



Dr hab. inż. Aleksandra Grudniewska, prof. UPWr

Wrocław, 14.05.2026 r

Katedra Chemii Żywności i Biokatalizy
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. inż. Grzegorza Hajdasia

pt. „Otrzymywanie nowych koniugatów steroidowych o potencjalnych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych”

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Zakładzie Produktów Bioaktywnych Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod kierunkiem prof. dr. hab. Tomasza Pospieszego jako Promotora oraz dr inż. Hanny Koenig pełniącej funkcję Promotora pomocniczego.

Tematyka pracy jest interesująca i wpisuje się w aktualne kierunki badań nad związkami steroidowymi, ukierunkowane na projektowanie i syntezę nowych pochodnych o potencjalnej aktywności biologicznej oraz badanie zależności pomiędzy ich strukturą a aktywnością.

Celem pracy doktorskiej była synteza nowych koniugatów steroidowych z wykorzystaniem reakcji typu „click” oraz ocena aktywności biologicznej uzyskanych związków. Jako substraty wyjściowe wykorzystano kwasy żółciowe (kwas cholowy, litocholowy i deoksycholowy) oraz cholesterol i 5 α -cholestan-3 β -ol. Doktorant otrzymał serie nowych koniugatów połączonych pierścieniem 1,2,3-triazolowym, reprezentujące dwa typy układów: 1) kwas żółciowy–sterol lub stanol oraz 2) kwas żółciowy–kwas żółciowy. Struktury otrzymanych związków potwierdzono za pomocą metod spektroskopowych (NMR, FT-IR) oraz spektrometrii mas (ESI-MS). Przeprowadzono także badania *in silico* obejmujące obliczenia semiempiryczne metodą PM5, predykcję aktywności biologicznej metodą PASS oraz analizę oddziaływań ligand–białko z wykorzystaniem dokowania molekularnego.

Rozprawa doktorska została przygotowana w formie zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, co jest zgodne z obowiązującymi przepisami Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Rozprawa została uzupełniona o *Wstęp*, *Sekcję literaturową*, *Sekcję badawczą*, *Podsumowanie*, *Bibliografię* oraz *Streszczenia* w języku polskim i angielskim, a także pozostałe elementy charakterystyczne dla tego typu prac, tj. życiorys naukowy, wykaz dorobku naukowego, spis rysunków, schematów, tabel oraz stosowanych skrótów. Integralną część rozprawy stanowią kopie wszystkich publikacji współautorstwa Doktoranta (publikacje **P1–P6**) oraz oświadczenia dotyczące wkładu merytorycznego współautorów w powstanie poszczególnych artykułów.

Choć doceniam ogrom pracy włożony w przygotowanie artykułów przeglądowych, uważam, że zamieszczenie pozycji **P4** i **P5** (wraz ze stosownymi oświadczeniami dotyczącymi wkładu autorów



w ich powstanie) nie było konieczne. Zgodnie z art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, „przedmiotem rozprawy doktorskiej powinno być oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych (...)” podczas gdy artykuły przeglądowe co do zasady nie spełniają tego kryterium.

Zarówno w *Sekcji badawczej*, jak i w *Podsumowaniu* Doktorant odwołuje się do wyników badań opublikowanych w pracach **P2**, **P3** i **P6**. W związku z tym dołączenie publikacji **P1** do rozprawy doktorskiej uważam za nieco mylące.

Z treści rozprawy wynika zatem, że zbiór powiązanych tematycznie artykułów naukowych stanowią trzy wieloautorskie prace opublikowane w recenzowanych czasopismach z listy *Journal Citation Reports: Steroids* (publikacja **P2**) oraz *ACS Omega* (publikacje **P3** i **P6**). W publikacjach tych mgr inż. Grzegorz Hajdaś jest pierwszym autorem, a w dwóch z nich również autorem korespondencyjnym (**P3** i **P6**). Opis wkładu Doktoranta w przygotowanie poszczególnych publikacji wskazuje na Jego wiodący udział w realizacji badań oraz analizie i opracowaniu uzyskanych wyników, potwierdzając tym samym umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Rozprawa liczy 133 strony, bez uwzględnienia załączonych publikacji oraz oświadczeń dotyczących wkładu autorów w ich powstanie. W pierwszym rozdziale, *Wstępie*, Doktorant omawia przesłanki podjęcia tematyki badawczej oraz przedstawia ogólny cel pracy. Praca nie zawiera odrębnego rozdziału poświęconego celom badań, a cele szczegółowe zostały opisane w *Sekcji badawczej*.

