

prof. dr hab. inż. Maria J. Milewska
Katedra Chemii Organicznej
Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej
80-233 Gdańsk, ul. Narutowicza 11/12
tel. 58 347 11 34, e-mail: maria.milewska@pg.edu.pl

Gdańsk, 12.10.2023

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Mateusza Mikołaja KLAREK

pt. „Synteza i transformacje halogenowanych pochodnych estrów kwasów β -imino- oraz β -aminofosfonowych”

wykonanej w Zakładzie Syntezy i Struktury Związków Organicznych na Wydziale Chemii UAM pod kierunkiem dr hab. Magdaleny Rapp, prof. UMA

Najmniejszy możliwy nasycony azaheterocykliczny związek, azyrydyna, jest dobrze znany chemikom organicznym ze względu na jego ogromny potencjał w syntezie organicznej i chemii medycznej. Z drugiej strony, chociaż szkielet azyrydynowy jest wysoce reaktywny, występuje w kilku produktach naturalnych. Ponadto wiele syntetycznych związków o znaczeniu biologicznym zawiera w swojej strukturze szkielet azyrydynowy. Fakt ten, w połączeniu z niezwykle reaktywnością wynikającą z naprężenia pierścienia, czyni go obiektem zainteresowania zarówno z syntetycznego, jak i mechanistycznego punktu widzenia. Pierwszą syntezę azyrydyny przeprowadził Gabriel w 1888 r. Dalsze badania przyniosły liczne metody syntezy różnie podstawionych azyrydyn. Zaobserwowano, że obecność różnych grup funkcyjnych przy atomie azotu, ale także na atomach węgla pierścienia odgrywa znaczącą rolę w określaniu geometrii pierścienia azyrydynowego i jego transformacji. Wykorzystano to w syntezie różnorodnych typów związków organicznych o znaczeniu biologicznym, między innymi takich jak β -laktamy, azynomycyny, tetrahydropirydyny, alkaloidy indolizydynowe i pirolizydynowe, aminy allilowe czy aminokwasy. Poza tym azyrydyny są również przydatnymi chiralnymi środkami pomocniczymi, ligandami, czy monomerami do syntezy polimerów. Wprowadzenie do pierścienia azyrydynowego atomów halogenu oraz grupy fosfonowej umożliwia poszerzenie spektrum zastosowań syntetycznych omawianych związków.

Znaczące osiągnięcia w chemii organicznej związków fluoru są udziałem naukowców z zespołu prof. Henryka Koroniaka z Wydziału Chemii UAM. Badania nad otrzymywaniem i właściwościami modyfikowanych podstawnikami fluorowymi, a szerzej halogenowymi estrów kwasów β -imino- oraz β -aminofosfonowych, które realizował mgr Mateusz Klarek w trakcie Studium Doktoranckiego pod opieką dr hab. Magdaleny Rapp, stanowiły element realizacji tego programu. Wyniki tych badań zostały przedstawione w recenzowanej rozprawie doktorskiej.

Przedmiotem rozprawy są przede wszystkim prace nad projektowaniem i syntezą: α,α -halogenofluorowanych β -iminofosfonianów – wyjściowych substratów do syntezy α,α -halogenofluorowanych β -aminofosfonianów oraz azyrydino-2-fosfonianów. Otrzymane związki zostały poddane szczegółowej analizie spektralnej przy pomocy spektroskopii protonowego, węglowego, fosforowego i fluorowego NMR. Przedmiotem badań spektroskopowych były także problemy związane z regio- oraz diastereoselektywnością przeprowadzanych reakcji chemicznych. Ponadto zostały zbadane i przeanalizowane bariery energetyczne prowadzące do poszczególnych izomerów azyrydino-2-fosfonianów, a wyniki te zostały poparte obliczeniami kwantowo-mechanicznymi.



Ten interdyscyplinarny charakter pracy zasługuje na szczególne podkreślenie. Doktorant nie tylko wybrał metodę syntezy, ale i otrzymał kilka serii związków, następnie zbadał ich właściwości spektroskopowe, a wyniki potwierdził obliczeniami. Ponadto sprawdził możliwości przeprowadzenia dalszych przemian chemicznych otrzymanych związków.

