



Politechnika Wroclawska

Wydział Chemiczny

dr hab. inż. Elżbieta Wojaczyńska, prof. uczelni
Wydział Chemiczny Politechniki Wroclawskiej
Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50 370 Wrocław
tel. 71 320 2410
e-mail: elzbieta.wojaczynska@pwr.edu.pl

Wrocław, 29 maja 2022 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Potrząsaj
zatytułowanej „Kataliza witaminą B₁₂ - generowanie rodników alkilowych i acylowych”, wykonanej w
Instytucie Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie**

Struktura najbardziej złożonej ze wszystkich witamin, kobalaminy, przez wiele dziesiątek lat stanowiła zagadkę i dopiero połączony wysiłek kilku pokoleń badaczy przyniósł rozwiązanie – a im łącznie 5 nagród Nobla. Związek ten niezmiennie intryguje chemików swoją zdolnością do katalizowania różnorodnych przekształceń w organizmach żywych i inspirowanie do podejmowania kolejnych badań. Zespół kierowany przez promotora przedłożonej do recenzji pracy doktorskiej, prof. dr hab. Dorotę Gryko z Instytutu Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk ma już na swoim koncie szereg osiągnięć w obszarze zastosowań katalitycznych witaminy B₁₂. Rozprawa mgr Aleksandry Potrząsaj również wpisuje się w tę tematykę badawczą, koncentrując się na zagadnieniu metodologii generowania rodników alkilowych i acylowych z użyciem tego naturalnego katalizatora.

Praca stanowi spójny tematycznie zbiór trzech artykułów opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym (*European Journal of Organic Chemistry* 2020, *Journal of the American Chemical Society* 2021, *Organic Letters* 2022), poprzedzony liczącym 50 stron przewodnikiem. Prace mają charakter wieloautorski, mgr Aleksandra Potrząsaj w każdej z nich zajmuje pierwsze miejsce na liście autorów, co odzwierciedla jej kluczową rolę w opisanych badaniach. Potwierdzają to zamieszczone na końcu rozprawy oświadczenia współautorów, w tym promotorki oraz samej Doktorantki, w myśl których odpowiadała ona za wykonanie eksperymentów (większość syntez, optymalizacji warunków reakcji katalitycznych, analizy i interpretacja wyników), a także (w jakim stopniu?) współtworzyła koncepcję poszczególnych artykułów. Na tej podstawie można uznać, że mogą one stanowić podstawę rozprawy doktorskiej pani Potrząsaj.

Przewodnik rozpoczyna krótkie przedstawienie stanu badań w zakresie katalizy witaminą B₁₂ procesów przebiegających wg mechanizmu rodnikowego oraz określenie na tym tle celu pracy. Było nim opracowanie metody selektywnego, fotokatalitycznego otwarcia epoksydów zawierających podstawniki arylowe, poszerzenie grupy substratów stanowiących prekursory rodników oraz wykorzystanie tioestrów w reakcjach z udziałem rodników alkilowych i acylowych.

W części teoretycznej, stanowiącej około połowy objętości przewodnika Autorka wprowadza czytelnika w aktualne zagadnienia dotyczące zastosowania witaminy B₁₂ w roli uniwersalnego i „zielonego” katalizatora (słowo tym bardziej odpowiednie, że aktywna forma zawierająca Co(I) ma zieloną barwę). Przedstawia jej formy występujące w naturze oraz użyteczne produkty przekształceń. Kluczowe dla działania katalizacyjnego są postaci zredukowane, a z punktu widzenia prezentowanych badań szczególnie istotne są przemiany z udziałem jonu Co(I), określanego jako supernukleofil (Może warto byłoby wyjaśnić to pojęcie? Czym różni się od zwykłego nukleofila?). Nie zaszkodziłby w tym miejscu zapis konfiguracji jonów kobaltu w poszczególnych formach, schematy sugerują na przykład, że w Co⁺ elektrony są sparowane – czy tak jest w istocie? Dość szczegółowo przedstawia Doktorantka stań badań w dziedzinie katalizowanego przez witaminę B₁₂ generowania rodników alkilowych oraz nieliczne przykłady procesów, w których tworzą się rodniki acylowe. Część literaturowa napisana jest w sposób logiczny i kompetentny, pokazując bardzo dobrą orientację mgr Aleksandry Potrząsaj w realizowanej tematyce badawczej. Stanowi też dobre wprowadzenie do zasadniczej części przewodnika, zawierającej opis badań własnych.

