



Dr hab. Piotr Wałęjko
Wydział Chemii
Uniwersytet w Białymstoku
K. Ciołkowskiego 1K
15-245 Białystok, Polska
tel: +48 85 7388086
e-mail: pwalejko@uwb.edu.pl

Białystok, 29.03.2023 r.

Recenzja pracy doktorskiej magister Aleksandry Tracz
Węglowodany w syntezie oryginalnych bloków budulcowych

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Aleksandry Tracz „*Węglowodany w syntezie oryginalnych bloków budulcowych*” została wykonana w Katedrze Chemii Organicznej i Stosowanej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem dr hab. Anny Zawiszy, prof. UŁ.

W celu wyjaśnienia celowości swojej dysertacji Autorka po krótko nakreśliła problemy związane z terapeutycznym stosowaniem leków, zapobiegających atakom epileptycznym. Należy podkreślić, że epilepsja jest jednym z globalnych schorzeń neurologicznych dotyczącym ok. 50 milionów osób na świecie, przy czym u większości pacjentów przyczyny tego schorzenia jak na razie są dość mało poznane. Zgodnie ze sławami Autorki jednym z uznanych nowoczesnych leków przeciwpadaczkowych, który wprowadzono do użytku w 2008 roku jest (*R*)-Lakozamid (Rys.1 struktura b). Niestety, nie jest to lek „optymalny”. U około 30% pacjentów jest on nieskuteczny, a u ponad 40 % wywołuje dość silne efekty niepożądane. Mając powyższe na względzie, poszukiwanie oraz synteza nowych pochodnych, potencjalnie zdolnych do zapobiegania atakom epilepsji, jest celowym i sensownym działaniem, które w przyszłości może doprowadzić do znalezienia pochodnych użytecznych w terapii klinicznej. Wychodząc naprzeciw powyższym oczekiwaniom Autorka, jako jedną z możliwych dróg poszukiwania nowych, aktywnych biologicznie struktur, zaproponowała modyfikacje struktury (*R*)-Lakozamidu mającą na celu zastąpienie podstawnika benzyłowego (w funkcji amidowej), resztą cukrową pochodząca od D-glukozaminy. Zaproponowała również uzyskanie nowych, ciekawych pochodnych cukrowych (C-glikozydów), zawierających tzw. fragment „fenyloaminoetylosiarczkowy”. Chciałbym podkreślić, że Autorka w zaplanowanych syntezach z powodzeniem wykorzystwała doświadczenie i wiedzę

zdobyte przez Pracowników Katedry Chemii Organicznej i Stosowanej w zakresie syntezy chiralnych azirydyn oraz ich wykorzystania w syntezie asymetrycznej. Z uwagi na powyższe uważam, że zaproponowane przez Autorkę cele badawcze posiadają istotny element nowości oraz dobrze wpisują się w tematykę badawczą prowadzoną w Katedrze, a wybór tematu badań uważam za trafny i właściwy.

Praca została przygotowana w tradycyjnej formie i składa się z trzech głównych części: części literaturowej (60 stron, ilustrowanych 43 schematami i 6 tabelami), omówienia wyników badań własnych (31 stron, ilustrowanych 21 schematami, 6 tabelami i 3 rysunkami) oraz części eksperymentalnej, na którą składa się 48 stron tekstu. Rozprawę uzupełniają streszczenie w języku polskim i angielskim oraz lista stosowanych skrótów. W bibliografii cytowano 196 pozycji literaturowych, a większość przywołanych w odnośnikach prac oryginalnych została opublikowana pod koniec poprzedniego stulecia lub w XXI wieku, co potwierdza aktualność tematyki dysertacji. W sumie praca składa się 169 stron tekstu. Jeśli chodzi o stronę edytorską zdziwiło mnie dwukrotne podanie spisu cytowanej literatury. Raz w postaci przypisów dolnych oraz po raz drugi, jako oddzielnej części pracy „Bibliografia”. Bezsprzecznie ułatwiało mi to śledzenie cytowanej literatury, ale chyba nie jest ogólnie przyjętą praktyką? Pomimo tego uchybienia uważam, że praca pod względem edytorskim została przygotowana w sposób bardzo staranny. Ponadto na podkreślenie zasługuje bardzo przejrzysta forma prezentacji pracy, co jest bardzo przydatne z punktu widzenia recenzenta. Co do poprawności językowej, to pracę napisano poprawnym językiem, a ilość „literówek” i błędów językowych jest niewielka. Oczywiście Autorka nie ustrzegła się całkowicie tego typu błędów, lub niejednoznaczności językowych, co jest zrozumiałe przy przygotowywaniu tak obszernego tekstu. Z obowiązków wynikających z roli recenzenta przykłady takich uchybień umieściłem w końcowej części recenzji.

