



Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

dr hab. inż. Barbara Gawdzik, prof. UJK
Instytut Chemii
Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych
ul. Uniwersytecka 7
25-406 Kielce
b.gawdzik@ujk.edu.pl

Kielce 4.12.2023

Ocena Pracy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Anny Salamon-Krokosz

pt. „Synthesis and properties of fluorinated amino acid derivatives”

Podstawę opracowania stanowi uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, odnośnie powierzenia mi funkcji recenzenta rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Anny Salamon-Krokosz pt. „Synthesis and properties of fluorinated amino acid derivatives” z dnia 28 września 2023 roku.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Katarzyny Anny Salamon-Krokosz wykonana pod kierunkiem Profesora Henryka Koroniaka oraz dr Katarzyny Koroniak-Szejn jako promotora pomocniczego dotyczy opracowania strategii syntezy pochodnych aminokwasów zawierających w swej strukturze ugrupowanie fluorowinyłowe, jako prekursora do otrzymywania peptydomimetyków.

Podjęcie tego typu badań jest uzasadnione szczególnie wobec rosnących potrzeb opracowania nowych efektywnych metod otrzymywania i modyfikacji strukturalnych, związków biologicznie aktywnych o określonych właściwościach fizykochemicznych wykazujących wyższą stabilność i lepsze właściwości farmakokinetyczne w stosunku do standardowo stosowanych farmaceutyków.

Ponadto pragnę podkreślić, że podjęcie tematyki rozprawy jest ze wszech miar godne pochwały, tak ze względu na obszar badań jak i tradycje badawcze ośrodka poznańskiego w dziedzinie syntezy związków fluoroorganicznych i kierunek prac Profesora Henryka Koroniaka związanych między innymi z chemią aktywnych biologicznie fluoropochodnych.

Recenzowana praca doktorska to klasyczne opracowanie o monograficznym charakterze, liczące 220 stron, podzielone zasadniczo na dwie części: literaturową i doświadczalną. Bogato zilustrowana rysunkami (107), schematami (60) oraz tabelami (25) dysertacja, zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim, wykaz stosowanych skrótów, cytowanej literatury, a także materiały uzupełniające, na które składają się widma ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^{19}F NMR oraz struktury krystaliczne. Ponadto Autorka w swojej rozprawie zamieściła wykaz dorobku naukowego, jak również podsumowanie i wnioski.

W pierwszej części rozprawy zredagowanej na podstawie 104 pozycji literaturowych zostały opisane metody otrzymywania pochodnych fluoroalkenyłowych. W kolejnych podrozdziałach Autorka przedstawia metody elektrofilowego i nukleofilowego fluorowania takie jak: fluorowanie z udziałem związków metaloorganicznych, reakcje Shapiro, reakcje Hornera-Wadswortha-Emmonsa, fluoroolefinacje Petersona, a także reakcję określaną mianem sprzęgania Julii-Kocińskiego. Szerzej, niż inne reakcje syntezy z udziałem nukleofilowych reagentów, została zaprezentowana reakcja Hornera-Wadswortha-Emmonsa, w przypadku której Autorka opisała jej mechanizm, modyfikacje, a także podała przykłady zastosowania w otrzymywaniu związków biologicznie aktywnych i pochodnych fluorowinyłowych w tym fluoroalkenyłowych aminokwasów. Ponadto Doktorantka podała przykłady reakcji z udziałem związków miedzioorganicznych i metali przejściowych jako alternatywne strategie otrzymywania związków z funkcją fluorowinyłową.

Przed prezentacją wyników otrzymanych w trakcie realizacji pracy w ostatnich podrozdziałach Pani Katarzyna Anna Salamon-Krokosz opisała zalety i aktywność biologiczną peptydomimetyków, skupiając uwagę czytelnika na pochodnych peptydowych, w których wiązanie amidowe zastąpiono fluorowinyłowym. W sposób interesujący przedstawiła w formie tabeli zastosowanie chiralnych kompleksów Ni(II) w stereoselektywnej syntezie fluorowych bioizosterów aminokwasów.