Doktorantka przedstawia w niej trzy artykuły kierując się nie chronologią, a raczej logiką prezentacji: przechodzimy od generowania rodników alkilowych do tworzenia dodatkowo rodników acylowych. Zaskakujące jest, moim zdaniem, że o ile część teoretyczna jest znacznie rozbudowana w stosunku do tego, co można znaleźć w oryginalnych publikacjach, to opis badań własnych jest znacznie zredukowany, co łatwo stwierdzić, czytając załączone prace. Być może to zabieg celowy (bo artykuły są załączone, razem z obszernymi materiałami uzupełniającymi), ale trochę niebezpieczny: ograniczając lekturę do przewodnika, można nie docenić całokształtu wykonanej pracy.

Najważniejszym osiągnięciem zawartym w pierwszej z omawianych prac jest wykazanie, że dzięki zastosowaniu tworzącej zawadę steryczną witaminy B₁₂ możliwe jest regioselektywne otwarcie aryloepoksydów przebiegające z rozerwaniem wiązania O-C(3). Eksperymenty kontrolne, dodatkowo wsparte obliczeniami teoretycznymi, potwierdziły rolę katalizatora kobaltowego i mechanizm reakcji przebiegającej z generacją rodników. Po optymalizacji warunków (obejmującej wiele parametrów, w szczegółach opisanej w materiałach uzupełniających do publikacji) Autorka sprawdziła zakres stosowalności metody dla różnorodnych substratów. Nawiasem mówiąc, wśród produktów oprócz alkoholi drugorzędowych znalazły się też trzeciorzędowe **134** i **138**. W pracy oryginalnej naliczyłam 32 skutecznie otrzymane pochodne; znajdziemy tam też opis badań kinetycznych, świadczący na przykład o tym, że zaobserwowano tworzenie się biarylu jako produktu ubocznego.

Sukcesem zakończyło się rozszerzenie opisanej procedury na oksetany, przedstawione w drugiej publikacji. Wymagały one dodatkowej aktywacji kwasem Lewisa (optymalny okazał się bromek trimetylosililu). Reakcja z jodkami aryłowymi oraz z aktywowanymi alkenami pozwoliła otrzymać szereg alkoholi pierwszorzędowych (tylko część Autorka pokazała w przewodniku, w artykule w *Organic Letters* jest ich bodaj 46). I w tym przypadku dodatkowe eksperymenty mechanistyczne, badania kinetyczne oraz obliczenia DFT pozwoliły na zaproponowanie mechanizmu reakcji.

Trzecia zaprezentowana (chronologicznie pierwsza) publikacja koncentrowała się na wykorzystaniu tioestru jako źródła generowanych sekwencyjnie z wykorzystaniem witaminy B₁₂ rodników alkilowych i acylowych. Wymagało to zaprojektowania modelowego substratu (6-bromoheksano-tionian 5-pirydyn-2-ylu zaprezentowany w przewodniku został wyłoniony z szerszej grupy pochodnych, co pokazuje oryginalna praca). Optymalizacja warunków reakcji pozwoliła zwiększyć wydajność otrzymywania pożądanego produktu, a następnie przetestować procedurę dla większej grupy tioestrów i różnych akceptorów Michaela (łącznie otrzymanych 12 produktów). Ponownie mechanizm reakcji został wypracowany w oparciu o dodatkowe eksperymenty, w których zostały wykryte rodniki alkilowe i acylowe, badania kinetyczne czy też reakcje z deuterowanymi reagentami.

Przewodnik kończy spis cytowanego piśmiennictwa, liczący 83 pozycje. Większość artykułów pochodzi z XXI wieku, w tym znaczna część z ostatnich lat, chociaż nie brak też na liście klasycznych, starszych

prac. Kilka odnośników wymagałoby uzupełnienia (nr 17) oraz dość istotnych korekt, np. uzupełnienia nazwy czasopisma czy brakującej części tytułu – nr 20, 42 (!), 68, 69.

Schematy przekształceń i rysunki przedstawiające struktury cząsteczek są estetyczne, zwraca uwagę wykorzystanie koloru zwiększające ich czytelność. Zdarzyły się drobne uchybienia: w Schemacie 4 w trzeciej z form ligand aksjalny nie jest skoordynowany – czy tak miało być (inaczej jest w Schemacie 5)? Zapis podstawników związków **21**, **22**, **25**, **28**, **29** i **32** w Tabeli 1 wymagałby poprawy. Niektóre związki otrzymały kilka numerów, np. **37** jest tożsamy z **40**, **38** z **48**, a **43** z **44**. W Schemacie 39 forma **III** utraciła atomy chloru. W Schemacie 46 substrat i produkt różnią się wzajemnym położeniem grup R² i EWG, czy następuje przegrupowanie nieujęte w mechanizmie reakcji? W Schemacie 60 nie zawarto informacji o stosowanych podstawnikach R.

