

Recenzja

pracy doktorskiej Pana mgr Adama Dropa pt. „Stereoselektywne reakcje jonów enolanowych pochodnych butanodiacetalowych i ich zastosowanie w syntezie dispartluru i monachaluru”

Cel przedstawionej do recenzji pracy mgr Adama Dropa czyli synteza feromonów z ugrupowaniem epoksydowym: dispartluru i monachaluru, uznaję za w pełni uzasadniony i wpisujący się w prowadzone od wielu lat badania nad związkami regulującymi rozwój owadów. Wspomniane epoksydy są dominującymi składnikami feromonów płciowych dwóch gatunków inwazyjnych lasów, należących do rodziny brudnicowatych motyli nocnych: brudnicy nieparki oraz brudnicy mniszki. Rolą feromonów płciowych jest przywabianie osobników płci przeciwnej, w tym wypadku samców przez samice. Ze względu na fakt, iż feromony owadów działają selektywnie tylko w obrębie przedstawicieli określonego gatunku, zjawisko to może być wykorzystane do zwalczania owadzich szkodników poprzez zastosowanie tzw. pułapek feromonowych, zawierających określone substancje wabiące. Taka metoda ochrony roślin określona jest jako ekologiczna i stanowi wartą rozważenia alternatywę wobec dotychczas stosowanych prób ograniczania populacji różnych szkodników np. kornika drukarza w Puszczy Białowieskiej.

W planach badawczych mgr Adama Dropa było otrzymanie dispartluru i monachaluru w postaci czystych enancjomerów ze względu na ich naturalne występowanie w takiej formie i udowodniony dla dispartluru wpływ konfiguracji centrów chiralności na aktywność feromonalną. Ponadto, u obu gatunków brudnicy odkryto mechanizm inaktywacji dispartluru polegający na hydrolizie pierścienia epoksydowego do diolu katalizowanej przez obecną w czułkach owada hydrolazę epoksydową. Proces ten warunkuje ciągłą wrażliwość owadów na bodźce zapachowe. W przypadku brudnicy nieparki potwierdzono dotychczas obecność dwóch hydrolaz epoksydowych. Badania ich specyficzności substratowej są niezbędne w kontekście pełnej charakterystyki tych enzymów i poznania całościowego mechanizmu

inaktywacji feromonów epoksydowych. Eksperymenty te wymagają otrzymania pojedynczych enancjomerów dispaluru i monachaluru, co uzasadnia zastosowanie do tego celu metod syntezy asymetrycznej.

Praca doktorska mgr Adama Dropa liczy 137 stron podwójnego maszynopisu, którego estetykę zaburza nieco brak wyrównania tekstu. Z wyłączeniem spisu treści oraz wykazu akronimów i skrótów (bardzo przydatnego w lekturze) praca składa się z dziewięciu rozdziałów (Wstęp literaturowy, Cel pracy, Badania własne, Część doświadczalna, Podsumowanie - w języku polskim i angielskim, Spis rysunków i tabel, Literatura oraz Dorobek naukowy). Układ pracy jest klarowny, choć treść rozdziałów "Badania własne" oraz "Część doświadczalna" lepiej oddałyby tytuły powszechnie stosowane w pracach doktorskich, a mianowicie „Omówienie i dyskusja wyników” oraz „Materiały i metody”. Autor umieścił w pracy 89 czytelnych rysunków (schematów reakcji, fragmentów widm NMR, itp.) oraz 11 tabel z wynikami. Zabieg ten znacznie ułatwił śledzenie toku rozumowania Autora.