Obszerną część rozprawy stanowi *Sekcja literaturowa* (58 stron), obejmująca zagadnienia dotyczące budowy, właściwości i modyfikacji steroidów, w tym steroli, stanoli oraz kwasów żółciowych. Autor opisuje również chemię „click” oraz jej wykorzystanie w projektowaniu i funkcjonalizacji pochodnych steroidowych. Fragment ten czyta się dobrze, choć zwracają uwagę pewne nieścisłości oraz kwestie wymagające doprecyzowania lub korekty. Przedstawiam je poniżej.

- Na Schemacie 3 (str. 29) przedstawiono niepoprawny wzór prewitaminy D3, a na Schemacie 9 (str. 39) wzory związków **41** i **42**.
- IBX jest skrótem nazwy kwasu 2-jodoksybenzoesowego, a nie jego bezwodnika, jak podano na str. 37. Na Schemacie 7 (str. 38) przedstawiono błędny wzór IBX.
- Na Schematach 14 i 16 (str. 42) oraz 26 (str. 53) przedstawiono reakcje katalitycznej redukcji, jednak w zapisie reakcji nad strzałką nie uwzględniono katalizatora lub uwzględniono jedynie katalizator (Schemat 26).
- Do otrzymywania epoksydów z alkenów powszechnie stosuje się peroksokwas. Na str. 44 podano, że do reakcji epoksydacji wykorzystano kwas ftalowy, natomiast na Schemacie 19 (str. 45) przedstawiono wzór kwasu diperoksyftalowego.
- Na Schemacie 19 (str. 45) związek **72** nie zawiera grupy hydroksylowej w pozycji C3, mimo że informacja taka została podana w tekście (str. 44).



- Na str. 47 opisano, że związek **89** posiada mostek tlenowy w obrębie pierścienia C, jednak ugrupowanie to nie zostało przedstawione na Schemacie 23 (str. 48).
- Na Schemacie 27 (str. 52) w pozycji C17 związku **105** znajduje się grupa OAc, a nie grupa „karbometylowa”, jak podano w tekście.
- Na str. 52 niepoprawnie podano, że tioacetal **110** otrzymano w wyniku „konwersji hydroksylu” (Schemat 28).
- Na Schemacie 41 (str. 62) błędnie przypisano produkty reakcji katalizowanych kompleksami miedzi i rutenu – powinno być odwrotnie.

W pracy pojawiły się także pewne nieprecyzyjne sformułowania, m.in.: nienasycone wiązania podwójne (str. 18), konformacja przestrzenna (str. 23), patologiczne stężenia (str. 29), patologiczny wzrost (str. 31), fenolowe ugrupowanie hydroksylowe (str. 36), eliminacja wody β (str. 40) oraz epoksyd traktowany jako ukryta forma hydroksylacji (str. 54). Trafniejsze wydaje się ponadto określenie „biotransformacja testosteronu” niż „fermentacja testosteronu” (str. 48), a także „1,4-dipodstawione triazole” zamiast „1,4-disubstituowane triazole” (str. 62). Pewne wątpliwości budzi również podpis Schematu 4 (str. 33), gdyż przedstawione reakcje trudno uznać za „biosyntezę”. Doprecyzowania wymaga także sformułowanie: „Zatłoczona przestrzennie grupa 12α -OH aktywuje mniej zatłoczoną grupę hydroksylową 7α ” (str. 57). Na str. 65 zastosowano określenie, że grupa tosyłowa lub mesyłowa „działa jako dobry elektrofil”, podczas gdy są to raczej dobre grupy opuszczające. Z kolei sformułowanie „Steroidy mogą też tworzyć wiązania amidowe lub peptydowe z białkami i peptydami” (str. 69) wydaje się nieprecyzyjne, ponieważ wiązania peptydowe są wiązaniami amidowymi. Warto również zwrócić uwagę, że na stronach 55–74 nie zamieszczono numeracji związków chemicznych, co momentami utrudnia śledzenie opisu oraz analizę przedstawionych treści.

