



Warszawa, 14 luty 2022

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

mgr Anna Szafranec

zatytułowanej

„Synteza i badania fizykochemiczne nowych pochodnych rezorc[4]arenu o zróżnicowanej architekturze molekularnej, równowagach konformacyjnych i chiralności”

Nowoczesna synteza organiczna jest bardzo dynamicznie rozwijającą się dziedziną nauk przyrodniczych w ramach, której nieustannie trwają prace nad opracowywaniem nowych metod syntezy związków organicznych oraz poznaniem ich właściwości fizykochemicznych. W ramach chemii organicznej można wyróżnić chemię supramolekularną, która wykracza znacznie poza obszar chemii organicznej, będąc jednak jej immanentnym działem. Badanie nad syntezą nowych receptorów molekularnych, poznanie ich właściwości oraz oddziaływań z innymi cząsteczkami organicznymi, nieorganicznymi oraz biomolekułami jest obszarem bardzo fascynującym a zarazem trudnym. Trudność ta wynika z faktu konieczności posiadania przez eksperymentatora szeregu kompetencji, które wykraczają poza obszar klasycznej chemii organicznej. I w tym nurcie badań znajduje się przesłana do recenzji dysertacja doktorska magister Anny Szafranec.

Jako główny cel swojej pracy mgr Anny Szafranec postanowiła zaprojektowanie oraz wykonanie syntez szeregu nowych, nieopisanych w literaturze pochodnych rezorc[4]arenów o zróżnicowanej architekturze molekularnej. Badania nad syntezą tych związków zamierzała uzupełnić o badania fizykochemiczne mające na celu poznanie ich struktury przestrzennej, chiralności oraz właściwościach spektroskopowych. Jako kluczową reakcję funkcjonalizacji rezorc[4]arenów zamierzała wykorzystać wysoką reaktywność *o*-chinometinowej pochodnej tegoż związku oraz jej reakcje z dwoma typami reagentów. Pierwszym z nich były miały być wybranymi dienofile a drugim CH-kwasy. Tak sformułowany cel dysertacji jest logiczną kontynuacją i rozwinięciem tematyki badawczej realizowanej w przez profesora Waldemara Iwanka, który jest promotorem wymienionej dysertacji. Promotorem pomocniczym dysertacji jest pani dr Monika Biłska-Markowska.

Dysertacja jest opracowaniem przygotowanym według nowych wytycznych i bazuje na publikacjach naukowych, które zostały przygotowane, jako wynik prowadzonych badań. Dlatego też w spisie treści znajdujemy krótkie rozdziały: „Wprowadzenie”, następnie „Cel i koncepcję badań”, po którym następuje rozdział „Badanie własne”. Jest to najdłuższa część pracy zawierająca 22 strony. Po tej części następują rozdziały: „Podsumowanie” i „Wykaz literatury” wymieniający 78 pozycji. Na końcu pracy znajdujemy przedruki czterech publikacji, które opisują uzyskane wyniki badań. Całość pracy została przygotowana



niezwykle starannie, schematy reakcji oraz struktury związków podane są bardzo czytelnie. W wersji elektronicznej pracy, na końcu, znajdujemy „Oświadczenia o udziale w publikacjach” współautorów, których nie ma w wersji papierowej przesłanej do recenzji dysertacji.

Za część literaturową dysertacji można uznać trzystronicowy rozdział „Wprowadzenie”, który w sposób niezwykle skrótowy podaje zadania chemii supramolekularnej. Autorka podaje ważne i proste układy nazywane „strukturami biomimetycznymi”, ale nie podaje żadnych informacji na ich temat. Omawia chemię oraz zastosowania rezorc[4]arenów, jako ważnej klasy związków supramolekularnych, w sposób lakoniczny, który pozostawia ogromny niedosyt u recenzenta.