Pierwsza część pracy zatytułowana "Wstęp literaturowy" jest podzielona na trzy podrozdziały. W pierwszej z nich Autor przybliżył zjawisko "pamięci chiralnej" (z ang. Memory of Chirality, MOC) a następnie omawia przykłady reakcji z udziałem jonów enolanowych, których przebieg wyjaśnia wspomniana teoria. Są to najczęściej reakcje pochodnych aminokwasów takie jak reakcje alkilowania w pozycji α , addycja Michaela, cyklizacja czy reakcja aldolowa. W drugim podrozdziale wstępu literaturowego przytoczono przykłady syntezy i zastosowań chiralnych butanodiacetali w syntezie organicznej, ze szczególnym uwzględnieniem butanodiacetali uzyskanych z pochodnych kwasu winowego. Autor omawia liczne zastosowania butanodiacetali jako chiralnych bloków budulcowych w syntezie związków naturalnych o aktywności antynowotworowej i antyrodnoustrojowej. Należy podkreślić, że w trakcie lektury tego podrozdziału można napotkać reakcje, które będą później wykorzystywane przez Autora w trakcie badań własnych. Ostatni podrozdział tej części pt. "Feromony brudnicy nieparki i brudnicy mniszki", oprócz omówienia wpływu chiralności na aktywność feromonów i dokładnej budowy oraz funkcjonowania tej grupy związków u motyli z rodziny brudnicowatych, przybliży czytelnikowi dotychczasowe metody syntezy (+)-disparluru i jego izomerów optycznych. Przedstawione zostały zarówno syntezy wykorzystujące jako substraty związki naturalne jak również przykłady syntezy asymetrycznej, m.in. epoksydacji Sharplessa, chloroalliloborowania, reakcji Mitsunobu czy reakcji aldolowej w obecności L lub D-proliny jako katalizatora.

Część literaturowa dobrze wprowadza czytelnika w tematykę dysertacji, choć moim zdaniem mogłaby być nieco krótsza, a liczba przykładów reakcji z udziałem jonów enolanowych oraz zastosowań butanodiacetali ograniczona do kilku reprezentatywnych przykładów. Mam również pytanie, jak należy rozumieć zdanie: "Do ustalenia struktury (+)-disparluru....wykorzystano 78 tysięcy końcówek dwóch segmentów brzusznych samic brudnicy nieparki" (str. 35). Korzystne dla spójności tekstu byłoby przedstawienie kolejności podrozdziałów polegające na opisanie w pierwszej kolejności kwestii dotyczących feromonów, a później przedstawienie zastosowań butanodiacetali, w tym reakcji przebiegających według teorii pamięci chiralnej. Podczas opracowywania części literaturowej wkradły się również dwie niekonsekwencje: w podrozdziale "Znane syntezy (+)-disparluru i jego izomerów" ostatni przykład dotyczy jedynej dotychczas opublikowanej syntezy (+)-monochaluru, natomiast trzy ostatnie przykłady syntez w podrozdziale "Syntezy disparluru wykorzystujące związki naturalne" zdają się dotyczyć substratów syntetycznych. Te drobne uchybienia formalne równoważy jednak mnogość wartościowych informacji z dziedziny syntezy asymetrycznej.

Drugi rozdział dysertacji to "Cel pracy" sformułowany na jednej stronie, w którym Autor uzasadnił celowość podjętych badań nad opracowaniem nowej ścieżki syntezy obu enancjomerów disparluru i monochaluru w kontekście badań specyficzności substratowej dwóch hydrolaz epoksydowych. W tym fragmencie dziwi nieco użycie liczby mnogiej zwłaszcza, że własne badania Autor opisuje już prawidłowo w liczbie pojedynczej.

Kolejne dwa ściśle powiązane ze sobą rozdziały recenzowanej pracy – „Badania własne” oraz „Część doświadczalna” dotyczą badań przeprowadzonych przez Doktoranta. W rozdziale „Badania własne” Autor szczegółowo przedstawił uzyskane przez siebie wyniki badań. W ich toku, posługując się metodami syntezy asymetrycznej, zsyntetyzował oba enancjomery disparluru i monochaluru, stosując jako chiralne substraty pochodne butanodiacetalowe otrzymane z L-winianu dimetylu. Wybór butanodiacetali jako związków wyjściowych w opisanej syntezie był podyktowany obecnością w ich strukturze usztywnionego pierścienia 1,4-dioksanu posiadającego centra chiralności. W toku syntez pochodnych butanodiacetalowych istotne znaczenie w kontekście uzyskania odpowiednich konfiguracji finalnych produktów miały konfiguracje dwóch centrów stereogenicznych pochodzących od cząsteczki L-winianu dimetylu. Kluczową ze stereochemicznego punktu widzenia reakcją była epimeryzacja polegająca na zmianie położenia podstawnika przy C-2 z ekwatorialnego na aksjalne. Proces ten, nazywany przez Autora desymetryzacją, skutkuje uzyskaniem pożądaných konfiguracji 7*R*,8*S* dla (+)-disparluru i (+)-monochaluru oraz 7*S*,8*R*

