



Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii
Katedra Chemii Organicznej & Stosowanej
Tamka 12, PL-91-403 Łódź
Tel. (48)(42) 635-57-61; Fax: (48) (42) 665-51-62
e-mail: grzegorz.mloston@chemia.uni.lodz.pl

prof. dr hab. Grzegorz Mloston

Łódź, 21 sierpnia 2018 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ, ZATYTUŁOWANEJ

‘Synteza kwasów ułożonowych na drodze stereoselektywnej reakcji aldolowej estru kwasu pirogronowego’

*złożonej przez mgr Martę WOLCZKO Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu
Jagiellońskiego w celu uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych*

Recenzowana rozprawa doktorska została przygotowana w latach 2014-2018 w Zespole Stereokontrolowanej Syntezy Organicznej pod opieką naukową Pana prof. dr hab. Jacka Młynarskiego, znanego w polskim i międzynarodowym środowisku chemicznym specjalisty w zakresie m. in. syntezy asymetrycznej opartej na wykorzystaniu węglowodanów jako kluczowych, chiralnych bloków budulcowych.

Tematyka badań opisywanych w rozprawie dotyczy kolejnego etapu prac mających na celu poszukiwanie nowych metod syntezy związków występujących w Naturze przy wykorzystaniu arsenału znanych i ciągle udoskonalanych metod laboratoryjnych opartych na zastosowaniu dostępnych, chiralnych bloków budulcowych oraz strategii nowoczesnej syntezy asymetrycznej. Od wielu lat w zespole Promotora są prowadzone badania mające na celu ‘naśladowanie Natury’ czyli przeprowadzenie syntez związków organicznych, na ogół pochodnych cukrów, ważnych dla funkcjonowania organizmów żywych, bez udziału naturalnych katalizatorów rozwiniętych w trakcie ewolucji, czyli bez udziału enzymów. Tym razem, celem rozprawy było opracowanie metod syntezy kwasów ułożonowych, które są znane od dawna jako utlenione formy cukrów, charakteryzujące się brakiem grupy hydroksylowej w pozycji C(3), bez udziału aldolaz I i II klasy o których wiadomo, że są odpowiedzialne za powstawanie kwasów ułożonowych w organizmach żywych. Kwasy ułożonowe są znane i badane od dawna; odgrywają one ważną rolę w mechanizmach rozpoznawczych oraz stanowią metabolity ważnych szlaków biochemicznych. Poza tym, niektóre ich pochodne wykazują aktywność biologiczną pozwalającą na ich wykorzystanie do celów chemii medycznej. Tak jak to dzieje się w Naturze, docelowe produkty stanowią związki enancjomerycznie czyste o ściśle określonej budowie stereochemicznej, co jak wiadomo, znacząco podwyższa stopień trudności dla eksperymentatora na

drodze do znalezienia i opracowania wydajnej i dobrze powtarzalnej metody syntezy. Tak więc, oprócz doboru odpowiednich substratów, kluczowe zadanie dotyczy znalezienia skutecznego katalizatora otwierającego dostęp do pożądanego produktu o ściśle zdefiniowanej budowie przestrzennej.

Głównym celem badań przeprowadzonych przez mgr M. Wolczko było opracowanie stereokontrolowanej reakcji prowadzącej do utworzenia nowego wiązania C-C w reakcji chiralnych aldehydów, pochodnych różnych cukrów oraz aryłowymi estrami kwasu pirogronowego. Inaczej mówiąc, Doktorantka oparła swoje poszukiwania na szeroko znanej w syntezie asymetrycznej, lecz równocześnie kapryśnej i bardzo wymagającej reakcji aldolowej. Rolę aldolaz zapewniających stereokontrolowaną syntezę kwasów ulozonowych w Naturze powinny przejąć trzeciorzędowe aminy z grupy *Cynchona*, czyli alkaloidy drzewa chinowego oraz chiralne kompleksy cynku Zn^{+2} . Tak pomyślany projekt stanowił poważne wyzwanie naukowe i po drodze należało rozwiązać wiele, trudnych do przewidzenia na wstępie problemów dotyczących właściwego doboru substratów oraz optymalizacji warunków prowadzenia reakcji. Z góry było więc wiadomo, że rozwiązanie zadania postawionego przez Promotora będzie wymagało intensywnej pracy eksperymentalnej i sprawnego posługiwania się nie tylko metodami syntezy organicznej, lecz także technikami spektroskopowymi i separacyjnymi. Wiadomo również, że chemia cukrów stawia przed Eksperymentatorem często trudne do jednoznacznego rozwiązania problemy strukturalne, głównie natury stereochemicznej, a produkty, pomimo znacznych mas cząsteczkowych rzadko stanowią substancje krystaliczne.

