

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Kamińskiej zatytułowanej  
„Synteza i zastosowanie chiralnych pochodnych amin zawierających szkielet 2-  
azabicykloalkanowy”**

W Zakładzie Chemii Organicznej Politechniki Wrocławskiej od ponad dekady badane są stereokontrolowane reakcje, w tym szczególnie użyteczna reakcja cykloaddycji aza-Dielsa-Aldera zachodząca między prostym cyklopentadieniem a różnymi chiralnymi iminami otrzymywanymi z aktywowanych aldehydów, zwłaszcza glioksalanu etylu oraz chiralnych amin. Reakcja ta prowadzi do otrzymania niezwykle atrakcyjnych bicyklicznych bloków budulcowych, to jest pochodnych 2-azabicyklo[2.2.1]-heptenu. Przekształcenia niektórych z tych pochodnych obejmujące reakcję Mitsunobu zachodzącą z następczym powiększeniem pierścienia pozwalają otrzymać bicykliczne pochodne zawierające układ azepanowy (2-azabicyklo[3.2.1]oktanu) i zostały po raz pierwszy zademonstrowane przez Promotora pracy dr hab. Elżbietę Wojaczyńską oraz Prof. Jacka Skarżewskiego. Piękno tych transformacji tkwi w ich prostocie i dostępności substratów do syntezy oraz efektywności a także w niezwykle atrakcyjnej architekturze ich chiralnych produktów. Są one bowiem względnie sztywne i przewidywalne konformacyjnie, posiadają azot w pierścieniu jako atom zasadowy i umożliwiające protonowanie czy koordynację oraz mogą być w łatwy sposób dekorowane dodatkowymi grupami funkcyjnymi. Takie układy odpowiadają kryteriom cząsteczek typu „drug-like” oraz względnie często spotykane są w licznych, biologicznie istotnych produktach naturalnych a także stanowić mogą dogodną platformę do konstrukcji organokatalizatorów lub ligandów do syntezy stereokontrolowanej. Ten obraz ich znaczenia we współczesnej chemii w pełni potwierdza praca przeglądowa w *Org. Biomol. Chem.*, której współautorem jest doktorantka i który zawiera 160 odnośników literaturowych.

Tematyka pracy doktorskiej wpisuje się w obszar chemii takich właśnie układów bicyklicznych i realizowana była w dwóch głównych nurtach:

- pierwszym „eksploratorskim” obejmującym syntezę nowych pochodnych układów 2-azabicyklo[2.2.1]-heptenu oraz 2-azabicyklo[3.2.1]oktanu o charakterze amin oraz amidów, sulfon- i sulfinamidów a także diselenidów
- drugim aplikacyjnym obejmującym kilka testów reakcji stereoselektywnych oraz testów aktywności przeciwnowotworowej otrzymanych i wybranych przez doktorantkę związków.

Już pobieżna lektura doktoratu wskazuje, że Pani mgr Karolina Kamińska nie tylko zrealizowała cele pracy ale także wraz z Promotorem zdążyła opublikować dużą część wyników. Współautorstwo sześciu prac naukowych (głównie w dedykowanym syntezie stereoselektywnej Tetrahedron: Asymmetry) oraz siedmiu polskich zgłoszeń patentowych wskazuje na niezwykle pracowitą i znakomitą organizację pracy kandydatki.

Praca Pani mgr Karoliny Kamińskiej mogłaby zatem stanowić zbiór publikacji z komentarzem, co byłoby w opinii recenzenta najbardziej naturalnym wyborem. Jednak doktorantka wybiera

klasyczną rozprawę doktorską i swoich prac nawet w formie załączników nie zamieszcza. Dość niespodziewanie dla czytelnika kandydatka także raczej unika podawania odnośników do własnych prac w tekście rozprawy. Lektura tejże daje spory niedosyt informacji i każe odwoływać się po niektóre dane do prac oryginalnych kandydatki. Dopiero wspólna lektura jednego i drugiego daje kompletny obraz doktoratu i pozwala na właściwą jego ocenę.