Rozdział „Badania własne” rozpoczyna od opisanie wyników badań nad syntezą chiralnych chromano[4]arenów, które były uzyskane w reakcji cykloaddycji *o*-chinometinowej dwóch pochodnych rezorc[4]arenu oznaczonych jako **1a** i **1b** z sześcioma styrenami posiadającymi wybrane grupy funkcyjne w pozycji *para* pierścienia aromatycznego. Schemat reakcji, którym jest Rysunek 2, jest czytelny a uzyskane produkty i wydajności reakcji zostały zestawione w Tabeli 1. W opisie pod tą tabelą znajdujemy zdanie opisujące reakcję Dielsa – Aldera jako reakcję generującą „...dość złożoną mieszaninę regio- i stereoizomerów”. Ponieważ nie do końca rozumiem to stwierdzenie proszę o przygotowanie wyjaśnienia dotyczącego stereochemicznego przebiegu tejże reakcji na publiczną obronę dysertacji. Doktorantka trafnie zauważa, że uzyskuje mieszaniny produktów, których proporcje diastereoizomeryczne oznaczyła metodami NMR. Rysunek 3 pokazuje możliwe stereoizomery jednego z produktów reakcji, związku **3c**, który jest racemiczną mieszaniną diastereoizomerów. Analiza składu tegoż związku została dokonana metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej na kolumnie chiralnej z zastosowaniem detektora UV/VCD, co umożliwiła częściowe rozdzielenie uzyskanych stereoisomerów. W pracy znajdujemy również informacje dotyczące struktury krystalograficznej związku **3c**, którą jest umieszczona na Rysunku 5. Doktorantka zamieściła opis tych wyników, ale dołączone oświadczenia współautorów wskazują, że rozdział związku **3c** na stereoizomery, obliczenia niezbędne do wykonania analizy widm ECD, oraz oznaczenie jego struktury krystalograficznej nie były wykonane przez Doktorantkę. Nie umniejsza to jej wkładu w wykonane badania naukowe, ale powinno być wyraźnie zaznaczone w treści dysertacji.

Kolejny rozdział pracy zatytułowany „Synteza kumarynowej pochodnej rezorc[4]arenu o chiralności kontrolowanej rozpuszczalnikiem” pokazuje wyniki badań nad poszukiwaniem nowych dróg modyfikacji struktury rezorc[4]arenu prowadzącej do syntezy inherentnie chiralnych (*M*, *P*) pochodnych rezorc[4]arenów. Doktorantka lapidarnie omawia znane metody syntezy tej klasy związków na stronie 18 i pokazuje Schemat 4 przedstawiający sekwencyjną reakcję termolizy metoksybenzylowej pochodnej rezorc[4]arenu i następczej reakcji Michaela z 4-hydroksykumaryną. Synteza została wykonana w toluenie, kwasie octowym i dioksanie dając za każdym razem ten sam produkt z wydajnościami odpowiednio 85, 77 i 81%. Ustala strukturę produktu reakcji metodami spektroskopii NMR, HR-MS, ale nie wykonuje analizy elementarnej, która dałaby bezpośrednio odpowiedź na skład pierwiastkowy produktu reakcji. Pokazuje widmo ¹³C NMR produktu z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku, co nie jest zasadne biorąc pod uwagę błąd metody NMR. Analogiczny błąd popełnia podając wyniki analiz kolejnych związków umieszczonych w dysertacji oraz w publikacjach. Wyniki badań spektroskopowych uzupełnia o wyniki obliczeń kwantowo-mechanicznych oraz o pomiary spektroskopowe metodami UV-Vis oraz fluorescencji w roztworze. Stwierdza, na stronie 24, istnienie istotnych różnic w zarejestrowanych widmach substratu, którym była 4-hydroksykumaryną oraz uzyskanego produktu reakcji. Okazuje się, że widma te zależą od użytego rozpuszczalnika, co pokazuje dla chloroformu i DMSO. Obliczenia kwantowo-mechaniczne struktury i energii otrzymanego związku dają ciekawą informację dotyczącą uprzywilejowanej konformacji tego związku, która niezależnie od rozpuszczalnika jest konformacją krzesłową. Obliczone metodą DFT/B3LYP/6-31G struktury produktu w chloroformie i DMSO pokazane na Rysunku 7 dobrze pokazują wielkość wnęki



oraz jej charakter. Nie ma informacji, kto wykonał wspomniane obliczenia, chociaż można sądzić z załączonych oświadczeń, że nie była to osoba Doktorantki. Dodatkowo zostały dokonane próby oznaczenia charakteru oddziaływań uzyskanego związku z kwasem *D*-(+)-kamforosulfonowym oraz *S*-(-)-fenoetyloaminą w deuterowanym chloroformie, które by mogły by dać informacje opisujące naturę oddziaływań międzycząsteczkowych oraz chiralność uzyskanego produktu, ale nie zakończyły się one sukcesem.