dla ich enancjomerów lewoskrętnych. Wiedząc, że proces izomeryzacji diestru metylowego **112** wymaga zastosowania katalitycznego uwodornienia i wysokiego ciśnienia, a reakcja może trwać nawet do 6 dni, Autor dobrał znacznie łagodniejsze warunki tego procesu z wykorzystaniem pochodnej ditioestrowej **119**, którą uprzednio otrzymał w dwuetapowej syntezie z L-winianu dimetylowego. Uzyskany w wyniku izomeryzacji pochodnej **119** chiralny ditioester **131** zawierał jedną grupę tioestrową przy C-2 w pozycji aksjalnej, a drugą przy C-3 w pozycji ekwatorialnej, a konfiguracje te w trakcie kolejnych przeprowadzanych reakcji pozostały niezmienione. Ditioester **131** w reakcji transestryfikacji przekształcono do pochodnej diizopropylowej **132**, którą następnie zredukowano do znanego w literaturze diolu **126**. Selektywna blokada grupy OH podstawnika hydroksymetylenowego w pozycji aksjalnej chlorkiem *tert*-butylodimetylosillilowym (TBDMSCl), a następnie utlenienie wolnej grupy hydroksylowej chlorkiem oksallilu do grupy karbonylowej metodą Swerna pozwoliło na uzyskanie aldehydu **136**, będącego wspólnym prekursorem izomerów optycznych disparluru i monachaluru. Dalsza synteza polegała na przyłączeniu odpowiednich fragmentów alkilowych w reakcjach Wittiga i uwodornieniu podwójnych wiązań, przy czym druga sekwencja tych reakcji poprzedzona była zdjęciem blokady z grupy OH i jej utlenieniem metodą Swerna. Tak uzyskane dialkilowe pochodne butanodiacetali hydrolizowano do dioli, które poddano reakcji epoksydacji. Dobór odpowiednich bromków alkilofosfoniowych i kolejność ich przyłączania pozwolił Autorowi na osiągnięcie zakładanego celu badań czyli otrzymania obu enancjomerów interesujących go feromonów.

Opisana ścieżka syntetyczna nie była jedyną obroną przez Autora. Początkowo bowiem ditioester **131** miał posłużyć do uzyskania regioizomerycznych aldehydów **312** i **314**, które miały być następnie substratami w reakcji Wittiga. Na tym etapie napotkano jednak na trudności z rozdzieleniem powstających produktów, co zastopowało dalsze przekształcenia tych związków. Autor próbował również wykorzystać pochodną **316**, uzyskaną jako produkt uboczny reakcji transestryfikacji estru dimetylowego **112** tioetanolem, zawierającą dwie różne grupy funkcyjne przy atomach C-2 i C-3, co dawało nadzieję na jego dalsze chemoselektywne przekształcenia. Niestety, również w tym przypadku, po epimeryzacji na atomie C-2 i selektywnej redukcji Fukuyamy grupy tioestrowej przy C-3, uzyskany aldehyd **318** mimo wielu prób reakcji Wittiga z bromkiem *n*-pentanotrifenylofosfoniowym nie został przekształcony z satysfakcjonującą wydajnością do pożądanego produktu. Nieudane próby reakcji Wittiga z aldehydami **312**, **314** i **318** nie zraziły jednak Doktoranta i skłoniły do wykorzystania opisanej wyżej ścieżki z wykorzystaniem diolu **126**, która okazała się skuteczna. Oprócz biegłości i intuicji przydatnej w pracy chemika syntetyka świadczy to