Język pracy jest precyzyjny, styl barwny, bogate słownictwo zasługuje na pozytywną ocenę. Użyte na stronie 15 wyrażenie „potencjał możliwości” jest pleonazmem, wystarczyłoby w zupełności jedno z tych słów. W drugiej części trzeciego zdania na stronie 18 brak orzeczenia („i tak cyjanokobalamina...”. Z obowiązku recenzenta wymieniam parę innych błędów, które dostrzegłam: „na przełomie ostatnich kilkudziesięciu lat” (str. 43), „z 4-jododotoluenem” (str. 45), „stężenie reakcji” (str. 50), „produkt **IV**, który w reakcji Co(I) acylokobalaminę **V**” (str. 55). W wielu zdaniach znalazłam też zbędne przecinki, postawiłabym je natomiast w innych miejscach (np. we fragmencie „Eksperymenty optymalizacyjne, wykazały że zastosowanie...” – przecinek powinien znaleźć się przed „że”, str. 29).

Poniżej zebrałam parę najistotniejszych pytań, jakie nasunęły mi się podczas lektury przewodnika i publikacji oryginalnych.

1. Stosowane w badaniach katalizatory, witamina B₁₂ i jej pochodne, są chiralne i dostępne w postaci czystej enancjomerycznie, co sugeruje, że mogłyby być źródłem indukcji asymetrycznej. W materiałach uzupełniających do publikacji **I** znalazłam eksperyment pokazujący, że racemiczny tlenek styrenu w reakcji z 4-jodotoluenem dawał produkt również w postaci racematu, a czysty enancjomer zachowywał swoją konfigurację, ponieważ zachodzi przy centrum stereogenicznym. Inaczej byłoby, gdyby rozerwaniu ulegało wiązanie przy atomie C2. Rozumiem, że w kolejnej pracy autorzy już nie przeprowadzali podobnych prób z oksetanami?

2. Model witaminy B₁₂ użyty w obliczeniach w pracy z *J. Am. Chem. Soc.* jest również chiralny. Oddziaływanie z chiralnym substratem prowadzące do stanu **TS1a** powinno dawać dwa diastereomery różniące się energią (z jonem Co^I po tej samej stronie płaszczyzny pierścienia epoksydu, co podstawnik fenyłowy oraz po przeciwnej). Czy wzięto to pod uwagę?

3. Nie znalazłam wyjaśnienia, dlaczego w reakcjach otwarcia oksetanów przy pomocy jodków arylowych stosowane było światło niebieskie, a z alkenami – światło białe. Czy Autorka mogłaby to skomentować?

4. W powyższej reakcji stosowany był 50% nadmiar jodku lub alkenu, zapewne jest to zoptymalizowana proporcja. Czy w przypadku innej stechiometrii udało się zidentyfikować dodatkowe produkty, np. dimery przedstawione Schematem 54 (nawiasem mówiąc, w ich przypadku powinna powstawać mieszanina diastereomerów)?

Wymienione wątpliwości i dostrzeżone uchybienia nie wpływają na ogólną bardzo pozytywną ocenę rozprawy. Mgr Aleksandra Potrząsaj w sposób istotny rozszerzyła zakres zastosowań katalitycznych witaminy B₁₂. O ogromie wykonanej pracy świadczy chociażby rozmiar materiałów uzupełniających do publikacji (kolejno 124, 117 i 48 stron, zapewne w znacznej mierze opracowanych przez Doktorantkę), zawierających opisy licznych eksperymentów optymalizacyjnych i mechanistycznych, wyniki obliczeń, pełną charakterystykę otrzymanych związków oraz kopie widm NMR. Doktorantka otrzymała i scharakteryzowała blisko 100 produktów reakcji katalitycznych, do tego trzeba doliczyć syntezy części substratów. Na szczególną uwagę zasługuje zaplanowanie i przeprowadzenie eksperymentów potwierdzających zaproponowane mechanizmy (cykle katalityczne). Rozprawa dowodzi świetnego opanowania procedur eksperymentalnych stosowanych

w chemii organicznej i katalizie oraz metod analitycznych , takich jak spektroskopia NMR czy spektrometria mas.

Mgr inż. Aleksandra Potrząsaj jest współautorką trzech publikacji składających się na rozprawę doktorską. Swoje osiągnięcia prezentowała na jednej konferencji naukowej w Niemczech (poster); wiadomo, że ze względu na pandemię możliwości w tym zakresie były ograniczone. Badania realizowała w ramach grantu Fundacji na rzecz Nauki Polskiej. Ogólna aktywność naukowa nie jest może imponująca pod względem ilościowym, ale jakość publikacji jest naprawdę wysoka.

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona rozprawa spełnia ustawowe i zwyczajowe wymagania stawiane pracom doktorskim i wnioskuję o dopuszczenie mgr. inż. Aleksandry Potrząsaj do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Handwritten signature in blue ink, reading "E. Wojcieszak".