Dysertacja pana mgr Mateusza Klarek jest obszernym, bo liczącym 328 stron, opracowaniem; ilustrowana jest licznymi schematami (115) i rysunkami (58) oraz zawiera 15 tabel i cytaty z 146 pozycji literaturowych. Układ pracy jest zbliżony do standardowego. Pierwszy rozdział zatytułowany „Część Literaturowa” zawiera wprowadzenie oraz przegląd literatury związanej z tematyką dysertacji. Drugi fragment pracy pt. „Cele Pracy, Omówienie Wyników i Dyskusja” zawiera, zgodnie z tytułem, cel pracy, badania własne – opisujące uzyskane wyniki i ich dyskusję. Kolejne rozdziały to wnioski, część eksperymentalna oraz spis cytowanej literatury. Integralną częścią dysertacji jest katalog zawierający pomierzone widma ^1H , ^{19}F i ^{31}P NMR (190 widm). Całość uzupełniają nienumerowane streszczenia w języku polskim i angielskim, Curriculum vitae, zestawienie dorobku publikacyjnego Doktoranta oraz spis treści. Wykaz niektórych skrótów stosowanych przez Autora w tekście rozprawy jest umieszczony na jej początku. Dodatkowym atutem są, umieszczone w części eksperymentalnej, wzory strukturalne syntezowanych cząsteczek lub grup związków, ułatwiające analizę przedstawionych danych spektroskopowych.

Część literaturowa obejmuje 77 stron i składa się z wprowadzenia oraz trzech części. Trójstronicowe **Wprowadzenie** tak naprawdę jest streszczeniem treści zawartych w tym rozdziale. Pierwsza z nich jest przeglądem literaturowym poświęconym przemianom chemicznym halogenowanych imin. Natomiast w drugim fragmencie części literaturowej Doktorant w sposób kompetentny, a zarazem interesujący, przedstawił z jednej strony syntezę, z drugiej strony – opisał właściwości chemiczne azyrydyn z halogenowymi podstawnikami oraz ich fosfonowych analogów. Autor podzielił tę część uwzględniając rodzaj podstawnika halogenowego w trójczłonowym pierścieniu. Dla każdego rodzaju pochodnych zostały opisane nie tylko syntezy, ale możliwości transforamacji pierścienia oraz jego reaktywność. Trzecia część poświęcona jest biologicznej aktywności znanych aminofosfonianów, ich halogenopochodnych oraz azyrydyn z podstawnikiem fosfonowym.

Rozważania te są poparte 130 odnośnikami literaturowymi. Dobór tematów tej części rozprawy uważam za przemyślany, a całość czyta się dosyć przyjemnie. Tekst napisany jest dobrym, fachowym językiem, zilustrowany rysunkami (15 szt.), tabelami (7 szt.) i schematami (87 szt.), co ułatwia jego zrozumienie, również osobom nie zajmującym się tego typu problemami. Jednakże zastanawiające jest w tej części rozprawy znaczna liczba błędów i sformułowanie niegramatycznych, czego nie zauważyłam a części opisującej badania własne. Dlatego pozwolę sobie na podanie kilku uwag szczegółowych oraz niektórych z zauważonych przeze mnie niezręcznych sformułowań, wyrażen slangowych czy niezrozumiałych określeń:

Str. 19 – „... wykorzystywanym w syntezie azyrydyn posiadającym atom/y chloru.”

Str. 38 – „... użyto wodny roztwór kwasu...”; „...poprzez analogiczny mechanizm..”

Str. 39 – „... ograniczoną liczbę publikacji podejmującą ową tematykę...”

Str. 40 – „... kilku kropli stężonego..”

Str. 42 – „... obróbka reakcji..”

Str. 44 – „... centrum stereogenicznego przy atomie C-2..” raczej na atomie C-2

Str. 47 – „...w postaci olejów..”

Str. 57 – „... reakcję... katalizowaną w warunkach kwasowych.” raczej „katalizowaną kwasami” albo „z katalizą kwasowa”

Str. 32 – cytowana pozycja [62] jest pustym miejscem w spisie literatury

Str. 46 – odesłanie czytelnika do podrozdziału X, który w pracy nie istnieje

Str. 70 – co miał Autor na myśli pisząc „tutaj coś dać co było”?

Schemat 1.63 (str. 47) – zarówno schemat, jak i akapit opisujący zamieszczone tam reakcje jest trudny do zrozumienia bez sięgnięcia do oryginału; związki **1.168** nie były izolowane, natomiast

wyodrębniano nieumieszczone produkty otwierania pierścienia kwasem octowym; związki **1.168** bez izolacji, w mieszaninie reakcyjnej ulegały cyklizacji do zw. **1.169**.