również o dużym samozaparciu i wytrwałości Doktoranta, jaką włożył w swoją pracę badawczą i elastycznym podejściu do obranej strategii syntetycznej, która ulegała modyfikacjom w odpowiedzi na pojawiające się ograniczenia. Diol **126** Autor otrzymał nie tylko w wyniku wspomnianej wcześniej redukcji estru **132**, lecz również jako produkt redukcji otrzymanych związków **317** i **318**, co świadczy o Jego racjonalnym i ekonomicznym podejściu do planowanej syntezy. Na uznanie zasługuje umiejętność rozwiązywania napotkanych w trakcie wykonywanych reakcji problemów. Przykładowo Doktorant ominął trudności w redukcji wiązań podwójnych w łańcuchach alkilowych przyłączonych w reakcjach Wittiga, wykonując te reakcje po każdym etapie olefinacji lub zastępując w roli katalizatora nikiel Raneya palladem na węglu aktywnym. Doktorant wykazał się również biegłością w korzystaniu z technik NMR nie tylko przy identyfikacji powstałych związków, ale również przy określaniu składu ilościowego mieszanin reakcyjnych.

Generalnie, lektura części poświęconych badaniom przeprowadzonym przez Doktoranta świadczy o bardzo dobrym opanowaniu przez niego technik syntezy związków organicznych oraz oczyszczania i identyfikacji produktów reakcji. Potwierdzeniem tego jest również rozdział zatytułowany "Część doświadczalna", w której Autor bardzo dokładnie opisał metodykę przeprowadzonych reakcji, co umożliwia ich powtórzenie.

Do największych osiągnięć Doktoranta w trakcie realizacji badań opisanych w dysertacji zaliczam:

1. Opracowanie nowej ścieżki syntezy obu enancjomerów dispartluru i monachaluru z wykorzystaniem diolu **126**. Zaprezentowana procedura jest uniwersalna i może posłużyć do otrzymywania innych naturalnych związków z pierścieniem epoksydowym.
2. Optymalizacja procedury izomeryzacji ditioestru **119** oraz pochodnej **316**, jako kluczowych etapów w syntezie asymetrycznej feromonów brudnicy nieparki i brudnicy mniszki.
3. Wyjaśnienie stereoselektywności izomeryzacji związku **119** poprzez ustalenie konfiguracji powstających w tych reakcjach jonów enolanowych, co wymagało ich przeprowadzenia w etery krzemianowe i wykonania analizy dwuwymiarowej NOE NMR.
4. Opracowanie warunków wydajnej syntezy pochodnej **316** z diestru metylowego **112**. Pochodna ta, ze względu na obecność dwóch grup funkcyjnych o różnej reaktywności (estrowej i tioestrowej), stwarza duże możliwości przekształceń prowadzących do otrzymania nowych związków naturalnych.

Przed opublikowaniem wyników badań w czasopismach naukowych należałoby dokonać kilku uzupełnień i korekt. Przede wszystkim w opisie danych spektroskopowych rzuca się w oczy brak przypisania poszczególnych sygnałów określonym protonom i atomom węgla w cząsteczkach analizowanych związków. Jakże techniki spektroskopowe są pomocne w tym zakresie? Czytelniejsze byłoby również podanie składów procentowych mieszanin reakcyjnych w procentach, a także każdorazowe ponumerowanie atomów węgla pierścienia dioksanu w prezentowanych wzorach z uwagi na zmieniającą się w zależności od rodzaju przyłączonych podstawników numerację. W pracy brakuje informacji o pochodzeniu i czystości odczynników oraz substratów wyjściowych, w tym estru dimetylowego kwasu L-winowego. Czy oprócz TLC Doktorant stosował inne techniki chromatograficzne do monitorowania przebiegu reakcji?

