



prof. dr hab. Zbigniew Czarnocki
Uniwersytet Warszawski
Wydział Chemii

Warszawa, 16 sierpnia 2017

Recenzja
pracy doktorskiej Pani mgr Weroniki Kozaneckiej-Okupnik, zatytułowanej
„Synteza, analiza spektroskopowa oraz ocena aktywności biologicznej
nowych pochodnych graminy”

Przedłożona do recenzji praca doktorska mgr Weroniki Kozaneckiej-Okupnik zrealizowana została w Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod kierunkiem naukowym prof. UAM dr hab. Beaty Jasiewicz.

Zarówno wysoka ranga naukowa ośrodka, w którym wykonywana była praca, jak i doświadczenie Pani Promotor w chemii związków naturalnych, a także w syntezie organicznej złożonych układów azaheterocyklicznych i ich fizykochemii, pozwalają oczekiwać dobrej jakości wyników zaprezentowanych w dysertacji, co istotnie znajduje swe potwierdzenie po bliższym zapoznaniu się z rozprawą.

Dotyczy ona bardzo interesujących i aktualnych zagadnień modyfikacji syntetycznych związku naturalnego o udowodnionym i bogatym działaniu biologicznym w celu utworzenia nowych pochodnych o spodziewanej interesującej aktywności. Tematyka przedłożonej rozprawy wpisuje się zatem doskonale w główny nurt współczesnej chemii bioorganicznej, a uzyskane w toku jej realizacji rezultaty, po opublikowaniu, winny szybko spotkać się z pozytywną reakcją zainteresowanego środowiska.

Pod względem formalnym, tej bardzo obszernej pracy nadano klasyczny układ treści, przy czym Części Literaturowej poświęcono 27 stron, badaniom własnym 102 strony, a części eksperymentalnej 33 strony. Pracę kończy zestaw ponad stu pozycji cytowanej literatury, a rozpoczyna zwięzły wstęp zarysowujący założenia i cel pracy.

Część Literaturową Autorka poprzedziła wprowadzeniem omawiającym główne metody syntetyczne stosowane w konstrukcji układów zawierających motyw heterocykliczny indolu. Skoncentrowano się tu jedynie na metodach pochodzących głównie z XIX wieku i być może wskazane byłoby dołączenie do opisu metod nowszych, wykorzystujących chemię alkinów i azyrydyn, które w wersji katalitycznej pozwalają na efektywne konstruowanie indoli w łagodnych warunkach i przy zachowaniu zasad ekonomiki atomowej i etapowej.

Kolejny fragment pracy zawiera bardzo lapidarny, ogólny opis naturalnych metabolitów tryptofanu, wzbogacony o kilka konkretnych przykładów alkaloidów indolowych o wybitnej aktywności biologicznej. Jest to niewątpliwie ciekawy fragment pracy, lecz moim zdaniem nieco zbyt skromny, aby mniej zorientowany czytelnik mógł przynajmniej wynieść wrażenie o liczebności i różnorodności tej klasy związków naturalnych. Recenzent jest oczywiście świadom trudności takiego przedstawienia tematu, albowiem samych alkaloidów indolowych jest ponad 4000, jednak wartość opisu wzrosłaby znacząco gdyby zaprezentowano choćby kilka z ponad 30 typów strukturalnych, z podaniem ich orientacyjnej liczebności.

Ze względu na wiodący temat rozprawy, kolejny podrozdział Części Literaturowej poświęcony został graminie i choć zawiera wiele interesujących informacji, to tym razem Autorka zawarła w nim dane zupełnie zbędne, jak choćby szczegółowy opis procedury izolacji graminy z materiału roślinnego.

Znacznie ciekawszy jest natomiast podrozdział podsumowujący chemiczne metody transformacji układu graminy, słusznie zwracający uwagę na tendencję tego związku do deaminacji, w której powstający produkt (nie – stan, jak pisze w wielu miejscach Autorka) przejściowy, 3-metylenoindol, może ulegać następcej reakcji Michaela z różnorodnymi nukleofilami, co wykorzystywane jest szeroko w chemii organicznej tego typu pochodnych i co było też zastosowane przez Doktorantkę podczas realizacji pracy.