Kolejna część rozprawy, zatytułowana *Sekcja badawcza*, została podzielona na trzy części, w których Doktorant omawia publikacje **P2**, **P3** i **P6**. Opis poszczególnych publikacji przedstawiono według podobnego schematu, obejmującego część syntetyczną, analizę spektroskopową, obliczenia semiempiryczne, predykcję potencjalnej aktywności farmakologicznej, dokowanie molekularne oraz badania aktywności biologicznej – hemolitycznej (**P2** i **P3**) lub przeciwgrzybiczej (**P6**). Układ oraz sposób prezentacji treści są wyraźnie wzorowane na strukturze omawianych publikacji.

Artykuł **P2** dotyczy otrzymywania koniugatów typu kwas żółciowy–sterol lub stanol. W pierwszym etapie badań otrzymano estry propargilowe octanowych pochodnych kwasów żółciowych (kwasu cholowego, deoksycholowego i lithocholowego), natomiast w drugim etapie zsyntezowano azydoctanowe pochodne cholesterolu oraz 5α -cholestan- 3β -olu. Związki te wykorzystano następnie jako substraty w reakcji Huisgena, w wyniku której otrzymano sześć nowych koniugatów połączonych pierścieniem 1,2,3-triazolowym.

W publikacji **P3** przedstawiono syntezę dziewięciu „dimerycznych” koniugatów octanowych pochodnych kwasów żółciowych. Zastosowana metodyka badań jest analogiczna jak w poprzedniej pracy (**P2**), z tą różnicą, że w reakcji Huisgena zastosowano azydoctanowe pochodne kwasów



źóćciowych. Doktorant otrzymał także dwanaście nowych koniugatów mrówczanowych pochodnych kwasów źóćciowych, w tym osiem „dimerycznych”, dwa w połączeniu z cholesterolem a dwa kolejne z 5α -cholestan- 3β -olem. Te badania zostały opisane artykule **P6**.

Na podkreślenie zasługuje ogrom pracy włożony w realizację przedstawionych badań, zwłaszcza w zakresie syntezy, oczyszczania oraz określania struktury otrzymanych związków. Jak wynika z załączonych oświadczeń, mgr inż. Grzegorz Hajdaś odpowiadał właśnie za ten zakres prac, stanowiący w mojej ocenie kluczowy i najbardziej pracochłonny etap badań.

Wszystkie publikacje wchodzące w skład rozprawy zostały już przeanalizowane i ocenione przez recenzentów powołanych przez redakcje poszczególnych czasopism. Niemniej jednak, kierując się obowiązkiem recenzenta, chciałabym zwrócić uwagę na kilka kwestii, które nasunęły się podczas lektury pracy.

Pewien niedosyt budzi sposób przedstawienia danych spektroskopowych. Opis widm NMR związków **124–129** jest dość ogólnikowy, a Doktorant zamieścił jedynie wybrane fragmenty widm ^1H NMR otrzymanych koniugatów. Szkoda, że do rozprawy nie dołączono *Materiałów dodatkowych* do publikacji **P3** i **P6**, zawierających widma NMR. Co prawda materiały te są dostępne na stronach internetowych czasopism i ich odnalezienie nie stanowiło problemu, jednak ich zamieszczenie zwiększyłoby kompletność rozprawy.

Prosiłabym Doktoranta o wyjaśnienie, na jakiej podstawie przypisał sygnały pochodzące od protonów $3\beta\text{-H}$ i $3'\beta\text{-H}$ w otrzymanych koniugatach. W mojej opinii, bez analizy widm 2D NMR (zwłaszcza HSQC i HMBC), jednoznaczne przypisanie tych sygnałów wydaje się trudne.

Pewne wątpliwości budzi interpretacja części sygnałów w widmach ^1H NMR. W przypadku sygnałów pochodzących od protonów metylenowych 27-CH_2 w związkach **133–135** określonych jako „podwójny singlet” bardziej zasadne wydaje się opisanie ich jako dwóch dubletów. Analogiczna sytuacja dotyczy protonów 29-CH_2 w produktach **136–144**. Są to protony diastereotopowe i mogą dawać sygnał w postaci dwóch dubletów (układ AB). Widma rejestrowano na spektrometrze 400 MHz; uważam, że zastosowanie aparatu o wyższej częstotliwości pozwoliłoby jednoznaczniej określić kształt tych sygnałów.