Prace eksperymentalne zostały zaplanowane starannie i przeprowadzono je według znanego schematu badań optymalizujących. Pierwszym, ważnym ustaleniem było znalezienie najlepszego estru kwasu pirogronowego, który w reakcji aldolowej z acetonidem aldehydu glicerynowego dawał najlepszą wydajność chemiczną aldolu oraz zapewniał najwyższą *anti*-stereoselektywność konieczną dla uzyskania końcowego produktu o pożądanej budowie stereochemicznej. Okazało się, że spośród przetestowanych 12 pirogronianów najlepsze wyniki dawał znany już w grupie prof. Młynarskiego i stosowany wcześniej, sterycznie zatłoczony ester z grupą typu aryloksy, w której pierścień fenyłowy zawierał dwa podstawniki *t*-butylowe ulokowane w pozycjach C(2) oraz C(6), a także elektrono-donorową grupę metoksyłową w pozycji C(4). Jako zasadę, pełniącą również rolę katalizatora, wybrano łatwo dostępną chininę, którą stosowano w ilości 20 mol%. W takich modelowych warunkach uzyskano oczekiwany produkt z najlepszą wydajnością (52%) przy stosunku stereoizomerów *anti/syn* ca. 9:1.

Kolejny krok w poszukiwaniu optymalnych warunków do syntezy przydatnych prekursorów kwasów ulozonowych polegał na przetestowaniu w roli katalizatora organometalicznego, chiralnego binuklearnego kompleksu cynku z pochodną prolinolu, który stosowano w ilości 5 mol%. W wyniku

optymalizacji warunków reakcji otrzymano oczekiwane aldeole z dobrymi wydajnościami chemicznymi (71% oraz 55 % w zależności od zastosowanego aldehydu) oraz diastereoselektywnościami *anti/syn*, odpowiednio 7:1 oraz 3:1. Mając w ręce potrzebne prekursory, Doktorantka przeprowadziła ich cyklizacje na drodze deprotekcji oraz hemiketalizacji uzyskując, m.in. dwa epimery naturalnego kwasu KDN z wydajnościami 78% oraz 63%.

Operując ciągle tym samym, sterycznie zatłoczonym estrem kwasu pirogronowego, Doktorantka zrealizowała obszerny cykl badań mających na celu syntezę prekursorów kwasów ulozonowych w warunkach organokatalitycznych z wykorzystaniem alkaloidów drzewa chinowego oraz ich modyfikowanych form. Okazało się, że najlepsze i powtarzalne rezultaty można było otrzymać przy wykorzystaniu chininy, czyli katalizatora oznaczonego w tekście numerem **222a**. Obszerne prace eksperymentalne przeprowadzone z wykorzystaniem alkaloidów drzewa chinowego doprowadziły do syntez estrów kwasów ulozonowych oraz sjalowych (KDG, DAH, KDQ, KDN) o konfiguracji zgodnej z ich formami naturalnymi, a także ich epimerów. Opisana w rozprawie synteza zredukowanej pochodnej kwasu KDG, czyli związku oznaczonego jako 3DG jest pierwszą syntezą zrealizowaną bez udziału enzymów. Tym samym, Doktorantka osiągnęła trudny cel wskazywany często przez Promotora, aby w pracach laboratoryjnych 'dążyć do naśladowania Natury'.

W końcowej części rozprawy opisano ciekawą i elegancko przeprowadzoną syntezę kwasu *N*-acetyloneraminowego. Na wszystkich etapach Doktorantka wykorzystwała wcześniejsze obserwacje i ustalenia dotyczące optymalizacji warunków kondensacji aldolowej oraz cyklizacji uzyskiwanych ten sposób prekursorów. W tym przypadku kluczowym substratem była mannozamina zawierająca grupę *N*-acetylową w pozycji α wobec grupy aldehydowej. Addycję aldolową przeprowadzono z dobrą wydajnością chemiczną (65%) oraz całkowitą *syn*-diastereoselektywnością. Końcowy etap cyklizacji został zrealizowany z dużym powodzeniem w obecności żywicy jonowymiennej DOWEX i ostatecznie uzyskano kwas *N*-acetyloneuraminowy (NANA) z wydajnością ponad 99% !

Oprócz prac *stricto* syntetycznych Doktorantka zaproponowała w każdym z sektorów opisywanych badań mechanizmy reakcji i w oparciu o analizę struktury powstających kompleksów racjonalnie wyjaśniła obserwowane efekty stereochemiczne. Bardzo reprezentatywnym przykładem takiego podejścia jest model chelatowy *Felkina-Ahna* przedstawiony na str. 113 (Rys. 77), który wyjaśnia pełną *syn*-stereoselektywność reakcji aldolowej prowadzącej do prekursora produktu NANA.