Literówki: np. str. 46 „Pomimo ograniczone liczby”; str. 59 „że przypadku nukleofilii tiolowych”;

Reasumując, **Część literaturowa** jest stosunkowo obszernym, kompetentnym opracowaniem, poświęconym omówieniu zagadnień, których znajomość dotychczasowego stanu wiedzy jest niezbędna do właściwego zrozumienia i interpretacji wyników przeprowadzonych i opisanych w rozprawie badań. Opracowanie tych zagadnień przedstawione w Części Literaturowej zawiera wszystkie najistotniejsze informacje dostępne w literaturze, poparte cytatami z aktualnego piśmiennictwa. Język i styl opisu są generalnie dobre.

Cele pracy Autor opisuje bardzo szczegółowo w dwustronicowym rozdziale (str 83/84).

Wyniki przeprowadzonych badań wraz z dyskusją zostały przedstawione w aż dziewiętnastu kolejnych podrozdziałach części pt. **Cele, omówienie wyników i dyskusja**, poświęconych syntezie, charakterystyce spektroskopowej oraz analizie konformacyjnej α,α -halogenofluorowych i α,α -dibromowych β -aminofosfonianów z szczególną uwagą na pochodne azyrydyny; natomiast w czterech ostatnich podrozdziałach omówione zostały możliwości przekształcenia otrzymanych wcześniej związków w inne pochodne, np.: cyjanowe, azydowe czy wbudowanie ich w łańcuch peptydowy. Wyniki prac syntetycznych, tak jak już wspominałam, zostały uzupełnione analizą spektroskopową z wykorzystaniem magnetycznego rezonansu jądrowego oraz obliczeniami molekularnymi.

W wyniku tak przeprowadzonej analizy mgr Mateusz Klarek wykazał, m. in. że:

- reakcja redukcji α,α -halogenofluorowych β -enamino- i β -iminofosfonianów prowadzi do otrzymania β -aminofosfonianów i przebiega z wysoką diastereoselektywnością; stereoisomery są rozróżnialne metodami spektroskopowymi
- reakcja wewnątrzcząsteczkowej substytucji α,α -halogenofluorowych β -aminofosfonianów daje możliwość otrzymania azyrydów z podstawnikami fluorowym i fosfonianowym na atomie węgla C2; analiza spektroskopowa pozwoliła na ustalenie geometrii trójczołowego pierścienia, co znalazło swoje potwierdzenie w obliczeniach teoretycznych, m. in. poprzez modelowanie stanów przejściowych reakcji cyklizacji
- jest możliwe otrzymanie chiralnych azyrydów z grupą fosfonową: o konfiguracji *cis* (**2.27a**) oraz fluoroanalogu o konfiguracji *trans* (**2.24bd**; *dr* 1:0,07)
- reakcje podstawienia atomu bromu lub chloru w α,α -dihalogenopochodnych β -imino- lub β -aminofosfonianów przebiegają pod działaniem azydku sodu, przy czym procesowi towarzyszy częściowa hydroliza ugrupowań estrowych – powstaje odpowiednia pochodna monoestru fosfonowego
- reakcja substytucji w α,α -dihalogenopochodnych β -iminofosfonianów pod działaniem azydku sodu w bezwodnych warunkach skutkuje powstaniem produktu dehydrohalogenowania (tworzony jest produkt o sprzężonym układzie wiązań – C=N-C=C)
- możliwa jest synteza dipeptydów, w których jeden z komponentów jest α,α -halogenofluorowy β -aminofosfonian.

Wyniki przeprowadzonych badań wraz z dyskusją przedstawiono i opisano w sposób profesjonalny; ich interpretacja jest w znakomitej większości przypadków kompetentna i dojrzała, a dyskusja dokładna i wyczerpująca. Doktorant przyjął zasadę dosyć drobiazgowego opisywania poszczególnych doświadczeń/podejść co sprawia, że czyta się ten fragment pracy jak dziennik laboratoryjny. Pozostaje mi pewien niedosyt w zakresie formułowania wniosków wynikających z przeprowadzonych badań, analiz i obliczeń – mam wrażenie, że w dużej części wnioski są powieleniem celów przedstawionych w rozdziale 2.1 z zastosowaniem odpowiedniego czasu. Proszę jedynie o ustosunkowanie się do kilku szczegółowych problemów.

