

dr hab. n. farm. Andrzej Zięba, prof. SUM
 Katedra i Zakład Chemii Organicznej
 Wydział Nauk Farmaceutycznych
 Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Sosnowiec 04.09.2023

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani mgr inż. Olgi Drosik

pt. „*Badania reakcji α,β -nienasyconych związków karbonylowych z reagentami binukleofilowymi*”

wykonanej pod kierunkiem Pana dr hab. inż. Wojciecha Szczepankiewicza
 w Katedrze Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii
 Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej

Związki heterocykliczne stanowią niezwykle ważny element chemii organicznej a także chemii medycznej. Szczególną rolę odgrywają tutaj struktury pięcio oraz sześcioczłonowe zawierające w układach cyklicznych atomy azotu oraz tlenu.

Ze względu na budowę oraz właściwości chemiczne znajdują szerokie zastosowanie w syntezie oraz technologii chemicznej. Związki o takiej budowie są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie odgrywając kluczową rolę w funkcjonowaniu organizmów żywych, zarówno w świecie roślinnym jak i zwierzęcym.

Ważną grupę pięcioczłonowych związków heterocyklicznych stanowią izoksazole i ich nasycone pochodne. Związki o takiej budowie są m.in. interesującymi substratami w syntezie związków 1,3-bifunkcyjnych: laktonów, laktamów, 1,3-aminoalkoholi, pochodnych heterocyklicznych i innych. Poza zastosowaniem w syntezie chemicznej pochodne izoksazoli wykazują szereg cennych właściwości biologicznych (przeciwnowotworowych, przeciwwirusowych, przeciwgrzybiczych, przeciwzapalnych).

Dalsze badania nad metodami syntezy oraz strukturą nowych pochodnych izoksazoli są ważne i w pełni uzasadnione. Pomimo wielu lat badań nad reakcjami α,β -nienasyconych związków karbonylowych z hydroksyloaminą, istnieje szereg niejasności i wątpliwości dotyczących mechanizmu powstawania 2-izoksazolinu.

Opisano wiele propozycji mechanizmu tych reakcji, jednak nie zostały one poparte przekonującymi dowodami. Wątpliwości dotyczą m.in. produktu pośredniego, formy aktywnej nukleofilowo hydroksyloaminy oraz konieczności stosowania nadmiaru molowego hydroksyloaminy. Dodatkowe informacje mogące służyć pełnemu wyjaśnieniu mechanizmu

reakcji otrzymywania 2-izoksazolin (określenie produktów pośrednich) mogą mieć kluczowe znaczenie przy projektowaniu syntez nowych typów związków organicznych.

Wybór tematu pracy doktorskiej Pani mgr inż. Olgi Drosik " **Badania reakcji α,β -nienasyconych związków karbonylowych z reagentami binukleofilowymi**" jest w pełni uzasadniony, wpisując się w aktualne kierunki badań w tej dziedzinie. Praca ta, jest kontynuacją prowadzonych od wielu lat badań w Katedrze Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii nad reakcjami α,β -nienasyconych związków karbonylowych. Układ przedstawionej do recenzji rozprawy, jest typowy dla prac doktorskich o charakterze eksperymentalnym z klasycznym podziałem na rozdziały: wstęp literaturowy, część badawczą, omówienie badań własnych (dyskusję wyników) i wnioski oraz część eksperymentalną. Dysertacja liczy 224 strony, zawiera 83 schematy, 15 tabel oraz 3 ryciny.

