu. Chcąc znać

przyczynę niepowodzeń reakcji „olefinizacji” 2-formylo-4,6-dimetoksy-*N,N*-dietylobenzamidu w reakcji Wittiga, Doktorant w miejsce formylobenzamidu zastosował benzaldehyd, uzyskując w tym przypadku oczekiwany produkt w postaci kwasu fenyloheksenowego. Jedynym, słusznym wnioskiem, z wyników tak przeprowadzonej próby było powiązanie braku postępu reakcji Wittiga 2-formylo-4,6-dimetoksy-*N,N*-dietylobenzamidu z obecnością w układzie grupy *N,N*-dietylokarbamoilowej.

Reagentami, w drugiej planowanej metodzie syntezy zearalenonu, były 2-hydroksyundec-10-en-6-on i pochodne kwasu benzoowego. Po próbach niepowodzeń syntezy pierwszego z tych reagentów, tj. 2-hydroksyundec-10-en-6-onu z użyciem δ -heksanolaktanu i bromku pentenyłowomagnezowego, poszukiwany hydroksyketon w formie acetalu uzyskał Doktorant w reakcji bromku pentenyłowomagnezowego z 5-hydroksyheksanonitrylem. 2-Hydroksyundec-10-en-6-on z zabezpieczoną grupą hydroksylową otrzymano również w czteroetapowej syntezie z użyciem, jako substancji wyjściowej, powszechnie dostępnego 5-chloropentan-2-onu. Z analizy widma ^1H NMR tego połączenia wynika, że otrzymany hydroksyketon był mieszaniną diastereoizomerów o wzajemnym stosunku 0,9:1.

Próby syntezy kwasów 2-halogenbenzoowych, w reakcjach funkcjonalizacji kwasów lub jego pochodnych generalnie zakończyły się niepowodzeniem. Jediną wydajną metodą prowadzącą do 2-chloro-4,6-dimetoksy-*N*-metylobenzamidu była reakcja chlorowania dimetoksy-*N*-metylobenzamidu z użyciem chlorku miedzi(II) jako źródła chloru, octanu miedzi(II) jako utleniacza i octanu palladu jako katalizatora. Kwasy 2-bromo polimetoksy benzoowe, bardziej przydatne do realizacji dalszych badań niż ich 2-chlorowane analogi, uzyskano w wydajny sposób w reakcjach utleniania odpowiednich aldehydów, otrzymanych w procesach formylowania bromometoksybenzenów. Najwyższe wydajności reakcji formylowania uzyskano stosując eter dichlorometylowo-metylowy w obecności chlorku tytanu(IV), a reakcji utleniania z użyciem tlenku srebra.

Kolejny etap, zakładał sprzężenie grupy olefinowej acetalu hydroksyketonu z pochodną kwasu benzoowego, w tak zwanej utleniającej reakcji Hecka. Reakcję prowadzono z użyciem octanu palladu jako katalizatora i octanu miedzi(II) jako utleniacza według procedury opisanej w literaturze dla reakcji kwasów benzoowych z akroleinami lub styrenem. Przy zastosowaniu tej procedury, do użytych przez Doktoranta reagentów, nie odnotowano postępu reakcji. Próby olefinizacji pochodnych kwasu benzoowego w reakcji Hecka, z użyciem 2-bromopochodnych i hemiacetalu lub hydroksyketonu z zabezpieczoną grupą hydroksylową również zakończyły się niepowodzeniem. Zamierzony produkt, jako

jeden ze składników mieszaniny, uzyskał Doktorant w reakcji estru 2-bromopochodnej kwasu benzoowego i hydroksyketonu. Analiza chromatograficzna mieszaniny reakcyjnej pozwoliła na uzyskanie frakcji, w której na podstawie analizy widma ^1H NMR, stwierdzono obecność oczekiwanego związku oraz połączenia izomerycznego, różniącego się położeniem wiązania podwójnego. Był to ostatni eksperyment, jaki został opisany w pracy, co dalece odbiegało od założonego celu pracy, którym miały być „... poszukiwania metod otrzymywania makrocyklicznych laktonów ...” (Cel pracy; str. 50). W części podsumowującej wyniki na badań, na stronie 113-114 Autor jednak stwierdza, że „ ... otrzymywanie nieznanych dotąd układów w najmniejszym nawet stopniu nie było moim celem ...”. Pozostawiam to bez komentarza, a na wyjaśnienie jak należy rozumieć te dwa, moim zdaniem sprzeczne ze sobą sformułowania, oczekuję podczas publicznej obrony.

Synteza zearalenonu i jego metabolitów to zagadnienie trudne, o czym świadczą liczne publikacje, których autorami są zespoły wieloosobowe. Nie jest więc niczym zaskakującym, że Doktorant jednoosobowo, planując ich syntezę, w sposób „ ...ekonomiczny..., ...szybszy... i ...ekologiczny...” (str. 50), w ograniczającym wykonanie pracy doktorskiej czasie, nie uzyskał założonego celu. Moim zdaniem, opisane w pracy doktorskiej mgr Mateusza Misy eksperymenty, wnoszą jednak istotną wiedzę do badań nad syntezą zearalenonu i jego pochodnych. Dotyczy to między innymi opracowania nowych procedur syntezy związków lub usprawnienia procedur już istniejących, takich jak np. przekształcenie cyklicznych ketonów w laktony. Doktorant przy realizacji tematu wykazał się ponadprzeciętną dociekliwością i cierpliwością. Nie zrażał się brakiem jednostkowych sukcesów, z których wyciągał słuszne i logiczne wnioski. Na podkreślenie i uznanie zasługuje fakt, że każda z opisywanych reakcji ma swój komentarz i odniesienie do danych literaturowych. Bardzo korzystnie o Doktorancie świadczy również umiejętność swobodnego posługiwania się techniką rezonansu jądrowego.

Recenzowana rozprawa ma przejrzystą szatę graficzną i napisana jest poprawną polszczyzną. Zarówno część literaturowa jak i opis badań własnych opatrzone są właściwymi i starannie dobranymi schematami reakcji. W tekście znajdują się jedynie pojedyncze błędy korektorskie oraz interpunkcyjne, które pomijam w mojej recenzji jako mniej istotne.

Moja ocena wartości merytorycznej pracy jest wysoka. Wysoki poziom jej realizacji zapewniała zarówno osoba promotora pracy, Pana Docenta Janusza Sepioła, jak i ranga ośrodka, w którym była wykonywana. Podobnie wysoko oceniam wiedzę Autora rozprawy, jego umiejętność planowania i wykonywania eksperymentów oraz rzetelność w prezentacji i dyskusji uzyskanych wyników, co świadczy korzystnie o Jego uzdolnieniach naukowych.

Przedstawiając Radzie Wydziału Chemicznego Uniwersytetu Jagiellońskiego moją ocenę pracy pragnę z całym przekonaniem stwierdzić, że odpowiada ona w pełni wymogom stawianym pracom doktorskim. Wnoszę zatem o dopuszczenie Pana mgr Mateusza Misy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

F. Dowęcki