



prof. dr hab. Zbigniew Czarnocki
Uniwersytet Warszawski
Wydział Chemii

Warszawa, 9 maja 2016

Recenzja
pracy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Klich, zatytułowanej „Funkcjonalizacja
aglikonu Spiramycyny przez zastosowanie regio- i stereoselektywnych reakcji
kaskadowych”

Przedłożona do recenzji praca doktorska mgr Katarzyny Klich zrealizowana została w Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, pod kierunkiem naukowym prof. UAM dr hab. Piotra Przybylskiego. W przewodzie doktorskim funkcję promotora pomocniczego pełnił Dr Krystian Pyta.

Zarówno wysoka ranga naukowa ośrodka akademickiego, w którym wykonywana była praca, jak i doświadczenie promotorów w chemii związków bioorganicznych pozwalają oczekiwać dobrej jakości wyników zaprezentowanych w dysertacji, co istotnie znajduje swe potwierdzenie po bliższym zapoznaniu się z rozprawą.

Dotyczy ona interesujących zagadnień modyfikacji syntetycznych aglikonu spiramycyny, analizie spektroskopowej otrzymanych pochodnych i oceny ich aktywności biologicznej. Z uwagi na fakt, że antybiotyki makrolidowe w organizmie ludzkim wykazują bardzo złożoną i wielokierunkową aktywność, w istotny sposób zależną od z pozoru drobnych modyfikacji strukturalnych, konstrukcja nowych pochodnych w celu testowania ich aktywności może okazać się nie tylko ciekawym wyzwaniem naukowym, ale też stanowić ona może punkt wyjścia do dalszych badań farmakologicznych. W tym kontekście istotnego znaczenia nabiera fakt pełnej kontroli nad budową, a co więcej stereochemią otrzymywanych pochodnych, co przy utrudnionym zastosowaniu rentgenowskiej analizy strukturalnej, stanowi poważne wyzwanie badawcze, któremu, w mojej opinii, Doktorantka doskonale sobie poradziła.

Recenzowanej rozprawie nadany został klasyczny układ treści. W kilkunastu-wydziałowym Wstępie zarysowano bardzo lapidarnie kwestię antybiotyków makrolidowych, w tym w

szczególności grupę spiramycyn. Ze względu na wiodącą tematykę rozprawy, szczególny nacisk położony został na kwestię syntezy całkowitej zarówno samej spiramycyny, jak i związków pokrewnych. Bardzo szczegółowo opisano kluczowe strategie i taktyki wiodących syntez totalnych zrealizowanych w ostatnim dziesięcioleciu. Nie zostały pominięte nawet drobiazgowo dane eksperymentalne dotyczące poszczególnych etapów syntez. Wydaje się jednak, że ich przytoczenie ma swe uzasadnienie w ogólnej koncepcji pracy, która wszak w istotny sposób odnosi się do kwestii syntetycznych.

Opis syntez totalnych ugrupowań aglikonowych rozszerzony został o dostępne, aktualne wyniki badań nad ich biosyntezą, co niewątpliwie bardzo wzbogaca opis, albowiem odkrycia szlaków biosyntetycznych stanowią dla badaczy zajmujących się syntezą organiczną niejednokrotnie bezcenną inspirację, tym bardziej, że obejmującą także zagadnienia glikozydacji fragmentów cukrowych.

Istotnym uzupełnieniem rozważań wstępnych jest dyskusja nad supramolekularnym mechanizmem oddziaływania jednostki makrolidowej z tunelem rybosomalnym odpowiedniej podjednostki receptora. Stąd też dyskusja nad celowością i kierunkiem zmian strukturalnych nabiera poważnego uzasadnienia teoretycznego.

Kolejne fragmenty Wstępu dotyczą ważnych etapów konstrukcji pierścienia makrolidowego i należne miejsce znalazła tutaj metodologia wykorzystująca metatezę olefin (RCM, ring closure metathesis), a także reakcja Sharplessa (Huisgena) typu „click”. Szczególnie ta ostatnia metodyka, umożliwiająca budowę różnorodnych połączeń hybrydowych na drodze prostej reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji znajduje dziś poczesne miejsce w konstrukcji obszernych zbiorów molekuł wykorzystywanych, między innymi w dynamicznej chemii kombinatoryjnej. Ze względu na znaczenie tego typu reakcji w poszukiwaniu związków aktywnych biologicznie, omówiony został szczegółowo jej mechanizm, aczkolwiek zdaniem recenzenta, zbyt wnikliwa dyskusja nad różnorodnymi proponowanymi ostatnio wariantami mechanizmu, nie ma istotnego znaczenia dla wiodącego wątku rozprawy.

Bardzo interesującym fragmentem Wstępu jest jego część poświęcona tzw. reakcjom kaskadowym, które przez swą elegancję i prostotę ilustrują współczesne tendencje do możliwie efektywnego prowadzenia syntezy organicznej.

Następujący z kolei opis dokonań własnych Doktorantki stanowi konsekwentne rozwinięcie zarysowanych powyżej zagadnień teoretycznych.