W części teoretycznej Doktorantka zamieściła krótkie wprowadzenie, dotyczące stosowanej w literaturze nomenklatury układów oksazolowych oraz ich pochodnych. W dalszych podrozdziałach przedstawiła charakterystykę reagentów dwufunkcyjnych oraz reakcje różnych typów nienasyconych związków karbonylowych z hydroksyloaminą. Dokonała przeglądu danych literaturowych dotyczących cyklizacji oksymów, konformacji nasyconych pochodnych izoksazoli oraz zagadnień dotyczących badań nad mechanizmem powstawania pochodnych 2-izoksazolin oraz 5-hydroksyizokasazolidyn. Wstęp teoretyczny podsumowuje podrozdział dotyczący właściwości oraz zastosowań pochodnych izoksazoli. Część teoretyczna, ma odpowiednią wielkość w stosunku do pozostałych części dysertacji. Jest przeglądem aktualnego stanu wiedzy i zawiera wszystkie niezbędne i użyteczne informacje dotyczące prowadzonej w pracy tematyki badawczej. Przegląd poparty jest 246 pozycjami literaturowymi dobrze dobranymi i cytowanymi. Doktorantka cytuje najbardziej aktualne pozycje literaturowe jak i starsze co świadczy o dużej wiedzy oraz znajomości problemów naukowych związanych z podjętą tematyką badawczą. Należy podkreślić, że Doktorantka jest współautorem pracy przeglądowej dotyczącej 2-izoksazolin opublikowanej w roku 2017 w czasopiśmie *Current Organic Chemistry*.

Rozdział „Część badawcza” otwiera krótkie wprowadzenie, które uzasadnia wybór tematyki badawczej. Celem rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Olgi Drosik było podjęcie prób syntezy pochodnych 2-izoksazolin w reakcji enonów alifatyczno-aromatycznych z chlorowodorkiem hydroksyloaminy oraz zbadanie czy α,β -nienasycone oksymy są produktem przejściowym w syntezie 2-izoksazolin.

Podjętą tematykę badawczą Doktorantka postanowiła konsekwentnie realizować w dobrze zaplanowanym cyklu reakcji chemicznych, począwszy od syntezy substratów do dalszych przemian tj. α,β -nienasyconych ketonów alifatyczno-aromatycznych **1a-j**. Strukturę otrzymanych związków modyfikowała poprzez wprowadzenie od strony węgla karbonylowego podstawników alkilowych o różnej objętości: metylowego, izopropylowego oraz *t*-butylowego, natomiast od strony wiązania etylenowego wprowadzała różne typy podstawników aromatycznych oraz heteroaromatycznych.

Następnie przeprowadziła serię reakcji kondensacji enonów **1a-k** z hydroksyloaminą w różnych warunkach eksperymentalnych. Jako związek modelowy, w dalszych badaniach

wykorzystywała keton *t*-butylowo-styrylowy **1c**. Pierwszą przeprowadzoną grupą reakcji, były reakcje pozwalające na otrzymanie α,β -nienasyconych oksymów **2a-g**.

Jednym z założonych celów rozprawy, było sprawdzenie czy α,β -nienasycone oksymy **2** stanowią produkt pośredni w reakcjach enonów alifatyczno-aromatycznych **1** z hydroksyloaminą prowadzących do 2-izoksazolin **3**. Doktorantka przeprowadziła szereg dobrze zaplanowanych eksperymentów, prowadząc reakcje w środowisku zasadowym w różnych warunkach eksperymentalnych (także w warunkach w których zachodzi reakcja powstawania 2-izoksazolin). Wykazała, że α,β -nienasycone oksymy nie są produktami pośrednimi badanych reakcji. Z drugiej strony, z powodzeniem przeprowadziła reakcje cyklizacji oksymów **2** do 2-izoksazolin **3** w środowisku stężonego kwasu siarkowego.

Jest to niewątpliwie ważnym osiągnięciem Doktorantki. Jeden z założonych celów Jej pracy został przez to zrealizowany.