W kolejnym etapie badań magister Szafraniec postanawia zająć się wpływem podstawnika na selektywność konformacyjną kumarynowych pochodnych rezorc[4]arenu. Przedstawia koncepcję selektywnego tworzenia sztywnych konformacyjnie pochodnych rezorc[4]arenu typu *crown-in* i omawia ją na przykładzie ogólnej struktury cyklochiralnych enancjomerów (*M*, *P*) pochodnych tegoż związku na Schemacie 6. Dokonuje syntezy związku modelowego **10** przeprowadzonej w sekwencji reakcji termolizy metoksymetylowej pochodnej resorcin[4]arenu i kolejnej addycji 1,4-Michaela produktu pośredniego do 4-aminokumaryny. Nie bardzo wiadomo, dlaczego zastosowano tylko jedną pochodną kumaryny do syntezy, ponieważ metoda wydaje się być ogólną. Metoda syntezy i sposób wydzielenia produktu był analogiczny jak w poprzedniej syntezie. Stwierdza, że uzyskany związek charakteryzuje się niską rozpuszczalnością w rozpuszczalnikach organicznych. Nie podejmuje wysiłków na uzyskaniem innych pochodnych, których rozpuszczalność była by wyższa. Metodami spektroskopii NMR analizuje strukturę uzyskanego związku i dodatkowo oblicza energii konformerów produktu typu *crown-in* oraz *crown-out* metodą DFT/B3LYP/6-311 w chloroformie. Wykazuje, że stabilniejszym konformerem w chloroformie jest konformer typu *crown-in*, co potwierdza dodatkowo widmami NMR ROESY. Ten fragment badań jest interesujący i pokazuje umiejętność doktorantki łączenia wyników obliczeń komputerowych z badaniami spektroskopowymi. Nie ma w dysertacji wzmianki, kto takie obliczenia wykonał, chociaż z Oświadczeń współautorów zamieszczonych na końcu dysertacji wynika, że nie była to osoba doktorantki. Pomiar widm UV-Vis i widm fluorescencji 4-aminokumaryny oraz uzyskanego związku **10** dały widma pokazane na Rysunku 14, które zostały poddane prostej analizie. Doktorantka stwierdza co prawda, że obserwuje nieznaczne zmiany w widmie absorpcji 4-aminokumarynowej pochodnej rezorc[4]arenu **10** po dodaniu metanolu ale nie pochyla się głębiej nad tym fenomenem. Widmo fluorescencji roztworu produktu **10** charakteryzowało się niewielką intensywnością fluorescencji w porównaniu do substratu, co interpretuje, jako bez promieniste rozpraszanie zaabsorbowanej energii poprzez tworzący się wewnątrzcząsteczkowy układ wiązań wodorowych. Sugestia dotycząca możliwości wykorzystania związku, **10** jako kontenera osłaniającego małe cząsteczki przed promieniowaniem UV oraz fluorescencją cząsteczki gospodarza jest ciekawa, ale zdaniem recenzenta, mało prawdopodobna.

Ostatnia część dysertacji doktorskiej magister Anny Szafraniec opisuje funkcjonalizację rezorc[4]arenu enaminonami, oraz badania spektroskopowe, analityczne, krystalograficzne oraz obliczenia kwantowo-mechaniczne uzyskanych produktów. Syntezę produktów doktorantka wykonała poprzez wykonanie sekwencji dwóch reakcji. Pierwsza reakcja pomiędzy diketonem (dimedonem oraz 1,3-cykloheksanodionem) a równomolową ilością aminy pierwszorzędowej prowadziła do otrzymania enaminonów, które zgodnie z Tabelą 2 zostały otrzymane z wydajnościami od 25 do 65%. Niestety, nie znalazłem w dysertacji innych informacji o tej syntezie oraz uzyskanych produktach. Druga reakcja termolizy metoksymetylowej pochodnej resorcin[4]arenu w obecności uzyskanego enaminonu w roztworze dioksanu prowadziła do uzyskania szeregu produktów o ogólnym wzorze **11** pokazanym na Schemacie 9 dysertacji. Niestety, tylko jeden z uzyskanych produktów a mianowicie pochodna dimedonu i benzyloaminy oznaczona, jako związek **11a**, został wyizolowany z mieszaniny poreakcyjnej i jego dane analityczne oraz spektroskopowe znajdujemy w dysertacji oraz w załączonej publikacji. Dane innych uzyskanych produktów nie są udostępnione, co doktorantka uzasadnia sposób niesatysfakcjonujący.