Z obowiązku recenzenta wynotuję, że doktorat zawiera się na 186 stronach tekstu i charakteryzuje się klasycznym i dobrze wyważonym ujęciem materiału, tzn. rozprawę otwiera dobrze zdefiniowany cel pracy, po czym następuje część literaturowa (obejmując 50 stron tekstu). Następnie przedstawiona jest najobszerniejsza część referująca badania własne oraz sprytnie ukryte w tekście i nie ujęte w spisie treści wnioski (str. 111) a) a po nich kończąca dzieło część eksperymentalna (łącznie 52 strony).

Część literaturową rozprawy otwiera ogólny rozdział dotyczący syntezy stereoselektywnej, który zawiera dyskusyjną tezę jakoby największą popularnością cieszyły się reakcje organokatalityczne. Podobnie, „nadmierne” jest stwierdzenie, że organokataliza „stała się wydajną i przyjazną dla środowiska drogą syntezy optycznie czynnych związków”. Z kolei stwierdzenie ze str. 26 „szybki rozwój organokatalizy pojawił się równocześnie z rozwojem chiralnej katalizy indukowanej tworzeniem się wiązań wodorowych” jest niejasne i błędne. Warto byłoby aby Kandydatka wytłumaczyła się ze wszystkich tych stwierdzeń.

Następnie Pani mgr Kamińska prowadzi czytelnika przez kolejne grupy chiralnych amin, amidów, sulfonamidów, sulfinamidów oraz diselenidów opisując krótko ich syntezy oraz zastosowania w katalizie i chemii medycznej. Zwraca uwagę szeroka znajomość tematu oraz liczne schematy ilustrujące wybrane syntezy bądź zastosowania chiralnych pochodnych z w/w klas wraz z dużą ilością odnośników do prac oryginalnych. Mimo tych walorów, w odbiorze tekst ten pozbawiony jest pewnej osi narracyjnej i jest nieco chaotyczny. Zamiast dość sztucznego podziału na klasy związków, lepszym rozwiązaniem byłoby skupienie się na dwóch eksplorowanych w pracy układach bicyklicznych, tak jak to świetnie opisane jest na przykład w rozdziale 2.8.1 doktoratu lub w cytowanym wyżej artykule przeglądowym.

W kolejnej części pracy tj. „badaniach własnych” Autorka definiuje cele syntetyczne i aplikacyjne pracy doktorskiej i kolejno je referuje. Plan syntez rozpoczyna się preparatyką alkoholi zawierających szkielet 2-azabicyklo[2.2.1]heptanu otrzymany wcześniej w reakcji aza-Dielsa-Aldera. Następnie alkohole te przekształcone są w odpowiednie aldehydy, które w reakcji iminowania za pomocą kilku mono- i diamin oraz następczej redukcji prowadzą do docelowych amin drugorzędowych – pierwszego celu syntetycznego doktoratu. Z bicyklicznego aldehydu otrzymana jest także odpowiednia pierwszorzędowa amina, z której w analogicznej sekwencji reakcji z tymże aldehydem otrzymana jest interesująca dimeryczna amina drugorzędowa zawierająca dwa fragmenty bicykliczne. Niektóre z otrzymanych amin wykazują niezły poziom aktywności antyproliferacyjnej a ten fragment doktoratu jest przedmiotem zgrabnej publikacji w Tetrahedron Asymmetry.