Przegląd literatury rozpoczyna zbiór podstawowych informacji, dotyczących objawów epilepsji oraz historii odkrycia i wprowadzenia do obrotu Lakozamidu – nowoczesnego leku przeciwdziałającego atakom epilepsji. Następnie omówione zostały znane w literaturze metody syntezy (*R*)-Lakozamidu. Z uwagi na dużą „efektywność syntetyczną” Autorka skupiła się na chiralnych metodach otrzymywania Lakozamidu z D- jak i L-seryny. Całość dopełnia rozdział 2.5 „Synteza i aktywność biologiczna pochodnych Lakozamidu”, w którym to zebrano dostępne dane literaturowe dotyczące aktywności biologicznej, opisanych w literaturze pochodnych. Autorka dość dobrze przedstawiła w formie tabelarycznej różnicę w strukturze znanych pochodnych Lakozamidu oraz zebrała dostępne informacje na temat ich aktywności. Moją szczególną uwagę zwróciły pochodne z podstawnikiem trifluorometylowym (-CF₃), które wykazywały wyższą aktywność w porównaniu do Lakozamidu. (Tabela 2.4). Uważam, że zebrane dane literaturowe mogą być

podstawą dobrego artykułu przeglądowego dotyczącego metod syntezy oraz aktywności biologicznej pochodnych (*R*)-Lakozamidu - do czego Autorkę namawiam. W dalszej części – podrozdział 2.6, „Reakcje nukleofilowego otwarcia pierścienia azirydynowego”, dość szeroko i szczegółowo opisane zostały znane metody otwarcia pierścienia azirydynowego, czemu poświęcono niemal 36 stron tekstu. Zostały tu opisane znane w literaturze chemicznej metody otwierania azirydyn, za pomocą nukleofili: węglowych (np. związki metaloorganiczne), tlenowych (np. alkohole), azotowych (np. aminy) oraz siarkowych - w szczególności stosowanych w pracy tioli.

Przedstawiony przegląd literaturowy należy uznać za bardzo wyczerpujący i wystarczający, a dzięki trafnie wyselekcjonowanym informacjom, w pełni spełnia swoją rolę i ułatwia czytelnikowi zrozumienie problemów związanych z syntezą lakozamidu oraz nukleofilowego otwarcia pierścienia azirydynowego. Z obowiązku recenzenta chciałbym jednak zamieścić pewne uwagi dotyczące tego fragmentu pracy.

