

Wrocław 3.06.2013

Prof. dr hab. Mirosław Czarnecki

Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego

## RECENZJA

pracy doktorskiej mgr **Jacka Rutkowskiego** zatytułowanej:

*Badania spektroskopowe, strukturalne i aktywność przeciwdrobnoustrojowa  
nowych soli kwasu lasalowego z aminami.*

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska została wykonana pod kierownictwem naukowym prof. dr hab. Bogumiła Brzezinskiego oraz opieką promotora pomocniczego dr Adama Huczyńskiego w Zakładzie Biochemii Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Tematem pracy były badania spektroskopowe, strukturalne i aktywność przeciwdrobnoustrojowa nowych soli kwasu lasalowego z aminami.

Kwas lasalowy i jego sól sodowa są powszechnie stosowanymi antybiotykami jonoforowymi. Jednak stosunkowo duża toksyczność kwasu lasalowego hamuje jego szersze zastosowania medyczne. Duże nadzieje wiązane są z pochodnymi i kompleksami kwasu lasalowego, które zachowując wysoką aktywność biologiczną byłyby mniej toksyczne dla żywych organizmów. Pomimo zainteresowania różnymi modyfikacjami kwasu lasalowego, dotychczas systematycznie zbadano jedynie pochodne estrowe. Prace te zostały wykonane w zespole kierowanym przez prof. B. Brzezinskiego. Kompleksy kwasu lasalowego z aminami wydają się być ciekawym obiektem badań, zarówno ze względów czysto poznawczych jak i potencjalnych możliwości aplikacyjnych. Brak doniesień literaturowych na temat tej grupy związków w pełni uzasadnia podjęcie powyższej tematyki.

Rozprawę otwiera krótkie wprowadzenie w tematykę badań oraz określenie celu pracy. Przedmiotem badań były kompleksy kwasu lasalowego z alliloaminą, 1,1,3,3-tetrametyloguanidyną, aniliną, N-butyloaminą, benzyloaminą, kationem amonowym i propargiloaminą. Zbadano również konkurencję pomiędzy aminami i kationami metali ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) w procesie kompleksowania przez kwas lasalowy. Strukturę i oddziaływania wewnątrz- i międzycząsteczkowe otrzymanych kompleksów określono za pomocą metod spektroskopowych (FT-IR,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR), spektrometrii masowej z jonizacją przez elektrorozpylenie (ESI-MS) oraz metod dyfraktometrycznych.

Część teoretyczną pracy rozpoczyna omówienie różnych typów jonoforów oraz mechanizmów transportu jonów przez błony biologiczne. Ten fragment wstępu teoretycznego został opracowany w sposób najbardziej wyczerpujący i wyróżnia się ciekawą szatą graficzną. Następnie Doktorant charakteryzuje kwas lasalowy, jego strukturę, metody otrzymywania oraz strukturę wybranych kompleksów i pochodnych kwasu lasalowego. Szkoda, że Doktorant koncentruje się jedynie na wynikach badań krystalograficznych, nie wspominając nic o dotychczasowych badaniach pochodnych kwasu lasalowego, które zostały wykonane innymi metodami. Pomimo pewnej zwięzłości, rozdział ten dobrze wprowadza w tematykę badań oraz zawiera informacje, które są niezbędne do dalszej lektury pracy.

Najważniejszą i najobszerniejszą część rozprawy stanowi opis badań własnych Doktoranta. Pierwszym krokiem było zbadanie stechiometrii kompleksów kwasu lasalowego z aminami. Widma masowe, przedstawione na rysunkach 36-37, w sposób jednoznaczny potwierdzają powstawanie kompleksów o stechiometrii 1:1 dla wszystkich badanych amin. Z badań krystalograficznych wynika, że we wszystkich kompleksach następuje przeniesienie protonu z grupy karboksylowej kwasu lasalowego do aminy. Sprotonowana amina jest kompleksowana w hydrofilowej wnęce anionu kwasu lasalowego, której powstanie zawdzięczamy utworzeniu wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego pomiędzy atomem O(1) zdeprotonowanej grupy karboksylowej oraz grupą hydroksylową O(8)H

znajdującą się na przeciwnym końcu cząsteczki. Jedynym wyjątkiem jest kompleks z 1,1,3,3-tetrametyloguanidyną gdzie w wiązanie wodorowe zaangażowany jest atom tlenu O(2) zamiast O(1). Ciekaw jestem czy wynika to z innej numeracji atomów czy też jest rzeczywistym efektem. Jeżeli zachodziłaby ta druga ewentualność to wymagałaby ona wytłumaczenia. Struktura krystalograficzna kompleksu z kationem amoniowym (rys. 43) sugeruje istnienie wiązania wodorowego C(34)H...O(3). Dla pozostałych kompleksów takiego wiązania nie zaznaczono. Dlaczego zatem kompleks LAS-AM6 miałby być wyjątkiem?

Jak zauważył Doktorant, wartości przesunięć chemicznych dla grup hydroksylowych w widmach  $^1\text{H}$  NMR wskazują na istnienie zależności pomiędzy strukturą kompleksu a rodzajem aminy. Jednak we wszystkich przypadkach utworzenie kompleksu z aminą spowodowało wzmocnienie wewnątrzcząsteczkowego wiązania z udziałem grupy O(3)H, podczas gdy wiązania wodorowe tworzone przez grupy O(4)H i O(8)H uległy osłabieniu. Uważam, że powyższa obserwacja jest na tyle istotna, że wymagałaby dokładniejszego wyjaśnienia. Oczekiwałbym również szerszego uwzględnienia w dyskusji wartości  $\text{pK}_\text{A}$  oraz wpływu części hydrofobowej aminy na strukturę powstającego kompleksu.