Kolejnym celem syntetycznym pracy są amidy zawierające zarówno układ 2-azabicyklo[2.2.1]heptanu jak i rozszerzony azepanowy (2-azabicyklo[3.2.1]oktanu). Ich synteza obejmowała syntezę odpowiednich amin pierwszorzędowych z odpowiednich bicyklicznych *N*-chronionych alkoholi bicyklicznych w krótkiej sekwencji logicznych przekształceń obejmujących reakcję Mitsunobu (rozbudowa pierścienia) lub klasyczną substytucję nukleofilową. Aminy te amidowano następnie w reakcji z chlorkiem benzoilu oraz *N*-BOC-proliną. W tym przypadku doktorantka z sukcesem „przetarła szlak” syntetyczny ale nie testuje otrzymanych związków. Warto tu rozważyć w przyszłości wykorzystanie innych chlorków lub kwasów karboksylowych zawierających dobry do koordynacji atom azotu (2-pikolinowy, układ 2,2'-bipirydyli itp.) celem uzyskania biblioteki potencjalnych, wielokleszczowych ligandów dla zastosowań syntezy asymetrycznej.

W kolejnym kroku z otrzymanych wyżej amin Doktorantka przygotowuje i charakteryzuje znacznie większą i strukturalnie różnorodną bibliotekę sulfonamidów obejmujących ponad 20 związków oraz dodatkowo kilka sulfonamidów o odwróconej strukturze (grupa sulfonamidowa przyłączona poprzez atom siarki do fragmentu bicyklicznego). Grupa sulfonamidowa jest częstym elementem strukturalnym leków toteż związki te przetestowane zostały pod kątem właściwości antyproliferacyjnych. W wyniku skringingu prowadzonego na 4 liniach komórek nowotworowych i jednej linii komórek zdrowych (kooperacja z Instytutem Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu oraz Uniwersytetem Medycznym w Wiedniu) zidentyfikowano kilka niezwykle aktywnych i selektywnych bicyklicznych pochodnych sulfonamidowych zawierających podstawnik bifenyłowy podstawiony w pozycji 4' grupą metoksyłową lub atomem fluoru. Synteza tych związków jest krótka i może być łatwo realizowana w dużej skali, co stanowi o ich dodatkowej atrakcyjności jako kandydatów na leki onkologiczne. W opinii recenzenta jest to w obszarze aplikacyjnym doktoratu najważniejsze odkrycie doktorantki. Szkoda, że zostało ono przedmiotem krajowych a nie zagranicznych zgłoszeń patentowych. Warto byłoby pilnie sprawdzić czy uzyskane w roku 2016 krajowe pierwszeństwa nie dają jeszcze szans na zgłoszenia zagraniczne.

Logicznym następstwem prac w obszarze chemii sulfonamidów było przejście do znacznie bardziej wymagających sulfinamidów, które posiadają centrum stereogeniczne na atomie siarki. Sulfinamidowe pochodne 2-azabicykloalkanów Doktorantka przygotowała w drodze modyfikacji metody opisanej przez Harmatę, polegającej na reakcji odpowiedniej aminy z chlorkiem tosyłu oraz trifenylofosfiną i KOH. Drobiazgowa optymalizacja procedury, eksperymenty modelowe oraz wymagająca analityka prowadzona przez mgr Kamińską pozwoliły na opracowanie generalnej procedury syntezy diastereomerycznych sulfinamidów z różnych chiralnych amin pierwszorzędowych z bardzo niewielką domieszką sulfonamidów. Dodatkowo doktorantka zademonstrowała ich rozdział na czyste diastereoizomery poprzez chromatografię kolumnową i krystalizację. Konfigurację nowo utworzonego centrum stereogenicznego w przypadku pochodnych 2-azabicyklo[3.2.1]oktanu udało się określić rentgenograficznie. Do tego celu wykorzystano także elektronowe widma dichroizmu kołowego wsparte obliczeniami DFT. W tym przypadku zgodność widm eksperymentalnych i

obliczonych nie jest zbyt dobra i mam wątpliwości co do prowadzonej metodologii (a nie odnalazłem jej szczegółów). Czy wykonano analizę konformacyjną związków i obliczono widma CD dla wszystkich najniższej energetycznych konformerów oraz uśredniono je odpowiednio do ich populacji? Ryzykowane może być także przypisywanie konfiguracji na atomie siarki w analogicznych sulfonamidach otrzymanych z 9-aminoalkaloidów chinowca poprzez porównanie ich widm CD z widmami układów 2-azabicyklicznych (w widmo pochodnych alkaloidów chinowca znaczący wkład wnosi chromofor chinolinowy a widmo jednego z epimerów ma charakter ekscytonowy). W tym przypadku raczej rekomendowałbym oddzielne obliczanie ich widm CD i porównanie z widmami zmierzonymi.

