

Prof. dr hab. inż. Janina E. Kamińska

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Kornelii Król

Rozprawa doktorska mgr inż. Kornelii Król zatytułowana „*Enancjo- i diastereoizomeryczne związki zapachowe otrzymywane z limonenu*” wykonana została w Instytucie Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Józefa Kuli prowadzącego się od wielu lat badania nad syntezą nowych substancji zapachowych, ich właściwościami sensorycznymi i zastosowaniami w przemyśle spożywczym i produkcji kosmetyków.

Doktorantka prezentuje w dysertacji wyniki prac eksperymentalnych nad wykorzystaniem obu enancjomerów terpenowego węglowodoru – (*R*)- i (*S*)-limonenu jako surowców do otrzymywania zarówno znanych jak i nowych substancji zapachowych o zdefiniowanej konfiguracji przestrzennej. Związki te mogą także pełnić rolę wartościowych bloków budulcowych do rekonstrukcji aktywnych biologicznie produktów naturalnych bądź wytwarzania analogów o bardziej złożonej strukturze.

W nowoczesnej syntezie organicznej poczesne miejsce zajmują metody wytwarzania substancji chiralnych o zdefiniowanej konfiguracji przestrzennej. Wynika to z faktu, iż stereoisomery zwykle wykazują zróżnicowaną czynność biologiczną, bowiem jest ona rezultatem oddziaływania z chiralnymi receptorami białkowymi obecnymi w żywych organizmach. Zróżnicowanie aktywności stereoisomerów może dotyczyć ich efektu farmakologicznego, toksyczności, smaku, zapachu, działania owadobójczego czy pestycydowego. Potrzeby przemysłu farmaceutycznego zapoczątkowały intensywny rozwój metod syntezy asymetrycznej oraz technik rozdzielania i analizy stereoisomerów. Obecnie także dla substancji zapachowych oraz agrochemikaliów (takich jak insektycydy, pestycydy) stosowanych dotąd jako mieszaniny stereoisomerów, dla określenia korelacji pomiędzy budową substancji a czynnością biologiczną prowadzi się badania aktywności indywidualnych stereoisomerów. Perspektywnym celem tych badań jest zastosowanie

w przyszłości stereoisomerów wykazujących najwyższą aktywność, bowiem ich wyższą cenę może skompensować znacznie mniejsza dawka konieczna do uzyskania określonego efektu, a także względy ekologiczne.

Jedną ze strategii stosowanych w syntezie związków chiralnych jest wykorzystanie jako substratów substancji o znanej konfiguracji przestrzennej, izolowanych ze źródeł naturalnych bądź produkowanych metodami biotechnologicznymi. Do takich dostępnych dziś chiralnych substratów zaliczyć można wszystkie białkowe aminokwasy, proste cukry, a wśród związków lotnych liczne terpeny: limonen, karwon, mentol. Niektóre z tych surowców pozyskuje się z odnawialnych źródeł np. poprzez izolowanie z odpadów przemysłu spożywczego (skórki owoców cytrusowych), co ma tę zaletę, że mniej jest obciążane środowisko naturalne. Liczba związków oferowanych jako pojedyncze stereoisomery o określonej konfiguracji stale wzrasta, gdyż nowe bloki budulcowe otrzymuje się także poprzez efektywną syntezę z już dostępnych. Recenzowana praca doktorska mgr inż. Kornelii Król wpisuje się w te kierunki badań, toteż jej tematykę należy uznać za jak najbardziej aktualną.

Rozprawa Pani Kornelii Król liczy 155 stron, w tym 45 stron stanowi przegląd literatury, 51 stron – badania własne, 9 stron – podsumowanie i wnioski, 35 stron - część eksperymentalna oraz 10 stron – wykaz cytowanej literatury obejmujący 170 pozycji. W rzeczywistości stron jest więcej gdyż po stronie tytułowej Autorka zamieściła spis treści oraz listę podpisów pod rysunkami i tabelami na stronach, które nie są numerowane. Spis treści jest konieczny, natomiast wykaz rysunków i tabel w moim odczuciu jest zbędny. Rysunki i tabele mają podpisy w tekście i umieszczone są tam, gdzie Doktorantka je omawia.