1. Str. 91 – proszę o wyjaśnienie następujących rozbieżności (dotyczą związku **2.10ab**): w tekście jest odesłanie do rys. 2.3 „... w postaci dubletów pochodzących od diastereoizomerów (*dr* 1:1), obserwowanych przy wartości δ : -129,08 ppm i -128,65 ppm ($^2J_{FP}$ 82,2 Hz) (Rysunek

- 2.3).” Jednak na w/w rys. przesunięcia chemiczne są inne (-128.12 i -128.52), podobnie jak *dr* (1:0.93). Na str. 240 zamieszczone jest widmo odpowiadające wartościom podanym w tekście. Niestety nie jestem w stanie obliczyć stałych sprzężenia spinowo-spinowego, ponieważ nie podano na jakim spektrometrze pomierzono wspomniane widma.
2. Str. 123 – Nie rozumiem zdania o przesunięciach chemicznych (chyba w ³¹P NMR) dla fluoropochodnych, jeżeli w tym podrozdziale Autor opisuje odpowiednie dibromopochodne; „Zbliżone przesunięcia sygnałów zostały opisane w literaturze dla fluorowanych pochodnych – α -mono i α -difluorowanego ketonu[142].” Czy to zdanie nie powinno się znaleźć w innym miejscu (np. po następnym akapicie)?
 3. Proszę o wytłumaczenie zapisu przejścia (dotyczy przesunięcia [1,2] protonu czy może 1,3) A →B (str. 145, sch. 2.19).
 4. Str. 152 – Jak wytłumaczyć wysoką diastereoselektywność (*dr* 1:0.05) przy najwyższej wydajności (88%) reakcji redukcji związku **2.44** przy użyciu BH₃×THF; dla porównania dla NaBH₃CN wydajność 52% (*dr* 0.7:1)? W przypadku odczynnika LiAlH₄ (wyd. 54%, *dr* 1:0.09) założono chelatujący wpływ atomu litu?
 5. Str.162 – Jakie były przesłanki, aby do testowej syntezy dipeptydu zastosować jako drugi substrat *N*-Boc-L- Ile (wprowadza się dwa następne centra stereogeniczne)?
 6. Str. 122 – jeżeli monoestry azyrydino-2-fosfonianów powinny być bardziej reaktywne biologicznie, to dlaczego ich nie wyizolowano? Czy może już to zrobiono i zbadano ich aktywność biologiczną?

Pragnę stwierdzić, że nie znalazłam w tej części pracy fragmentów, do których można by wysunąć istotne zastrzeżenia natury merytorycznej, a powyższe uwagi mają raczej charakter dyskusyjny. Z obowiązku recenzenta muszę jednak odnotować następujące niekonsekwencje, błędy w nazewnictwie, tzw. literówki, itp., które pojawiają się w recenzowanej dysertacji:

Str. 88 i dalej – przedrostek *rac*- powinien być pisany jest kursywą;

Str. 91 – brak liter w „... α , α -dibromofluorowanego..” 2x

Str. 123 – w kilku miejscach brakuje przedrostka „di” w nazwie „... α , α -bromo...”;

Str. 125, 166, 175 – brak odnośników literaturowych;

Str. 150 – czytelnik jest odesłany do rozdziału 2.xx czyli 2.15 (str. 138 i dalej);

Str. 128 – ‘.. osuszone reagenty..’ raczej ‘bezwodne’

Str. 133, tab. 2.7 – albo brakuje warunków reakcji „i””, albo są takie same i powinno być „i””; dla związków **2.40-2.42** – na schemacie dwukrotnie jest ten sam nr **a**, chociaż powstają *cis*- i *trans*-odpowiednie azyrydiny; jak Autor wytłumaczy powstawanie w tym przypadku w nadmiarze diastereoizomeru *trans*?

Str. 160, sch. 2.25 – brak warunków reakcji;

Str. 161 – stwierdzenie niezbyt zręczne „...na zastosowanie zmodyfikowanych aminofosfonianów w kierunku syntezy analogów dipeptydów.”; lepiej chyba by było „...jako substratów w syntezie..”;

Str. 164 – niepoprawny nawias – powinien być ‘]’;

Str. 166 – struktura jest krystaliczna, a analiza jest krystalograficzna;

Str. 88 i dalej – pojawia się nazwa ‘*p*-metoksyfenyloamina’, IUPAC raczej zaleca nazwę ‘*p*-metoksyanilina’.

Proponuję raczej używać terminu ‘widmo mas’ zamiast ‘widmo masowe’ (np. str. 143); ponadto nie mogę też się zgodzić na nazywanie spektrometrii mas spektroskopią (np. str. 40 czy 174). Ogólnie zostało przyjęte, aby atomy pierwiastków w nazwach chemicznych typu: *N*, *O*, *S* itd. (np. str. 25) pisać kursywą, natomiast L/D – prostą czcionką mniejszą o 1 ppt od tekstu.