Porównując treści zawarte w części teoretycznej pracy z wyzwaniem stojącymi przed Autorką w zakresie syntezy organicznej, odczuwam pewien niedosyt. Zadania syntetyczne przedstawione w badaniach własnych znacznie wybiegają ponad zagadnienia omówione w części teoretycznej. Uważam, że część teoretyczna powinna być poszerzona o informacje o pochodnych cukrowych stosowanych w pracy (np.: glikalach, aminocukrach). Zapewne doktorantka posiada w tym zakresie stosowną wiedzę, jakkolwiek dobrze by było, gdyby udokumentowała to w treści pracy. Pragnę zwrócić uwagę na bogatą literaturę poświęconych tym zagadnieniom np.; S. Hanessian, M. Dekker „*Preparative Carbohydrate Chemistry*” (New York 1997), G. J. Boons „*Carbohydrate Chemistry*” (Edinburg 1998) czy też R.V. Stick i S. J. Williams „*Carbohydrates: The Essential Molecules of Life*”. W odniesieniu do planowania zadań syntetycznych np.; syntezy amidów dobrą praktyką jest zapoznanie się na wstępie prac z opracowaniami takimi jak np.: A. R. Katritzky, R. J Taylor „*Comprehensive organic functional group transformations II*” (tom V, rozdział 5 – właściwości i metody syntezy amidów). Zastanawia mnie, dlaczego Autorka nie zdecydowała się na rozbudowanie części teoretycznej? Domniemam, że było to działanie celowe, mające na celu zachowanie odpowiedniej proporcji w układzie pracy?

Kolejny rozdział „Omówienie wyników badań własnych” Autorka rozpoczyna od opisu celowości otrzymywania pochodnych, zawierających motyw „aminoetylosiarczkowy”, podając przykłady struktur wykazujących aktywność biologiczną, a zawierających ten element struktury. Następnie stawia przed sobą zadanie polegające na otrzymaniu C-glikozydów z wspomnianym fragmentem aminoetylosiarczkowym. Chciałbym podkreślić, że jest to dość ambitne zadanie, zważywszy na zaproponowaną metodę syntezy – sprzęganie azirydyn z glikalami, które to sprzęganie według znanych doniesień literaturowych jest dość trudnym do przeprowadzenia

procesem. Należy podkreślić, że pomimo wstępnych niepowodzeń udało się z sukcesem przeprowadzić zaplanowane reakcje oraz zoptymalizować warunki ich przebiegu. W efekcie przeprowadzonych syntez z wydajnościami 40-65% uzyskano oczekiwane C-glikozydy (związki **3.21-3.24**). Następnie zbadano wpływ kationów magnezu na selektywność reakcji addycji reagentów metaloorganicznych do pochodnych azirydynowych. W efekcie przeprowadzonych prób wykazano, że proces chelatacji jest mało znaczącym czynnikiem w aspekcie stereoselektywnego przebiegu reakcji nukleofilowego otwarcia pierścienia azirydynowego. W kolejnym etapie pracy Autorka skupiła się na określeniu geometrii powstałych C-glikozydów **3.21-3.24** i pomimo trudności w ich rozdziale, wykazując się biegłością w wykorzystaniu do tego po celu danych z pomiarów NMR dokonała jednoznacznego określenia konfiguracji bezwzględnej na centrach stereogenicznych obecnych w analizowanych glikozydach. Ten etap prac syntetycznych zakończono przekształcając z powodzeniem uzyskane pochodne w układy zawierające fragment aminoetylosiarczkowy, w efekcie nukleofilowego otwarcia pierścienia azirydynowego za pomocą tiofenolu.

W dalszej części tego rozdziału opisano próby otrzymania cukrowych pochodnych Lakozamidu, podając na wstępie metodologię planowanych syntez oraz sposób otrzymania stosownych substratów: kwasu (S)-2-acetamido-3-metoksypropanowego, kwasu (S)-1-trityloazirydino-2-karboksyłowego, kwasu (S)-1-tosyloazirydino-2-karboksyłowego oraz odpowiednio blokowanej D-glukozaminy z wolną grupą aminową. Pomimo starań Autorka musiała się przyznać do niepowodzeń w odniesieniu do próby syntezy amidowych połączeń glukozaminy i kwasu (S)-2-acetamido-3-metoksypropanowego (rozdziale 3.2.2). Z własnego doświadczenia wiem, że zdawałoby się proste przekształcenia mogą nastroczać dużo problemów. Z obowiązków wynikających z roli recenzenta, chciałbym zwrócić uwagę, że według danych literaturowych amidowanie D-glukozaminy np.: aminokwasami zachodzi efektywnie wobec amin takich jak diizopropylodetyloamina (DIPEA, E. Sturabotti, *Molecules* 2023,28,581). W doborze warunków reakcji należy również wziąć pod uwagę trwałość wiązania O-glikozydowego w substracie cukrowym. Pomimo wstępnych niepowodzeń, finalnie próby amidowania D-glukozaminy zakończyły się sukcesem. Oczekiwane połączenie zostały otrzymane z dobrymi wydajnościami (41-66%) w reakcji 3,4,6-tri-O-acetylo-2-amino-2-dezoksy-β-D-glukozpiranozydu metylu z kwasami azirydino-2-karboksyłowymi, stosując układ sprzęgający EDC/HOBT. Następnie Autorka skupiła się na opracowaniu efektywnej metody otwarcia pierścienia azirydynowego w uzyskanych amidach **3.48-3.53**. W efekcie przeprowadzonych prac laboratoryjnych, zbadana została regioselektywność nukleofilowego otwarcia pierścienia azirydynowego, co w przejrzysty sposób zostało przedstawione