Kolejnym etapem pracy były badania nad reakcjami enonów alifatyczno-aromatycznych **1** z hydroksyloaminą. Przeprowadzono szereg reakcji w różnych warunkach eksperymentalnych. Analizowano wpływ na przebieg reakcji nadmiarów molowych reagentów, pH środowiska, stosowanej zasady oraz temperatury reakcji. Kierunek prowadzonych reakcji był zależny zarówno od temperatury jak i stosowanej zasady. Badania doprowadziły do opracowania metody syntezy dwóch typów pochodnych izoksazoli: 2-izoksazolin **3** oraz 5-hydroksyizoksazolidyn **4**. Związki te, zawierają podstawniki alifatyczne oraz aromatyczne w różnych pozycjach pięcioczłonowego układu heterocyklicznego. W pracy przedyskutowano wpływ podstawników na kierunek cyklizacji enonów **1**.

Doktorantka przeprowadziła próby rozdzielu złożonych mieszanin diastereoizomerycznych 5-hydroksyizoksazolidyn **4** metodami chromatograficznymi oraz ich analizy metodami spektroskopii ^1H oraz ^{13}C NMR. W analizie stosowano zaawansowane techniki dwuwymiarowe COSY oraz NOESY co świadczy o dużej wiedzy Doktorantki dotyczącej metod spektroskopowych.

Nasuwa się pytanie, czy rozważano wykonanie eksperymentów temperaturowych, powinno to znacznie uprościć widma i pozwolić na potwierdzenie poprawności wykonanej analizy. Czy analizowano skład mieszanin inną metodą niż NMR?

W kolejnym etapie pracy, Doktorantka przeprowadziła szereg interesujących dodatkowych reakcji 5-hydroksyizoksazolidyny **4c**, mających na celu potwierdzenie jej budowy oraz ocenę właściwości chemicznych. Ogrzewając izoksazolidynę **4c** z mieszniną metanol/woda otrzymano nowy izomer 2-izoksazolin **5** z układem podstawników w pozycjach 3 oraz 5 innym niż w przypadku wcześniej syntezowanych 2-izoksazolin **3**. Działając na 5-hydroksyizoksazolidynę **4c** kwasem trifluorooctowym otrzymała 4-izoksazolinę **7**. W celu rozdzielania mieszaniny diastereoizomerów związku **4c** przeprowadziła ich reakcje z chlorkiem tosyłu. Na podstawie widm ^1H oraz ^{13}C NMR stwierdziła, że produkt reakcji stanowi mieszanina izoksazoli **8**. Należy podkreślić, że potwierdziła w ten sposób możliwości wykorzystania 5-hydroksyizoksazolidyn **4** do syntezy nowych pochodnych izoksazoli, 2-izoksazolin oraz 4-izoksazolin. *Analiza mieszanin metodami NMR jest utrudniona, spektrometria MS z pewnością ułatwiłyby analizę strukturalną.* Przeprowadzając reakcję acetylowania bezwodnikiem octowym 5-hydroksy-2-izoksazolidyny **4c** potwierdziła jej hemiacetalową strukturę oraz występowanie w równowadze z formą liniową.

Interesującym elementem badań nad reakcjami enonów **1** z hydroksyloaminą był eksperyment z wykorzystaniem spektrofotometrii UV-Vis. W miarę postępu reakcji obserwowano trwały zanik układu chromoforowego pochodzącego od układu sprzężonych wiązań podwójnych, oraz brak jego odnowy.

Kolejnym, eksperymentem była reakcja enonu **1c** z zablokowaną na atomie tlenu pochodną hydroksyloaminy. Uzyskano bardzo interesujący wynik wskazujący, że po zablokowaniu atomu tlenu atak pochodnej hydroksyloaminy jako nukleofila azotowego zachodzi zarówno na atomie węgla w pozycji β , jak i na węglu karbonylowym.

W tym miejscu nasuwa się pytanie, czy brak możliwości identyfikacji 3-hydroksyizoksazolidyny (związku bardzo niestabilnego) jest wystarczającym argumentem dla jej wykluczenia jako produktu pośredniego w reakcji powstawania 2-izoksazolidyny?