W części eksperymentalnej (rozdz. 4) zwięźle i poprawnie Doktorant prezentuje przeprowadzone syntezy. Wszystkie otrzymane związki zostały scharakteryzowane w oparciu o widma ¹H, ³¹P, ¹⁹F i ¹³C NMR, IR oraz wysokorozdzielczą MS. Uważam, że należałoby w nazwach chemicznych stosować wszystkie rodzaje nawiasów, a nie tylko owalne, chociaż wiem że obecnie jest taki trend. Natomiast mam zastrzeżenie do niekonsekwentnego podawania danych otrzymanych z widm mas. Na str. 176-179, 181-183, 186, 196 i 207 podawane są tylko wartości pozornych pików molekularnych [M+1]; a na str. 191, 193, 194, 196 i 198 (dotyczy pochodnych azyrydyn) podawane są

wszystkie informacje, czyli m/z obliczone dla określonego wzoru sumarycznego oraz wartość pomierzonego pikę molekularnego lub [M+1].

W części **Widma NMR** (katalog nieponumerowanych 167 widm NMR) zostały umieszczone dane spektralne, które omawiane były w zasadniczej części dysertacji. Szkoda, że na widmach NMR położenie poszczególnych linii w multipletach nie podano w Hz, co ułatwiłoby ewentualne obliczanie stałych sprzężeń spinowo-spinowych badanych jąder (szczególnie, że widma mierzono na czterech różnych spektrometrach).

Manuskrypt prezentuje dobry poziom graficzny i redakcyjny. Jednak przy tak obszernym opracowaniu trudno nie popełnić błędów typu literówek, których zaobserwowałam niezbyt dużo. Braki w podawaniu odnośników literaturowych już wyliczyłam. Drobna uwaga, to niekonsekwencja w ustawieniach cytatów. Jest ogólnie przyjęte, że odnośniki w nawiasach kwadratowych wstawia się przed znakami interpunkcyjnymi (jak np. na str. 4), a nie po (jak np. str. 5). Nie mam natomiast zastrzeżeń do sposobu cytowania literatury. W części 5 **Literatura** Autor konsekwentnie nie stosuje skrótów czasopism; natomiast podaje tytuły artykułów (podobnie jak w czasopiśmiennictwie biochemicznym) co bardzo ułatwia czytanie pracy. Zauważyłam brak w cytatach nr tomu i str. – [6, 36, 72, 113] oraz [89] (dodatkowo brak czasopisma) czy [62] gdzie nie ma żadnych danych.

Reasumując, pracę pana mgr Mateusza Klarek oceniam jako znaczący wkład, przede wszystkim w chemię azyrydyn, jak i w chemię pochodnych kwasów β -imino- oraz β -aminofosfonowych funkcjonalizowanych podstawnikami zawierającymi atomy fluoru/halogenu. Praca ta ze względu na pewną interdyscyplinarność przeprowadzonych badań wymagała od Doktoranta opanowania wielu technik eksperymentalnych, teoretycznych i spektroskopowych. Chemia fluoru nie jest łatwą i bardzo często odbiega od ogólnie uznanych w naukach chemicznych reguł. Z drugiej strony – prace syntetyczne z pochodnymi azyrydyn nie są trywialne i łatwe do przeprowadzenia.

Wartość uzyskanych wyników znalazła swoje potwierdzenie w fakcie częściowego ich opublikowania w formie artykułu w czasopiśmie z tzw. listy filadelfijskiej *Molecules* (IF 4.6, Q2). Ponadto w dorobku Doktoranta są: artykuł przeglądowy z tematyki związanej z dysertacją (*ARKIVOC* IF 0.9, Q4) oraz dwa artykuły z badań wcześniejszych (*Journal of Catalysis* IF 7.3, Q1, 6 cyt oraz *ChemCatChem* IF 4.5, Q2, 19 cyt). Ponadto p. Klarek brał udział w licznych konferencjach o różnej randze, co zaowocowało 10 komunikatami oraz dwoma monografiami w języku polskim. Odbił 4-miesięczny staż doktorancki w Instytucie Charlesa Gerhardta (Montpellier) w grupie badawczej prof. Davida Virieux/prof. Jean-Luc'a Pirat, gdzie prowadził badania nad syntezą azyrydynofosfonianów. Na podstawie przedstawionej mi pracy sądzę, że Doktorant jest już w pełni ukształtowanym, chociaż młodym badaczem.

Konkludując stwierdzam, że praca doktorska pana mgr Mateusza Mikołaja Klarek spełnia wszystkie wymagania stawiane tego typu rozprawom przez ustawę o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dn. 20 lipca 2018 (Dz. U. 2018, poz. 1668 z późniejszymi zmianami); tym samym wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza o dopuszczenie jej Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. inż. *Maria J. Milewska*

WYDZIAŁ CHEMICZNY
POLITECHNIKA GDAŃSKA