Podsumowując tę część dysertacji doktorskiej chciałabym, uzasadniając swoją rolę jako recenzenta, zwrócić uwagę, że nie bardzo znajduję uzasadnienie dla podrozdziału zatytułowanego Historia, w którym to Autorka w kilku zdaniach odnosi się do historycznego aspektu reakcji Hornera-Wadswortha-Emmonsa. Dodatkowo

mój niedosyt budzi lakonicznie potraktowanie reakcji Arbuzowa. Zawsze można polemizować, które zagadnienia warto opisać szerzej, a które potraktować bez zagłębiania się w szczegóły, ale przecież na tym polega dyskusja akademicka. Mam nadzieję, że podczas publicznej obrony te kwestie zostaną wyjaśnione. Nie podlegającym dyskusji natomiast pozostaje fakt błędnej numeracji związków w Tabeli 2 (strona 35). Otóż w tekście pracy znajdujemy odniesienia do tioamidowych i tioazolowych produktów reakcji Hornera-Wadswortha-Emmons'a o kolejnych numerach **33a-d** oraz **34a-d**, podczas gdy w Tabeli 2 te same fluorowinyłowe pochodne występują z numeracją **25a-d** i **26a-d**. Doktorantka w podrozdziale 2.2.2.1.3 na stronie 31 cytując publikację na temat syntezy makrocyclicznych Z-alkenów odsyła czytelnika do pracy autorstwa Stilla i Gennariego, której przypisała kolejny numer 39. Jednak w wykazie literatury pod numerem 39 znajdujemy publikację, którą napisali K. Ando i K. Sato, natomiast publikacji Stilla i Gennariego z 1983 roku nie udało mi się znaleźć.

W tym miejscu pragnę podkreślić, że publikacje na podstawie których Doktorantka zredagowała część literaturową dobrane są prawidłowo i dobrze wprowadzają w tematykę realizowanych badań.

W kolejnym rozdziale dysertacji zostały jasno sprecyzowane szczegółowe cele badań wpisanych w realizację pracy, którymi były:

- opracowanie efektywnej metody syntezy pochodnych aminokwasów zawierających w swej strukturze ugrupowanie fluorowinyłowe,
- optymalizacja warunków krystalizacji otrzymanych połączeń organicznych,
- zastosowanie obliczeń kwantowomechanicznych DFT, pozwalających na określenie uprzywilejowanych energetycznie mechanizmów procesu cyklizacji,
- synteza dwufunkcyjnych pochodnych fluorowinyłowych z grupą fosfonianową, jako peptydomimetyków,
- optymalizacja procesu otrzymywania fluorowinyłowych aminokwasów z wykorzystaniem chiralnego kompleksu Ni(II).

W części poświęconej omówieniu badań własnych została opisana pięcioetapowa metoda syntezy pochodnych fluorowinylowych pochodnych L, α -aminokwasów: fenyloalaniny, alaniny, waliny i leucyny. Pierwszy etap stanowiła, znana z doniesień literaturowych, reakcja estryfikacji czystych enancjomerycznie L, α -aminokwasów, w których następnie zabezpieczono grupę aminową przy zastosowaniu diwęglanu di-*tert*-butylu. Kolejnymi etapami były: redukcja estrów metylowych *N*-(*tert*-butoksykarbonylo)aminokwasów do odpowiednich aminoalkoholi i utlenianie aminoalkoholi chlorkiem oksalilu do *N*-(*tert*-butoksykarbonylo)aminoaldehydów. Ostatnim etapem zaproponowanego procesu była reakcja Hornera-Wadswortha-Emmonsa, do której dietylofosfonianowy synton Doktorantka otrzymała na drodze opisanej w literaturze reakcji Arbuzowa, a której warunki próbowała zmodyfikować stosując promieniowanie mikrofalowe oraz chloroanalog bromofluorooctanu etylu. W wyniku reakcji Hornera-Wadswortha-Emmonsa, której warunki optymalizowała pod kątem doboru zasady generującej karboanion dietylofosfonianowy oraz rodzaju rozpuszczalnika, zsyntezowała acykliczne fluorowinyłowe pochodne *N*-(*tert*-butoksykarbonylo)- fenyloalaninalu, alaninalu, walinalu i leucynalu oraz *N*-(*tert*-butoksykarbonylo)laktamowe pochodne w przypadku fenyloalaninalu, alaninalu i walinalu.

Ponieważ w wyniku przeprowadzonych reakcji Hornera-Wadswortha-Emmonsa zostały otrzymane fluorowinyłowe pochodne aminokwasów w postaci mieszanin racemicznych, Pani mgr Katarzyna Anna Salamon-Krokosz podjęła próbę modyfikacji procesu syntezy w celu otrzymywania czystych enancjomerycznie produktów.