Porównanie widm FT-IR dla kwasu lasalowego i jego kompleksów z aminami w fazie stałej i ciekłej pozwoliło na otrzymanie informacji o zmianach strukturalnych wynikających ze zmiany fazy. O ile zmiany te były stosunkowo niewielkie dla większości kompleksów, to dla kompleksu z aniliną okazały się być istotne. Biorąc pod uwagę wyniki badań NMR oraz FT-IR Doktorant stwierdził, że kompleks kwasu lasalowego z aniliną wykazuje częściową dysocjację połączoną z utworzeniem wolnego kwasu lasalowego i wolnej aniliny. Nie jest to zaskoczeniem, jeżeli weźmiemy pod uwagę wartość  $\text{pK}_\text{A}$ , która dla aniliny jest znacznie niższa niż dla pozostałych amin. Analizując widma FT-IR Doktorant otrzymał informację jedynie o tych pasmach, które są stosunkowo dobrze rozdzielone. Gdyby jednak zwiększył rozdzielczość spektralną tych widm obliczając drugą pochodną lub wykonując fourierowską dekonwolucję mógłby otrzymać informację o pasmach, które nie zostały rozdzielone na

zwykłych widmach FT-IR. Być może wówczas udałoby się zidentyfikować pasmo przy 1652  $\text{cm}^{-1}$  w widmie kompleksu LAS-AM7 (rys. 64c). Na widmach FT-IR kompleksu LAS-AM7 w KBr i chloroformie (rys. 59) nie ma zaznaczonych położenia pików, przez co stają się one mniej użyteczne. Do tej części pracy przydałaby się zbiorcza tabela z przypisaniem najważniejszych pasm dla kwasu lasalowego i wszystkich badanych kompleksów.

Wcześniejsze badania pokazały, że hydrofilowy charakter oraz odpowiedni rozmiar wnęki umożliwiają kompleksowanie przez kwas lasalowy różnych kationów a nawet całych cząsteczek jak woda, metanol czy aceton. Idąc tym śladem Doktorant podjął próbę określenia konkurencji w kompleksowaniu amin i kationów. Otrzymane widma masowe oraz  $^{13}\text{C}$  NMR jednoznacznie wskazują na istnienie równowagi pomiędzy kompleksami kwasu lasalowego z aminami i kationami  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$ , również przy nadmiarze kationu.

Bardzo interesującą i wartościową część pracy stanowią badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej i cytotoksycznej kwasu lasalowego i jego kompleksów z aminami. Otrzymane wyniki sugerują, że wszystkie badane kompleksy mogą mieć potencjalne zastosowanie w mikrobiologii i medycynie. Szczególnie interesującym odkryciem Doktoranta jest stwierdzenie dużej aktywności kwasu lasalowego i jego kompleksu z alliloaminą przeciwko szczepom szpitalnych gronkowców złocistych, nawet tych odpornych na metycylinę. Kwas lasalowy i jego kompleksy wykazały również dużą aktywność przeciwnowotworową, która okazała się być wyższa od standardowo stosowanej cis-platyny.

W kolejnym rozdziale opisano część eksperymentalną. Nie miałbym żadnych uwag do tego rozdziału gdyby nie fakt, że informacja dotycząca warunków eksperymentalnych badań aktywności przeciwdrobnoustrojowej oraz cytotoksycznej została powtórzona dokładnie w tej samej formie i treści jak to już wcześniej zrobiono w części dotyczącej badań własnych. Dzięki temu zabiegowi objętość pracy zwiększyła się o ok. trzy strony. Myślę jednak, że nie było to świadome działanie Doktoranta, lecz zwykłe niedopatrzenie.

Część zatytułowana *Podsumowanie i wnioski* jest równie syntetyczna jak cała praca, jednak w tym przypadku jest to duża zaleta. Na uwagę zasługuje bogata bibliografia składająca się z 223 pozycji. Zarówno liczba cytowanych prac jak też ich dobór świadczą o dobrej znajomości tematyki będącej przedmiotem rozprawy doktorskiej. Praca nie zawiera istotnych błędów merytorycznych a jedynie niektóre jej fragmenty wymagałyby modyfikacji bądź też dodatkowego komentarza, o czym wspomniałem omawiając kolejne części rozprawy. W pracy znalazłem również pewną liczbę błędów edytorskich, które jednak nie utrudniają zrozumienia tekstu i nie są warte szczegółowego omówienia. Z pewnością zebrany materiał doświadczalny zawiera więcej informacji niż zostało to przedstawione w rozprawie. Jednak Doktorant skoncentrował się na tym, co najważniejsze z punktu widzenia celu pracy.

Pomimo kilku uwag krytycznych ogólna ocena pracy jest pozytywna. Doktorant starannie zaplanował część eksperymentalną dobierając właściwe metody i narzędzia badawcze. Umożliwiło to otrzymanie szeregu interesujących wyników, które noszą znamiona nowości naukowej. Potwierdzeniem tego jest dotychczasowy dorobek publikacyjny Doktoranta, na który składają się cztery prace opublikowane w czasopismach z listy filadelfijskiej oraz trzy komunikaty na międzynarodowych konferencjach. Warto również podkreślić, że Doktorant wykazał się zdolnością do współpracy z różnymi ośrodkami naukowymi oraz umiejętnością interpretacji wyników otrzymanych za pomocą różnych metod badawczych. Uważam, że Doktorant w pełni zrealizował postawione sobie cele.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Jacka Rutkowskiego spełnia wymogi ustawowe (ustawa "O stopniach naukowych i tytule naukowym" z dnia 14 marca 2003 roku z późniejszymi uzupełnieniami) i zwyczajowe stawiane pracom doktorskim i wnioskuję do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza o dopuszczenie mgr Jacka Rutkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Mirosław Czarnecki