na Schemacie 3.21 oraz w Tabeli 3.5. Na uwagę zasługuje fakt, że wspomniany proces udało się przeprowadzić z pełną selektywnością (Tabela 5.1) i bardzo wysoką wydajnością nawet 95%.

Chciałbym podkreślić, że pomimo zdarzających się niepowodzeń Autorka była w stanie zaproponować alternatywne przekształcenia, które w efekcie prowadziły z dobrą selektywnością do uzyskania zakładanych na wstępie struktur: C-glikozydów z fragmentem „aminoetylosiarczkowym” oraz amidowych połączeń Lakozamidu z D-glukozaminą. Bezspornie zaprezentowane wyniki wskazują na dojrzałość i biegłość Autorki w zakresie syntezy organicznej, a pewne niedociągnięcia są rzeczą naturalną w złożonej syntezie organicznych.

W części eksperymentalnej Autorka w sposób szczegółowy i właściwy przedstawiła struktury syntetyzowanych związków, procedury ich otrzymywania oraz scharakteryzowała je w zadawalającym stopniu za pomocą danych fizycznych i spektroskopowych. Chciałbym jednak dodać, że podanie numeracji atomów węgla we wzorach pochodnych takich jak: **3.6 -3.9** czy **3.21 - 3.28** znacznie ułatwiłoby Recenzentowi pracę. Jednak błędy, które udało mi się dostrzec, nie wpływają na wartość merytoryczną pracy. Tekst czyta się dobrze, choć zdarzają się nieco zagmatwane fragmenty, wymagające chwili skupienia do pełnego zrozumienia toku myśli Autorki. Poniżej zamieściłem listę zaobserwowanych w pracy uchybień:

Na schemacie 3.2, str. 73 i dalszych, przedstawiających pochodne o konfiguracji wywodzącej się z D-glukozy i D-galaktozy przy atomie węgla C-4, konfiguracje zaznaczono stosując linię falistą, co sugeruje, że przedstawiony związek ma raczej nieokreśloną konfigurację na C-4, a przecież są to dwa oddzielne związki o określonej konfiguracji. Zapis jest szczególnie nieczytelny w przypadku związków przedstawionych na Schemacie 3.2. Uważam, że w takich przypadkach należy przy atomie węgla C-4 narysować dwa wiązania klinowe i dokładnie określić położenie grupy hydroksylowej w pochodnych **3.8** i **3.9**. Zastosowany zapis uważam za niefortunny.

Str. 79 i dalej w tekście pojawiają się kreślenia „wyższe pole”, „niższe pole” w odniesieniu do położenia sygnału na widmie NMR. Określenie to jest dość archaiczne i odnosi się do starego typu spektrometrów NMR, w którym próbkę omiatano zmiennym polem magnetycznym. Obecnie w odniesieniu do położenia sygnału na widmie NMR preferowane są określenia: odsłanianie lub ekranowanie.