Zanim przejdę do oceny poszczególnych części pracy chciałabym przekazać Autorce kilka uwag natury ogólnej, które mam nadzieję pozwolą jej poprawić w przyszłości umiejętność pisemnej prezentacji wyników badań. A więc należy:

- stosować konsekwentnie jedną formę narracji (osoba i czas)
- każde zagadnienie omówić raz wyczerpująco i nie powtarzać wielokrotnie
- stosować jeden sposób zapisu wzorów strukturalnych i jeden system nazewnictwa
- używać precyzyjnych określeń zamiast eufemizmów (chemia należy do nauk ścisłych)

- określać parametry i właściwości obiektywnie, nie wartościując jako lepsze czy gorsze
- przygotować wykaz znaczeń dla stosowanych skrótów
- zadbać o jednolity sposób zapisu cytowanej literatury
- krytycznie sprawdzić przygotowany manuskrypt zarówno pod względem merytorycznym jak edytorskim.

Układ rozprawy jest typowy dla pracy z obszaru syntezy organicznej. Przegląd literatury Doktorantka podzieliła na trzy części, w których omówiła:

- występowanie, właściwości i zastosowania limonenu
- występowanie, właściwości, metody syntezy i zastosowania lawandulolu
- wybrane grupy substancji zapachowych, przykłady syntez pojedynczych stereoizomerów i ich charakterystyki zapachowe

Wybór zagadnień zaprezentowanych w części literaturowej uważam za trafny. Autorka wykorzystała w nim ponad 140 aktualnych publikacji źródłowych dotyczących syntezy i właściwości biologicznych stereoizomerów. Szkoda jedynie, że przytoczone informacje czasem są zbyt ogólnikowe, innym razem zawierają nieistotne szczegóły. W tej części pracy sporo jest błędnych zapisów konfiguracji centrów stereogenicznych we wzorach przestrzennych (np. związki **41**, **42**, **47**, **48**, **49**, **52**) oraz błędnych nazw (np. nazwa związku **76** na str.26) lub niepoprawnych wzorów (związki **80** i **81** na str.29 nie są metylomaślanami lawandulilu, związek **96** na str.35 nie jest bezwodnikiem bursztynowym, związek **120** na str.47 jest γ -, nie δ -laktonem). Brakuje także pokazania numeracji atomów szkieletu węglowego w strukturach wielopierścieniowych (np. **76**) lub wielofunkcyjnych (np. **117**, **118**). Stereochemia związków organicznych jest trudnym obszarem chemii, toteż podobne błędy zdarzają się nawet w publikacjach pojawiających się w renomowanych czasopismach.

Natomiast półstronicowy podrozdział **3.7** zatytułowany „Stereoizomeria a zapach” jest tak powierzchowny, że mogę przypuszczać iż Doktorantka nie zapoznała się z licznymi pracami przeglądowymi na ten temat, które ukazywały się w ostatnich kilkunastu latach w *Angewandte Chemie* czy *Tetrahedron*, co z punktu widzenia celu i zakresu badań pozwoliłoby na istotne pogłębienie wiedzy w tej dziedzinie.

Podstawowy materiał pracy doktorskiej mgr inż. Kornelii Król zaprezentowany został w rozdziale „Badania własne”. Poprzez ozonolizę każdego z enancjomerów limonenu Doktorantka otrzymała acykliczne nienasycone ketoaldehydy, które posłużyły jako surowce do syntezy obu enancjomerów lawandulolu, homolawandulolu, dihydro- i tetrahydrolawandulolu, homologów lawandulolu o dwunastu atomach węgla z drugorzędową grupą hydroksylową (i drugim centrum stereogenicznym) oraz alkoholi drugorzędowych zawierających dwupodstawiony pierścień cyklopentenowy (także dwa centra stereogeniczne). Większość zaplanowanych sekwencji syntetycznych Pani Król zrealizowała z powodzeniem uzyskując kilkadziesiąt nowych połączeń o zdefiniowanej konfiguracji przestrzennej. Dla osiągnięcia celu zastosowała nie tylko klasyczne przekształcenia chemiczne (redukcja, utlenianie, dehydratacja, wodoroliza, acetylowanie), ale także utlenianie mikrobiologiczne oraz enzymatyczny rozdział enancjomerów. Oznaczenie czystości (metodą chromatografii gazowej) oraz identyfikacja produktów przeprowadzona w oparciu o protonowy i węglowy rezonans magnetyczny, spektroskopię w podczerwieni oraz spektrometrię mas nie budzi wątpliwości. Ponadto Doktorantka zastosowała różnorodne techniki chromatograficzne, dzięki czemu rozdzieliła zarówno diastereomery jak i izomery konstytucyjne różniące się położeniem podwójnego wiązania w łańcuchu węglowym. Uporała się także z oznaczeniem konfiguracji absolutnej nowopowstałego centrum stereogenicznego poprzez analizę NMR estrów Moshera i reakcję enzymatycznego acetylowania w obecności lipazy. Oprócz oznaczenia właściwości fizycznych otrzymanych produktów Pani Król określiła ich charakterystyki zapachowe, co było jednym z celów badań. Lektura omawianego rozdziału dysertacji oraz „Części eksperymentalnej” upewniła mnie w przekonaniu, że Doktorantka opanowała warsztat badawczy chemika syntetyka.