Modyfikacja polegała na zmianie kolejności etapów w zaproponowanej strategii syntezy fluorowinylowych pochodnych aminokwasów, a mianowicie funkcjonalizację grupy aminowej do *N*-*tert*-butoksykarbonyłowej przeprowadzono dla aminoalkoholi, a nie dla estrów metylowych, jak to miało miejsce w pierwotnie zaprojektowanym procesie otrzymywania fluoroalkenylowych aminokwasów. Ponadto Autorka na podstawie analizy widm ^{19}F NMR, wykonanych w temperaturze pokojowej i w 60°C, a także w dwóch różnych deuterowanych rozpuszczalnikach chloroformie i dimetylosulfotlenku wyjaśniła zjawisko izomerii konformacyjnej *S*-*cis* i *S*-*trans* fluorowinylowych acyklicznych produktów reakcji Hornera-Wadswortha-Emmonsa.

Kolejny rozdział swojej pracy Pani mgr Katarzyna Anna Salamon-Krokosz poświęciła rozważaniom nad mechanizmem reakcji cyklizacji fluorowinylowej pochodnej fenyloalaniny, które prowadziła w oparciu o obliczenia kwantowomechaniczne DFT. Wyznaczono wartości energii dla siedmiu liniowych konformerów 3-(metoksykarbonylo)-3-fluoroallilokarbaminianu metylu, siedmiu liniowych konformerów iminolu i dwóch cyklicznych konformerów 3-(metoksykarbonylo)-3-fluoroallilokarbaminianu metylu oraz profile energetyczne dla czterech prawdopodobnych mechanizmów tworzenia pierścienia laktamowego.

W ostatniej części rozdziału zatytułowanego „Wyniki i dyskusja” zostały opisane podjęte próby syntezy peptydomimetyków zawierających w swej strukturze ugrupowanie fluorowinylowe z wykorzystaniem reakcji Shapiro oraz reakcji Hornera-Wadswortha-Emmonsa. W tej części Doktorantka zaproponowała strategię syntezy, z udziałem chiralnego kompleksu niklu(II), dwóch pochodnych fluoroaminokwasów zawierających w swej strukturze ugrupowanie *N*-(9H-fluoren-9-ylo)metoksykarbonylowe: trifluoroleucyny (Fmoc-Tf-Leu) i kwasu difluoroasparaginowego (Fmoc-Df-Asp-OAll), jako potencjalnych substratów do syntezy peptydów metodą SPPS. Należy podkreślić, że zbadano wpływ temperatury, rodzaju i ilości zastosowanej zasady, a także rodzaju i stężenia rozpuszczalnika na wydajność reakcji alkilowania kompleksu niklu(II), który otrzymano zgodnie z opisaną w literaturze trzyetapową procedurą. Sukcesem zakończyła się synteza i rozdział dwóch diastereoizomerów trifluoroleucyny z zabezpieczoną grupą aminową - Fmoc-Tf-Leu. Natomiast zaprojektowana trzyetapowa metoda otrzymywania difluoropochodnej kwasu asparaginowego (Fmoc-Df-Asp-OAll) zakończyła się na pierwszym etapie zsyntezowania kwasu α -difluoroasparaginowego (Df-Asp).

Przechodząc do uwag dotyczących tej części dysertacji, które wynikają z powierzonej mi roli recenzenta, pragnę zauważyć, że nie znajduję uzasadnienia dla ponownego zamieszczenia na Schemacie 40 w podrozdziale 4.1.6.1 reakcji Hornera-Wadswortha-Emmonsa, która została przedstawiona na stronie 36 na Schemacie 14. Konsekwencją tego faktu jest to, że ten sam dietylofosfonian na stronie 36 występuje z numerem **40**, a na stronie 66 jest oznaczony jako związek o kolejnym numerze **185**, natomiast *N*-(tert-butoksykarbonylo)fenyloalaninal ma numer **38** (strona 36) i **172** (strona 66), dodatkowo podwójną numerację przypisano fenylosulfonowemu produktowi **42**

(strona 36) i 186 (strona 66). Pozostając w temacie numeracji, w mojej opinii nie przypisanie kolejnych numerów związkom cytowanym w tekście pracy utrudnia jej lekturę.

W rozdziale 4.2 zatytułowanym „Struktury krystaliczne” zabrakło laktamowej pochodnej leucynalu 180. Pomimo, że w rozdziale 4.1.6.4 znalazło się uogólnione wyjaśnienie o podjętych wielu próbach krystalizacji, to zastanawiam się czy była też podjęta próba krystalizacji dyfuzyjnej i krystalizacji metodą sublimacji. W podrozdziale 4.3.1 poświęconym redukcji estrów metylowych Autorka skomentowała syntezę *N*-(tert-butoksykarbonylo)alaninolu, pisząc że został zastosowany w kolejnej reakcji bez oczyszczania. W związku z powyższym nasuwa się pytanie, czy pozostałe pochodne aminoalkoholi udało się wyizolować z mieszanin poreakcyjnych.