Zajmuje on dominującą część rozprawy, co wypełnia kryteria samodzielnej kontrybucji naukowej.

Podstawowymi celami pracy była funkcjonalizacja aglikonu spiramycyny przy zastosowaniu wewnątrzcząsteczkowych reakcji kaskadowych, obejmujących procesy transestryfikacji, oraz tandemowych eliminacji i addycji typu Michaela. Istotnym elementem miała być też dyskusja nad strukturą i stereochemią otrzymanych związków. Można z satysfakcją stwierdzić, że został on w całości osiągnięty.

W szczególności odnotowania godne są wyniki syntezy i analizy strukturalnej produktów syntezy kaskadowej analogów spiramycyny, oznaczonych w dysertacji symbolami SPR1-SPR11. Wyniki zostały dodatkowo wzbogacone analizą strukturalną, bardzo wnikliwie przeprowadzoną przy użyciu zaawansowanych technik korelacyjnych NMR (^1H - ^1H -COSY, ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HSQMB, oraz ^1H -HMBC i ^1H - ^1H NOESY). Profesjonalne wykorzystanie tych technik wystawia doskonale świadectwo merytorycznemu przygotowaniu Doktorantki w dziedzinie analizy strukturalnej.

Poszczególne etapy przemian zostały w dysertacji bardzo szczegółowo i kompleksowo opisane, co zwalnia recenzenta z ich ponownego opisywania. Niewątpliwie wartym krótkiego omówienia jest tu jednak elegancka logika prowadzonych transformacji syntetycznych, przy czym pozytywnego wrażenia nie umniejsza fakt, że w niektórych przypadkach pewna selektywność przemian (np w odniesieniu do monoacetylowania prowadzącego do pochodnej SPR2) była zasadniczo dziełem przypadku. Nieoczekiwany rezultat reakcji został jednak nie tylko właściwie zinterpretowany, lecz także wykorzystany w dalszych przemianach. W analogiczny sposób badana była reakcja kaskadowej eliminacji pod wpływem wodoru sodu. W celu uzyskania informacji o mechanizmie procesu, Doktorantka zadała sobie wiele trudu, aby uchwycić powstający przejściowo związek pośredni w postaci α,β -nienasyconego laktonu spiramycyny. Po ustaleniu także budowy i stereochemii związku końcowego, możliwym stało się zaproponowanie mechanizmu całej przemiany i w konsekwencji podjęcie studiów nad reakcją Michaela z różnymi alkoholami. I znów, pełna kontrola nad budową powstających produktów umożliwiła odpowiednie modyfikacje substratów w celu uniknięcia niekorzystnego otwarcia pierścienia makrolidowego i otrzymanie nowej pochodnej propargilowej, wykorzystanej następnie do serii cykloaddycji typu Huisgena z azydkami. Skonstruowane w ten sposób pochodne triazolowe poddane zostały ocenie ich aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwnowotworowej, obejmującej także komputerowe modelowanie ich oddziaływań w tunelu rybosomalnym sąsiadującym z transferazą peptydową. Umożliwiło to ustalenie zależności między strukturą a aktywnością i stwierdzenie istotnego, korzystnego wpływu ugrupowania triazolowego na tę aktywność. Rezultat ten należy uznać za ważną

kontrybucję Doktorantki do chemii kombinatoryjnej, która w odniesieniu do badań farmakologicznych często wykorzystuje procesy tworzenia triazoli.

Opisane powyżej rezultaty, w tym udana synteza i skrupulatna charakterystyka aż 23 nowych analogów spiramycyny nie byłaby możliwa bez pełnej kontroli nad budową i stereochemią wszystkich związków pośrednich, wykonywaną, jak to już zostało wspomniane wyżej, przy użyciu zaawansowanych technik korelacyjnych NMR, wspomaganych obliczeniami kwantowo-mechanicznymi.

Bardzo wysoki stopień skomplikowania i trudności w tych studiach staje się zrozumiałe po wzięciu pod uwagę złożoności strukturalnej badanych makrolidów. Jeśli dodatkowo uwzględni się wysoki poziom dyskusji danych spektralnych i doskonale umotywowanie wniosków, to recenzowana praca może być określona jako wyróżniająca się, co potwierdza fakt zamieszczenia części opisanych wyników w dwóch publikacjach w prestiżowych czasopismach. Pozytywnie oceniam także szatę edytorską pracy i nie mam uwag co do poprawności opisu i kwestii językowych.

Stwierdzam zatem, że w mojej opinii dysertacja spełnia wszelkie kryteria ustawowe, ilościowe i jakościowe, stawiane rozprawom doktorskim i z pełnym przekonaniem składam do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu wniosek o dopuszczenie rozprawy Pani mgr Katarzyny Klich do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dodatkowo, ze względu na wysoki poziom dyskusji naukowej, dużą liczbę nowatorskich i interesujących rezultatów, które zgromadzone zostały w rekordowo krótkim czasie, wnoszę o wyróżnienie rozprawy.

Zbigniew Czarnocki