Ten fragment pracy obejmujący zarówno procedurę syntezy różnych chiralnych sulfonamidów, ich badania strukturalne oraz przykład wykorzystania w reakcji enancjoselektywnego otwarcia epoksydów stanowią kolejną publikację Doktorantki.

Diselenidy były ostatnim celem syntetycznym pracy doktorskiej, realizowanym we współpracy z Prof. Santiago z Perugii, gdzie Kandydatka odbyła krótki staż naukowy. W ramach tego zadania udało się otrzymać 7 nowych diselenidów zawierających chiralny podstawnik bicykliczny oraz pirolidynowy. W obszarze ich syntezy Doktoranta zaobserwowała i wyjaśniła m. in. w oparciu o obliczenia kwantowomechaniczne interesujący przebieg reakcji, tak w kontekście powiększenia pierścienia fragmentu bicyklicznego jak i w kontekście kontroli stereochemii syntezy odpowiednich halogenków pochodnych 2-azabicyklo[3.2.1]oktanu. Związki te zostały także gruntownie przebadane spektralnie a w przypadku niektórych produktów także rozwiązana została ich struktura. Wykorzystanie tych produktów w interesującej i dość egzotycznej enancjoselektywnej reakcji metoksylenyloowania styrenu (mimo braku spektakularnych wyników) jest świetnym uzupełnieniem tego wątku. Wyniki nowe, kompletne i elegancko zaprezentowane stanowią czwartą już publikację Doktorantki.

Cześć eksperymentalna rozprawy jest porządnie zorganizowana i kompletna, jej jakość była w większości poddana ocenie zewnętrznych recenzentów podczas publikowania wyników.

Pora na konkluzje: mgr Karolina Kamińska wykonała ambitny i zakończony sukcesem doktorat, który nie tylko, że mieścił się w obszarze żmudnej syntezy organicznej, której nie każdy potrafi sprostać ale obejmował także szereg wątków dodatkowych takich jak spektroskopia, analiza rentgenograficzna, testy biologiczne. Ogrom materiału wypracowanego w okresie czterech! lat oraz imponująca liczba opublikowanych już prac oryginalnych i zgłoszeń patentowych oraz aktywność konferencyjna wskazują na pracowitość, znakomitą organizację i talent. Nie omieszkam się dodać, że takie osiągnięcia niemożliwe byłby bez wzorowej współpracy z Promotorem a atmosfera grupy, której ton nadaje Prof. Wojaczyńska z pewnością sprzyja młodym adeptom nauki.

Na koniec tyżeczka dziegciu, lepiej czytało mi się publikacje niż doktorat Pani Kamińskiej, nie będę wylizwał mniejszych bądź większych usterek językowych (nie ma ich na szczęście za

wiele), dodam, że numeracja związków nie jest mocną stroną Doktorantki. Chyba zabrakło tu odrobiny czasu i ostatniej korekty.

Nie umniejsza to mojej wysokiej oceny dokonań Kandydatki, co więcej sam życzylbym sobie takich doktorantów we własnej grupie.

Stwierdzam zatem, że praca całkowicie spełnia wymogi ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65 poz. 595 wraz z późniejszymi zmianami) i z pełnym przekonaniem wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Kamińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Nadto za imponujący dorobek publikacyjny wnoszę o wyróżnienie rozprawy do Rady Wydziału Chemii PWr.



Dr hab. Karol Kacprzak, Prof. UAM

4.09.2018