Uważam, że odpowiedniejszym miejscem do przedstawienia szczegółów opisu syntezy BBC (222) oraz reakcji BBC z allilobenzenem niż rozdział zatytułowany „Wyniki i dyskusja” jest rozdział 5.4 części eksperymentalnej.

Pomimo powyższych uwag, moim zdaniem opisane w tej części dysertacji badania charakteryzują się przemyślaną strategią postępowania.

W części eksperymentalnej Autorka pracy doktorskiej zmieściła dane dotyczące stosowanych odczynników chemicznych, opisy procedur przeprowadzonych syntez wraz z charakterystyką spektroskopową poszczególnych związków. W rozdziale tym zostały wymienione również metody, które zastosowała do określenia budowy otrzymanych związków oraz wykorzystana w tym celu aparatura. Część doświadczalną kończy zestaw widm ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^{19}F NMR oraz struktur krystalicznych.

Istotnym uzupełnieniem tematyki badawczej i prowadzonych podczas stażu na Uniwersytecie Freie w Berlinie we współpracy z zespołem Pani Profesor Beate Koksch prac naukowo-badawczych jest zamieszczony wykaz dorobku naukowego, na który składają się: trzy publikacje, dwie monografie oraz dziewięć wystąpień ustnych i prezentacji posterowych na konferencjach krajowych i międzynarodowych.

Całość pracy doktorskiej spina streszczenie w języku polskim i angielskim, zatem przedstawiona do recenzji dokumentacja jest kompletna, a jej układ nie budzi moich zastrzeżeń.

Oceniając wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej stwierdzam, że w mojej opinii, do najważniejszych osiągnięć naukowych Pani mgr Katarzyny Anny Salamon-Krokosz należy zaliczyć:

- zaprojektowanie strategii modyfikacji strukturalnych L, α -aminokwasów, w wyniku których zostały zsyntezowane tytułowe fluorowinyłowe pochodne aminokwasów, jako użyteczne reagenty do reakcji Hornera-Wadswortha-Emmonsa i potencjalne prekursory peptydomimetyków,
- zoptymalizowanie warunków prowadzenia procesu, takich jak: temperatura, czas reakcji, rodzaj zastosowanego rozpuszczalnika, czy rodzaj zasady generującej karboanion dietylofosfonianowy, a także zbadanie wpływu zasady na tworzenie pierścienia laktamowego,
- zaproponowanie mechanizmu cyklizacji aminokwasów zawierających w swej strukturze ugrupowanie fluorowinyłowe do odpowiednich pochodnych laktamowych, na podstawie obliczeń kwantowo-mechanicznych z wykorzystaniem metody bazującej na teorii funkcjonałów gęstości DFT,

Analizując cele sprecyzowane przez Doktorantkę oraz założone kierunki badań nie mam żadnych wątpliwości, że tematyka prowadzonych w ramach dysertacji doktorskiej badań jest ważna i ciekawa, a uzyskane wyniki, które w znacznej części zostały opublikowane, a zatem spotkały się z uznaniem w redakcji i opiniach recenzentów, niezaprzeczalnie mają wartość poznawczą i aplikacyjną dla obszaru syntezy organicznej i chemii medycznej.

Natomiast bogaty materiał eksperymentalny zaprezentowany w sposób przejrzysty z wykorzystaniem tabel, schematów, widm i analiz spektroskopowych: ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^{19}F NMR, MS i chromatograficznych z detekcją masową GC-MS, a także wyniki analiz krystalograficznych wykonane dla otrzymanych monokryształów, świadczą nie tylko o dużym nakładzie pracy, jaki Doktorantka włożyła w realizację założonych celów, ale również o Jej naukowej dojrzałości.

Reasumując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji dysertacja autorstwa Pani mgr Katarzyny Anny Salamon-Krokosz zatytułowana: „Synthesis and properties

of fluorinated amino acid derivatives” spełnia kryteria stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. W związku z powyższym z całym przekonaniem przedstawiam Radzie Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu wniosek o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Anny Salamon-Krokosz do dalszych etapów obrony pracy doktorskiej.

Φαβανη Γρωτζη