Rozprawa została przygotowana w klasycznej formie i składa się z 6 rozdziałów, w tym z 3 głównych, dobrze zrównoważonych pod względem objętości, które dotyczą 'Części literaturowej', 'Części badawczej' oraz 'Części preparatywnej'. Wszystkie zostały przygotowane starannie i są wzbogacone o

przejrzyste Schematy oraz Tabele niezbędne dla właściwej analizy obszernego materiału eksperymentalnego. Opisy uzyskanych produktów są wystarczające dla potwierdzenia ich struktury, chociaż byłoby lepiej, gdyby ich czystość, chociażby w odniesieniu do najważniejszych prekursorów końcowych produktów została potwierdzona wynikami analizy elementarnej. Jestem jednak świadomy, że związki zawierające jednostki cukrowe są wyjątkowo trudne do przygotowania w formie ‘analytically pure samples’. W takich sytuacjach, zarejestrowane widma HRMS trzeba uznać za wystarczający dowód proponowanego wzoru sumarycznego i czystości badanej próbki. Brak opisu stanu skupienia opisywanych związków tłumaczę w taki sposób, że zawsze chodziło o bezbarwne, oleiste substancje oczyszczane na drodze chromatograficznej i nigdy nie podejmowano prób ich krystalizacji. Tekst rozprawy został napisany dobrym, zrozumiałym językiem i znalazłem tylko kilka miejsc, które wymagają drobnej korekty językowej, np.

- 1) Str. 99: ‘..określenie diastereoselekcji reakcji ..’ powinno być zamienione na : ... określenie diastereoselekcji reakcji’
- 2) Str. 99: ‘.. sposób obróbki reakcji ..’ powinien być zamieniony na: ... sposób obróbki mieszaniny reakcyjnej ..’
- 3) Str. 95: ‘.. świadczy od racemizacji ...’, powinno być ‘.. świadczy o racemizacji ...’
- 4) Str. 90: ‘.. aldole *anti* zostały cykliczowane ...’, powinno być ‘.. aldole *anti* poddano cyklizacji’
- 5) Str. 49: ‘... od grup elektrodonorujących.’, powinno być ‘.. od grup elektrono-donorowych.
- 6) Str. 49: ‘... reakcja biegnie o kilka etapów za daleko ..’, powinno być ‘.. reakcja jest trudna do kontrolowania ...’
- 7) Str. 47: ‘... z różnymi ketonami, wśród których ... był pirogronian etylu’. Pirogronian etylu jest związkiem dwufunkcyjnym, czyli ketoestrem, a nie ketonem !
- 8) Str. 45, Rys. 25: dla pirogronianu **100** należy zapisać dwie cząsteczki uczestniczące w reakcji aldolowej, prowadzącej do ‘aldolu’ **102**.
- 9) Str. 17: ‘... opracowanie efektywnej i stereokontrolowanej metody syntezy wiązania węgiel-węgiel’; powinno być ‘..opracowanie warunków dla przeprowadzenia efektywnej i stereoselekcyjnej reakcji aldolowej pomiędzy chiralnymi, cukrowymi aldehydami i estrem kwasu pirogronowego, prowadzącej do utworzenia nowego wiązania węgiel-węgiel’

Oczywiście, te drobne uwagi nie mają żadnego wpływu na moją wysoką ocenę rozprawy doktorskiej Pani mgr Marty Wolczko. Najważniejsze osiągnięcia zostały już opisane w dwóch publikacjach zamieszczonych w prestiżowych czasopismach fachowych, takich jak *Advances in Synthesis and Catalysis* (2015)

oraz *European Journal of Organic Chemistry* (2016), a więc znajdują się już od wielu miesięcy w obiegu międzynarodowym. Ponadto, mgr M. A. Molenda (nazwisko panięskie Doktorantki) jest jedynym autorem pracy przeglądowej, ściśle powiązanej z chemią kwasów ułożonowych, która ukazała się w *Wiadomościach Chemicznych* (2014), w pierwszej fazie przygotowywania rozprawy.

W podsumowaniu stwierdzam, że uzyskane przez Doktorantkę wyniki posiadają znaczną wartość naukową i wnoszą wartościowe ustalenia do obszaru syntezy stereokontrolowanej oraz w ogólniejszym znaczeniu do chemii związków pochodzenia naturalnego.

Po zapoznaniu się z rozprawą złożoną przez Pana mgr Martę Wolczko oraz jej osiągnięciami publikacyjnymi, uważam, że zostały spełnione wszystkie wymagania formalne oraz obyczajowe stawiane rozprawom doktorskim w zakresie nauk chemicznych, w dyscyplinie chemia organiczna. W oparciu o takie stwierdzenie, zwracam się do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego z wnioskiem o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów postępowania w jej przewodzie doktorskim.

KIEROWNIK
KATEDRY CHEMII ORGANICZNEJ
INSTYTUTOWANEJ
prof. zw. dr hab. Grzegorz Mlostek