W rozprawie przedstawiono szeroką dyskusję uzyskanych wyników, najbardziej prawdopodobnych mechanizmów przeprowadzonych reakcji, wpływu struktury substratów oraz warunków eksperymentalnych na kierunek reakcji oraz strukturę powstających produktów. Obszerna i rzeczowa dyskusja wyników świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki i dobrym opanowaniu warsztatu naukowego.

Rozprawę podsumowuje rozdział „Wnioski” w którym zawarto 7 wniosków oraz podsumowanie uzyskanych wyników. W opinii recenzenta, wnioski wynikające z rozprawy powinny mieć bardziej zwięzły charakter bez uzasadnień, które szeroko zostały przedyskutowane w rozdziale „Omówienie wyników”.

W ostatnim rozdziale recenzowanej Dysertacji Doktorantka zamieściła wybrane widma ^1H , ^{13}C NMR, widma 2D: COSY, NOESY oraz widma MS.

Wyniki analizy MS dla wszystkich nowych związków powinny zostać zamieszczone w Części Doświadczalnej przy charakterystyce związków.

Praca napisana jest jasnym i precyzyjnym językiem naukowym. Na uwagę zasługuje bardzo staranna szata graficzna.

Na podstawie wnikliwej analizy całości ocenianej dysertacji oraz z obowiązku recenzenta poniżej przedstawiam pewne zauważone nieścisłości, przykładowe pomyłki redakcyjne oraz językowe:

- Ułatwieniem dla oceny dysertacji byłoby zamieszczenie informacji, które związki są nowe, a które zostały już wcześniej opisane.
- Pozycja Lit 60, nie zamieszczono odpowiedniej literatury.
- Str. 36, Schemat 34: jest „ α,β -nienasyconych” powinno być „ β,γ -nienasyconych”
- Str. 40-41, Nr. związków na Schemacie 41 i w tekście są różne.
- Str. 44, Schemat 44: strzałka powinna wskazywać atak atomu azotu na węgiel karbonylowy.
- Str. 44, jest 3-exo-trig, powinno być 5-exo-trig
- Tryplet, pentet – to multiplety regularne o identycznych wszystkich stałych sprzężenia, jeżeli stałych jest więcej sygnały powinny być traktowane jako multiplet.
- Str. 81 powinno być „produkt jej addycji zarówno do węgla etylenowego jak i węgla karbonylowego”

Str. 84 Schemat 8, podpis - powinno być „w środowisku kwaśnym”

Str. 109-116 Nazwy związków 1 oraz 2 jest: „-4-en-2-one-„ powinno być „-4-en-3-one-„

Str. 112, Dla zw.1h, 2g nie zamieszczono wyników analizy spektroskopowej.

Chciałbym jednak podkreślić, że przedstawione przeze mnie pytania i powyższe uwagi mają jedynie charakter polemiczny i nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy. Stanowią one sugestie, które Doktorantka może wykorzystać w przyszłości przy planowaniu dalszych badań bądź też publikacji ich wyników.

Reasumując stwierdzam, że Pani mgr inż. Olga Drosik wykazała się dużą znajomością tematyki badawczej oraz umiejętnością interpretacji wyników przeprowadzonych badań. W swojej pracy zaprezentowała zróżnicowany warsztat metodyczny, zaś uzyskane wyniki są perspektywiczne w kontekście dalszych badań.

Autorka potwierdziła trafność i zasadność podjętej tematyki badań, a także swoje umiejętności w formułowaniu i rozwiązywaniu problemów badawczych. Tym samym potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Mając na uwadze powyższe oraz wysoką wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Olgi Drosik pt. „*Badania reakcji α,β -nienasyconych związków karbonylowych z reagentami binukleofilowymi*” wykonanej pod kierunkiem Pana dr hab. inż. Wojciecha Szczepankiewicza stwierdzam, że przedstawiona rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2023., poz. 742 ze zm.). Wnioskuje zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne, Politechniki Śląskiej w Gliwicach o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Andrzej Zioba