Dzięki tej właśnie charakterystycznej reaktywności graminy, otrzymała Autorka cały szereg produktów z przeznaczeniem do badań aktywności biologicznej. Wszystkie te pochodne zostały bardzo starannie scharakteryzowane spektroskopowo, co przekonywująco potwierdziło ich struktury. Pomimo to jednak, dla kilku pochodnych wykonana została analiza rentgenostrukturalna. Przy okazji tych prac dokonano szeregu interesujących spostrzeżeń, jak choćby dotyczących prostej syntezy *N*-acetyloindolo-3-

karbinolu (str. 53), czy tworzenia się 3,3'-diindolilometanu (DIM) przy wykorzystaniu amin I-rzędowych jako nukleofili. W kontekście tej ostatniej nieoczekiwanej reakcji pojawia się pytanie o rodzaj użytej aminy. Co prawda w Części Eksperymentalnej mowa jest o etylenodiaminie, to Schemat 24 podaje metylo- i etyloaminę. O ile bowiem w pierwszym przypadku rezultat reakcji jest trudny do prostego wytłumaczenia, to przy użyciu amin wspomnianych na str. 61 można podejrzewać, że nie były obecne w mieszaninie reakcyjnej z uwagi na bardzo niskie temperatury wrzenia, umożliwiając tym samym powstawanie DIM.

Wszystkie otrzymane pochodne zostały następnie poddane starannym testom aktywności biologicznej, włączając w to ocenę aktywności przeciwnadciwnej, antybakteryjnej i antynowotworowej.

Analogicznym testom poddane były otrzymane kolejno przez Doktorantkę koniugaty graminy z uracylem i jego pochodnymi, a także seria bardzo interesujących połączeń triazolowych, zsyntetyzowanych na drodze tzw. „click chemistry” Sharplessa. Fragment pracy poświęcony otrzymaniu tej serii uważam za bardzo wartościowy, dowodzący bardzo dobrego opanowania warsztatu chemicznego przez Doktorantkę, co w połączeniu ze starannością w prowadzeniu syntez i analiz dało doskonałe rezultaty.

Podobnie wysoko oceniam otrzymanie serii soli graminy ze zmodyfikowanymi kwasami żółciowymi, a także koniugaty z innymi sterolami. Należy mieć na uwadze fakt, iż wraz ze wzrostem stopnia skomplikowania docelowych molekuł wzrastają trudności analityczne, zatem pozytywna realizacja tego etapu badań wystawia Doktorantce jak najlepsze świadectwo.

Jak już wspomniano, wszystkie pochodne poddano wielorakim testom aktywności biologicznej, wspomaganym metodami *in silico*. Szereg związków wykazało wysoką aktywność, potwierdzając trafność wyselekcjonowania konkretnych struktur do syntezy.

Wieńcząca pracę Część Eksperymentalna przygotowana jest bardzo starannie. Opisane są kompletne procedury syntetyczne uzupełnione o istotne dane analityczne, w tym widma rezonansowe i spektrometrii mas. Co prawda, dla kluczowych związków oczekiwać można by było danych HRMS, ale i tak zestaw danych zaprezentowany w pracy wydaje się być przekonujący. Za drobne przeoczenie uważam brak wartości skręcalności właściwej dla pochodnych steroidowych.

Ogólnie rzecz biorąc jednak, praca sprawia bardzo korzystne wrażenie. W części literaturowej Doktorantka udowodniła dobrego rozeznania w bieżącym piśmiennictwie, a w toku realizacji swej pracy uzyskała wiele interesujących i wartościowych wyników. Stanowiąc one mogą dobrą podstawę do kontynuacji tematu, będąc istotnym ułatwieniem dla jego rozwinięcia.

Pod względem formalnym pracę oceniam jednoznacznie pozytywnie. Napisana jest w sposób kompetentny, logiczny i spójny, a nadto poprawnie pod względem edytorskim, stylistycznym i gramatycznym. Nieliczne błędy literowe, które z trudem udało mnie się odszukać w pracy, a których krótką listę przekazuję Doktorantce, w niczym nie umniejszają mojej wysokiej oceny rozprawy.

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

Zbigniew Czarnocki