W widmach koniugatów steroidowych sygnały pochodzące od protonów $7\beta\text{-H}$, $7'\beta\text{-H}$, $12\beta\text{-H}$ i $12'\beta\text{-H}$ występują w postaci multipletów, a nie singletów. Również sygnał od protonu $6'\text{H}$ w związkach **162–164** nie powinien być interpretowany jako singlet, a multiplet. Za nieprecyzyjne uważam określenie „podwójny singlet” użyte w odniesieniu do sygnałów od protonów 25-CH_3 i $25'\text{-CH}_3$ – są to dwa singlety. Protony grup 18- , 19- oraz $18'\text{-}$, $19'\text{-CH}_3$ dają sygnały w postaci singletów, a 21-CH_3 i $21'\text{-CH}_3$ w postaci dubletów, dlatego wywód przedstawiony na str. 92, zgodnie z którym mogą one występować „jako singlety lub ‘dublety’” lub „sygnały o charakterze dubletowym”, trudno uznać za trafny.

W opisie syntezy związków **153–164** na str. 103 podano, że „reakcja doprowadziła do powstania mieszaniny produktów (...), które rozdzielono metodą chromatografii kolumnowej”. Sformułowanie to jest dość mylące i może sugerować, że związki **153–164** otrzymano w jednej reakcji, a następnie



rozdzielono chromatograficznie. Analogiczne sformułowanie pojawia się również w publikacji P6. Wydaje się, że chodziło raczej o oczyszczanie poszczególnych produktów metodą chromatografii kolumnowej.

Zarówno w *Sekcji badawczej*, jak i w publikacjach nie podano ilości stosowanych substratów ani uzyskanych produktów, przez co trudno ocenić skalę prowadzonych syntez. **Proszę Doktoranta o uwzględnienie tych danych w trakcie publicznej obrony.**

Na str. 82 podano, że „substraty propiolowe różniły się istotnie aktywnością hemolityczną”, jednak na Rysunku 19 przedstawiono aktywność hemolityczną azydoctanowych pochodnych cholesterolu (122) i 5 α -cholestan-3 β -olu (123) oraz koniugatów 124–129. Zastanawia, dlaczego związki 119–121 i 133–135, nie zostały uwzględnione w tych badaniach. Chciałabym również dopytać, czy analizowano przewidywaną aktywność biologiczną zarówno związków wyjściowych jak i zsyntezowanych pochodnych propargilowych oraz azydoctanowych. Interesujące jest również, który/które z otrzymanych związków Doktorant wytypowałby do dalszych etapów badań aktywności biologicznej. Jaka byłaby to aktywność? Chciałabym także poznać opinię Doktoranta dotyczącą kolejności prowadzenia badań. Czy bardziej zasadne nie byłoby najpierw przeprowadzenie symulacji komputerowych, a następnie syntezы związków wykazujących najwyższy potencjał aktywności biologicznej? Jakimi przesłankami kierował się Doktorant przy planowaniu przedstawionej strategii badawczej? **Proszę o odniesienie się do tych kwestii podczas obrony pracy.**

Przedstawione powyżej uwagi nie umniejszają wartości naukowej rozprawy ani ogromu pracy włożonej w realizację badań. Przedłożona rozprawa doktorska potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną oraz umiejętność prowadzenia badań naukowych przez mgr. inż. Grzegorza Hajdasia. W mojej opinii Doktorant wykazał się bardzo dobrym opanowaniem warsztatu syntetycznego oraz umiejętnością planowania i realizacji wieloetapowych badań eksperymentalnych. Na szczególne podkreślenie zasługuje otrzymanie aż 27 nowych koniugatów steroidowych. Uzyskane wyniki mają dużą wartość poznawczą i mogą stanowić podstawę do dalszych badań nad otrzymywaniem związków bioaktywnych.

Na podstawie przeprowadzonej oceny stwierdzam, że rozprawa doktorska pt. „Otrzymywanie nowych koniugatów steroidowych o potencjalnych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych” spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.). W związku z powyższym wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pana mgr. inż. Grzegorza Hajdasia do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk chemicznych.

Aleksandra Grudniewska

Wrocław, 14.05.2026 r