Str. 79-81: stałe sprzężenia należy podawać w następujący sposób: w indeksie górnym (przed symbolem J) podajemy ilość wiązań, przez które obserwowane jest sprzężenie, natomiast za symbolem J (w indeksie dolnym) podajemy numery sprzęgających się protonów np.; ${}^3J_{H1-H2}$

Str. 81: „sygnały protonów z ugrupowania CHOH występowały, jako poszerzone singlety” to stwierdzenie jest dla mnie niejasne. O które grupy protonów chodzi?

Str. 10: stwierdzenie „w literaturze znane są nieliczne modyfikacje Lakoamidu” – uważam, że obszerność rozdziału 2.5 wskazuje na coś innego?

Str. 13: w moim odczuciu Autorka zbyt często stosuje określenie sprzężenie jakby zapominając, że jest to reakcja amidowania.

Str.19 i dalej: określenia „w pierwszym kroku” „w kolejnym kroku” uważam za niepotrzebne w odniesieniu do poszczególnych etapów syntez lub przekształceń.

Str. 13: „niezależnie od pory dnia czy zażywania posiłków” – chyba jest to przejęzyczenie?

Str. 72, schemat 3.1: Czy rzeczywiście jest to projekt syntezy pochodnych C-glikozydowych?

Str. 75: „aldehydem otrzymanym z diacetonu-D-glukozy” – właściwa nazwa to 1,2,5,6-diizopropylideno-D-glukofuranoza (tzw. diacetonid glukofuranozy).

Str. 78, tabela 3.1: brak wyjaśnienia procedura A procedura B

Str. 86: „natomiast sygnał protonu anomerycznego przy wyższych wartościach pola – 4,20” – uważam, że określenie wyższe zostało zastosowane niepoprawnie

Str. 83, schemat 3.11: Czy rzeczywiście jest to schemat przedstawiający „Projekt syntezy cukrowych pochodnych Lakoamidu”? Uważam, że jest to raczej próba analizy retrosyntetycznej. Ponadto na schemacie nie wyjaśniono skrótu Su.

Str. 90, rozdział 3.2.4: Błędnie podano numery związków jest **3.39** powinno być **3.45**. Podobnie jest **3.43-3.46** zamiast **3.48-3.51** tego samego typu błędy są na Schemacie **3.19**

Str. 97: jest „niezmiernie pomoce”

Str. 103: błędne sformułowanie - „wartości przesunięć chemicznych określono w cm^{-1} ”.

Chciałbym jeszcze raz podkreślić, że przedstawione uwagi nie wpływają na moją wysoką ocenę recenzowanej pracy. Recenzowana rozprawa udowadnia, że mgr Aleksandra Tracz posiadała umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych i krytycznej analizy wyników, a także szukania własnych rozwiązań problemów badawczych. Wyniki przedstawione w pracy niewątpliwie posiadają elementy nowości naukowej i zostały umieszczone w dwóch pracach. Jednej wydanej w *Molecules* (2022,27,1764) zawierającej wyniki badań nad regio- i stereoselektywnym otrzymywaniem C-glikozydów z fragmentem aminoetylosiarczkowym i drugiej wysłanej do recenzji, dotyczącej syntezy cukrowych analogów Lakoamidu. Należy podkreślić, że w obu pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. Ponadto jest jeszcze współautorką jednej publikacji dotyczącej diastereoselektywnej syntezy 2-winyli piperolidyny i piperidyny (*Arkivoc*,

2018(5), 254-271). Doktorantka prezentowała także rezultaty swoich badań na licznych konferencjach polskich i zagranicznych (ok. 12 wystąpień, w tym 9 związanych z tematyką przedstawionej dysertacji).

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca spełnia wszystkie wymagania zwyczajowe i wymogi obowiązującej ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym, a przedstawione uwagi nie wpływają na moją wysoką ocenę recenzowanej pracy. Z pełnym przekonaniem składam do Rady Dyscypliny Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego wniosek o dopuszczenie mgr Aleksandry Tracz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Rich Węteplko