Natomiast rozdział V zawierający podsumowanie i wnioski jest zbyt długi, zbyt szczegółowy i nie wskazuje najważniejszych osiągnięć Autorki. Porównanie właściwości zapachowych enancjomerów i diastereomerów, które Doktorantka zaprezentowała w formie dwóch tabel na końcu podsumowania powinno się znaleźć w „Badaniach własnych” wraz z dyskusją odnoszącą się do podobnych badań opisanych w literaturze. Wątpliwości budzą też wnioski sformułowane przez Doktorantkę – niektóre są oczywiste (to, że homolawandulol ma odmienny zapach od lawandulolu i jest mniej lotny), inne tak sformułowane, że nie bardzo wiadomo, co

Autorka miała na myśli (brak wpływu konfiguracji centrum stereogenicznego w alkoholach **160** i **163** na preferencję lipazy CAL-B?).

Szkoda, że praca napisana jest ubogim i nieprecyzyjnym językiem, który określiłabym raczej jako „żargon laboratoryjny” i zawiera mnóstwo błędów literowych, gramatycznych i stylistycznych. Widocznie Autorce zabrakło już sił i cierpliwości na staranną korektę edytorską. Tych błędów nie będę wymieniać natomiast chciałabym przekazać kilka uwag merytorycznych z prośbą o ustosunkowanie się do nich podczas publicznej obrony.

1. Przedrostki *endo* i *egzo* stosuje się do określenia położenia wiązań podwójnych C=C względem pierścienia, ale nie do wiązań wewnątrz łańcucha węglowego lub na jego końcu.
2. W proponowanych przez Panią mechanizmach powstawania produktów cyklicznych (str. 64 oraz str. 79) atomy węgla wiązania podwójnego C=C są spolaryzowane – jeden dodatnio, drugi ujemnie – proszę o uzasadnienie.
3. Czy lipaza Novozym® 435 zawsze szybciej acetyluje enancjomer (*R*)-alkoholu drugorzędowego?
4. Na str. 89 pisze Pani o stereoizomerach *treo*- i *erytro*-. Kiedy się stosuje te przedrostki i co one oznaczają?
5. Alkohole drugorzędowe zawierające pierścień cyklopentenowy nie są alkoholami cyklicznymi gdyż grupa hydroksylowa nie jest związana z atomem węgla pierścienia, lecz z atomem węgla podstawnika alkilowego.
6. W części doświadczalnej podaje Pani nadmiar enancjomeryczny wyjściowego (*R*)-limonenu, natomiast brakuje tego parametru dla (*S*)-limonenu.
7. W pracy nie ma żadnej informacji o tym jak przeprowadzono ocenę sensoryczną otrzymanych produktów.
8. W części doświadczalnej podaje Pani wartości przesunięć chemicznych w analizach NMR do trzeciego miejsca po przecinku – czy taka jest dokładność tych wartości?
9. Przy opisach w części doświadczalnej dla wielu związków nie podano danych NMR (np. związki **134**, **138**, **139**, **139'**, **144**, **145**, **153**, ester Moshera alkoholu

153). Czy oznacza to, że analizy te były zgodne z danymi literaturowymi, czy też nie wykonano tych analiz?

Efektom pracy badawczej mgr inż. Kornelii Król jest opracowanie metod syntezy kilkudziesięciu nowych substancji o zdefiniowanej budowie przestrzennej z obu enancjomerów limonenu oraz charakterystyka ich właściwości jako odorantów. Warto zaznaczyć, że otrzymane przez Doktorantkę związki mogą także znaleźć zastosowanie jako chiralne substraty do rekonstrukcji aktywnych biologicznie produktów naturalnych lub ich analogów. Obserwacje Autorki rozprawy, także te uzyskane w eksperymentach, które się nie powiodły wzbogacają wiedzę o reaktywności chemicznej wielofunkcyjnych terpenoidów.

Podsumowując ocenę pracy doktorskiej mgr inż. Kornelii Król pragnę podkreślić pozytywną ocenę wartości merytorycznej całości rozprawy, która w mojej opinii spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim przez ustawę o tytułach i stopniach naukowych. Intencją uwag krytycznych było wskazanie Autorce jak udoskonalić warsztat pisarski, który jest równie ważny jak umiejętności badawcze.

Z pełnym przekonaniem wnioskuję zatem do Rady Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej o dopuszczenie mgr inż. Kornelii Król do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. inż. Janina E. Kamińska