Uzyskany produkt **11a** dostał scharakteryzowany metodami spektroskopowymi takimi jak ^1H i ^{13}C NMR, spektroskopią masową oraz analizą krystalograficzną. Analiza krystalograficzna tego produktu reakcji wskazała, że jego kryształy wykazują symetrię C_2 , z dwiema naprzeciwległymi jednostkami enaminonu skierowanymi do środka wnęki i dwiema pozostałymi jednostkami na zewnątrz wnęki. Położenie ich („in/out”) jest określone przez kąty skręcania wokół wiązania $\text{C}=\text{CH}_2$. Analiza roztworów tego związku metodami NMR w deuterowanym chloroformie oraz DMSO wskazała, że związek ten w roztworze DMSO jest konformacyjnie labilny. Na stronie 40 dysertacji znajdujemy stwierdzenie „...selektywność tworzących się konformerów”. Nie jest jasne dla recenzenta, co magister Szafraniec miała na myśli.

Dysertację zamyka trzystronicowy rozdział Posumowanie, w którym znajdujemy kopie czterech publikacji naukowych, które zawierają wyniki przeprowadzonych badań. Doktorantka zrealizowała większość postawionych celów badań posiłkując się przy tym bardzo wyraźnie „wspomaganiem” przez inne osoby. Z obowiązku recenzenta muszę zapytać, kto rzeczywiście wykonał rozdzielanie mieszaniny diastereoizomerów związku **3c** na kolumnie chiralnej, dokonał analizy widm ECD, obliczył te widma oraz wykonał analizę rentgenostrukturalną uzyskanego związku. W tekście dysertacji opisane wyniki nie podają takiej informacji, chociaż Oświadczenia współautorów publikacji wskazują na ich znaczący udział w tym zakresie. Badania nad dynamiką konformacyjną kolejnej pochodnej rezorc[4]arenu pokazane na Schemacie 5 były wspierane obliczeniami kwantowo-mechanicznymi. Kto wykonał te obliczenia? Analogiczne pytania dotyczą kolejnych części opisanych wyników własnych.

Oceniając uzyskane przez Doktorantkę wyniki należy podkreślić ich wysoką wartość merytoryczną, czego dowodem jest fakt, iż stały się już przedmiotem czterech publikacji zamieszczonych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, Pracę nie czyta się łatwo. Strona edytorsko-redakcyjna rozprawy jest bardzo dobra. Opis większości przepisów preparatywnych jest precyzyjny i nie pozostawia wątpliwości. Jednak z obowiązku recenzenta oprócz wymienionych powyżej niedociągnięć, wymieniam jeszcze kilka:

1. Deskryptory konfiguracji powinny być zawsze pisane kursywą,
2. Opis widm ^{13}C NMR powinien być podany z dokładnością do jednego miejsca po przecinku jak w publikacji 1.1 a nie dwóch jak w pozostałych publikacjach,
3. Co to są „struktury biomimetyczne” wzmiankowane na stronie 5 dysertacji?
4. Co oznacza określenie „związkami wnękowe” podane na stronie 8, oraz „produkt przejściowy” podane na stronach 8, 12 i 13,
5. Zdanie na stronie 9; „określić diastereo selektywność reakcji cykloaddycji oraz względną ich proporcję w zależności od wielkości podstawnika” jest trudne do zrozumienia,
6. Rysunek 3 jest narysowany z błędem, który jest identyczny jak w publikacji 1.1,
7. Określenie ze strony 15 „...dwóch diastereoizomerów, każdy jako para enancjomerów”, należy poprawić na określenie „racemicznej pary diastereoizomerów”,
8. Co oznacza określenie „mimetykowanie enzymów” ze strony 27?

W każdym z etapów badań, doktorantka wydzielala produkty poszczególnych reakcji poprzez krystalizację i nie ustalała ich zawartości w mieszaninach poreakcyjnych. Fakt wydzielenia tylko jednego produktu z mieszaniny poreakcyjnej nie oznacza, że tylko on był tworzony w trakcie reakcji. Były to zawsze związki trudno rozpuszczalne, co ułatwiało ich wydzielenie, ale nie oznaczało, że tylko one były w tych reakcjach tworzone. Dodatkowa analiza takich mieszanin poreakcyjnych może dać bardzo ciekawe wyniki i dokładnie wyjaśnić opisywany fenomen.

Reasumując stwierdzam, że przyszło mi recenzować bardzo interesującą, dobrze zrealizowaną pracę doktorską. Wyniki badań stanowią podstawę czterech bardzo porządných publikacji. Oceniana praca spełnia więc wszystkie warunki, zarówno te ustawowe jak i zwyczajowe jakie wymagane są od prac doktorskich. Dlatego też wnoszę do Wysockiej Rady Wydziału Chemii UAM o dopuszczenie mgr Anny Szafraniec do dalszych etapów przewodu doktorskiego.