Wyjaśnienia lub doprecyzowania wymagają następujące kwestie:

1. Która część opracowanej ścieżki syntetycznej i które związki są nieopisane dotąd w literaturze? Powinno to być wyraźnie podkreślone w podsumowaniu, bo świadczy to o aspekcie nowości prowadzonych badań.
2. Jakie są całkowite wydajności przeprowadzonych syntez?
3. Z Tabeli 7 na str. 59 wynika że w reakcji transestryfikacji estru dimetylowego **112**, produkt **119** zawsze tworzył się w mniejszych ilościach. Jak więc tłumaczyć jego otrzymanie z 99%-ową wydajnością opisane w podpunkcie 4.2 części doświadczalnej?
4. Mylące jest umieszczenie na schemacie reakcji epimeryzacji związku **316** (str. 60) dwóch produktów podpisanych jako **317A** i **317B**, skoro wiemy, że tworzył się tylko pierwszy z nich, numerowany w tekście jako **317**.
5. Jaki wzór ma eter siliłowy **127** uzyskany jako drugi produkt z diolu **126**? Związku tego nie ma na ani rysunku 83, ani w opisie syntezy na str. 88, choć Autor wspomina w tekście o jego powstawaniu. Jaki był zatem skład mieszaniny reakcyjnej?
6. Czy faktycznie reakcje izomeryzacji związku **119** do **131** oraz **316** do **317** można nazwać desymetryzacją w kontekście definicji tego pojęcia w syntezie asymetrycznej?
7. Jak wyjaśnić obecność związku **112** w mieszaninie produktów reakcji izomeryzacji ditioestru **119**?
8. Czym Autor tłumaczy brak sukcesów w reakcjach Wittiga z aldehydami **312**, **314** i **318**, a także w niektórych reakcjach redukcji katalizowanych niklem Raneya?

W pracy zauważyłem kilka literówek oraz błędów merytorycznych, nieścisłości i skrótów myślowych np. nieprawidłową nazwę związku **316** w tytule podpunktu 3.1.2, nieprawidłowy wzór kwasu winowego **111** na rysunku 30 (str. 19) oraz (-)-disparluru na

rysunku **86** (str. 70), określenie "centra chiralne" zamiast centra chiralności (str. 50). Związek **92** to nie 1,2-diacetal a monoacetal, związek **103** to nie 3,3-dimetoksybutan-2-on tylko ester dimetylowy kwasu L-mlekowego, a związek **299** nie jest hydroksylaktonem tylko hydroksyketonem. Diol **126** nie zawiera aksjalnej grupy hydroksylowej tylko podstawnik hydroksymetylenowy w pozycji aksjalnej (str. 116), a na str. 68 błędnie podpisano związek nr **136** jako **128**.

Recenzowana praca napisana jest dobrym językiem naukowym, znalazłem jednak kilka niezręczności językowych często wynikających ze zbyt dosłownego tłumaczenia z języka angielskiego np. "przygotowanie obydwu naturalnie występujących izomerów" (str. 50), *N*-diblokowana pochodna fenyloalaniny (str. 13), czy określenie "mocno napięty" w stosunku do enolanu **65** na rys. 18 (str. 13). Zmiany wymagają sformułowania takie jak np. "otrzymanie całkowitego braku substratu" (str. 60) i "ogrzewanie pod kolumną zwrotną" (str. 74).

Przytoczone uwagi i zapytania w niczym nie umniejszają wartości naukowej badań przeprowadzonych przez mgr Adama Dropa. Fragment tych badań został już opublikowany w czasopiśmie *Tetrahedron Letters*, ponadto Doktorant jest współautorem jeszcze jednej publikacji badawczej, jednego artykułu przeglądowego, dwóch rozdziałów w monografiach naukowych a także sześciu wystąpień konferencyjnych.

W podsumowaniu stwierdzam, że w pracy doktorskiej pt. "Stereoselektywne reakcje jonów enolanowych pochodnych butanodiacetalowych i ich zastosowanie w syntezie dispartluru i monachaluru" mgr Adam Drop przedstawił oryginalne rozwiązanie problemu dotyczącego syntezy interesujących go feromonów, co potwierdza wiedzę teoretyczną Autora z zakresu chemii organicznej i świadczy o umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Praca spełnia zatem wymogi stawiane przez "Ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki", dlatego wnioskuję do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Opolskiego o dopuszczenie jej Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W. Gładki