



Opole, 28 stycznia 2024 roku

prof. dr hab. Jacek Lipok

RECENZJA

pracy doktorskiej Pani mgr inż. Moniki Papsdorf

p.t.: ***Ion carriers based on lasalocid acid derivatives***

przygotowanej na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu,

pod kierunkiem

prof. UAM dr hab. Radosława Pankiewicza

Zjawisko uodporniania się mikroorganizmów patogennych na zdecydowaną większość stosowanych obecnie antybiotyków jest tak istotnym problemem, że poszukiwanie nowych związków o aktywności przeciwdrobnoustrojowej stało się nie tylko przedmiotem badań naukowych, ale wręcz obszarem działań komercyjnych prowadzonych na skalę przemysłową przez wiodące koncerny farmaceutyczne. Jednym z kluczowych elementów tych działań jest wskazanie zasadniczego motywu strukturalnego nowego antybiotyku oraz źródła i sposobu jego pozyskiwania.

Antybiotyki jonoforowe są grupą związków pochodzenia naturalnego, stosowanych z powodzeniem jako leki weterynaryjne (także w formie dodatków paszowych) w hodowli przemysłowej zwierząt. Jednymi z częściej używanych naturalnych antybiotyków w hodowli drobiu i bydła są: kwas lasalowy, salinomycyna i semduramycyna, działające jako antybiotyki jonoforowe typu przenośnikowego, o zróżnicowanym mechanizmie transportu przez błony komórkowe. Skuteczność działania tych karboksylowych pochodnych zawierających w strukturze zarówno pierścienie tetrahydrofuranowe, jak i tetrahydropiranowe sprawiła, że ich chemiczna modyfikacja stała się jednym z interesujących sposobów pozyskiwania nowych leków, o relatywnie szerokim spektrum aktywności przeciwko patogenom.

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Moniki Papsdorf, której zasadniczym, sformułowanym przez Autorkę celem były modyfikacje chemiczne kwasu lasalowego, w

dążeniu do uzyskania bardziej selektywnych i efektywnych jonoforów, w pełni odzwierciedla wspomniany sposób pozyskiwania nowych leków, tym samym staje kolejnym „głosem” w toczącej się dyskusji naukowej.

Od strony formalnej rozprawa doktorska Pani mgr inż. Moniki Papsdorf, której ocenę powierzyła mi Rada Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, została przygotowana w języku angielskim, w formie klasycznej monografii liczącej łącznie 168 stron. Treść dysertacji podzielono na 3 (trzy) zasadnicze rozdziały prezentujące kolejno: stan wiedzy, metodologię prowadzonych badań oraz wyniki wraz z ich nad wyraz skondensowaną dyskusją. W pracy zamieszczono również pozostałe wymagane informacje takie jak: spis treści, listę stosowanych skrótów i akronimów, wyodrębniony i bardzo zwarty cel prowadzonych badań, streszczenia w języku polskim i angielskim, wykaz źródeł literaturowych, spis tabel i grafik oraz wykaz osiągnięć naukowych Doktorantki. Układ rozprawy jest czytelny i odpowiada przyjętej koncepcji prezentacji osiągnięć Autorki w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy oraz stosowanych metod i procedur badawczych.

Poszukując efektywnych jonoforów Doktorantka przyjęła racjonalną strategię tworzenia estrów kwasu lasalowego które byłyby bardziej lub mniej hydrofilowe od wyjściowego związku, albo zawierałyby pierścień aromatyczny w ugrupowaniu pochodzącym od alkoholu. W doborze alkoholi uwzględniono potencjalny wpływ podstawnika na proces kompleksowania, w kontekście szybkości przenoszenia jonów przez błony biologiczne.

W toku prowadzonych prac Pani mgr inż. Monika Papsdorf otrzymała 7 (siedem) nowych estrowych pochodnych kwasu lasalowego – produktów kondensacji z alkoholami o różnej strukturze: z glukozą (LasGlu), ksylitolem (LasX), alkoholem neopentylowym (LasNeo), geraniolem (LasGeran), 2-etyloheksanolem (LasEtHex), eikozanolem (LasEico) i alkoholem wanilinowym (LasVanil). Struktury oraz jakość uzyskanych pochodnych określono z wykorzystaniem spektrometrii mas (ESI-MS), chromatografii cieczerwowej (HPLC), spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR, ^{13}C NMR, 2D NMR) oraz spektroskopii w podczerwieni (FT-IR). Wyniki pomiarów przeprowadzonych z wykorzystaniem spektrometrii mas dowiodły, iż kwas lasalowy tworzy estry z alkoholami w stosunku stechiometrycznym 1:1. Z kolei wyniki pomiarów z wykorzystaniem różnych technik spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego wykazały największe zmiany w wartości przesunięcia chemicznego protonu grupy hydroksylowej O_3H ugrupowania benzoowego. Natomiast porównanie widm otrzymanych estrów i ich kompleksów z kationami Li^+ , Na^+ , K^+ , w podczerwieni, w roztworze chloroformu, pozwoliły określić różny udział poszczególnych grup hydroksylowych w tworzeniu wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych pomiędzy estrami kwasu lasalowego i testowanymi kationami jednowartościowymi.

Warto zauważyć, że w kolejnym zestawie eksperymentów poświęconych ustaleniu relacji pomiędzy strukturą kompleksu estru kwasu lasalowego z kationem metalu, a szybkością przenoszenia jonów, Autorka wykorzystała siedem nowych, otrzymanych przez Siebie pochodnych oraz 10 (dziesięć) połączeń estrowych uzyskanych wcześniej w Jej macierzystym zespole. Wyniki tych prac pozwoliły na stwierdzenie, że estry kwasu lasalowego z alkoholem wanilinowym oraz 2-pirydynopropanolem przenoszą kationy sodu trzy razy szybciej, niż czysty wyjściowy kwas. Doktorantka wykazała także, że najmniej skuteczną w tym względzie modyfikacją była kondensacja kwasu z alkoholem 1-eikozanowym. Przytoczone rezultaty wskazują jak istotną rolę odgrywają dodatkowe pierścienie aromatyczne ulokowane blisko wiązania estrowego w sytuacji, gdy efektywny transfer jonów zależy od trójwymiarowej struktury jonoforu, stabilności kompleksu oraz różnicy między energią desolvatacji a energią kompleksowania.

Chociaż w treści pracy podano ogólne informacje dotyczące selektywności jonoforu pod kątem tworzenia kompleksów z kationami metali, Recenzent byłby zobowiązany gdyby Autorka zechciała bardziej szczegółowo omówić zagadnienie: czy i w jaki sposób modyfikacje strukturalne kwasu lasalowego wprowadzone przez Doktorantkę zmieniają preferencje wiązania kationów sodu i potasu, a co za tym idzie także mechanizm transportu transbłonowego.

Kolejną intrygującą Recenzenta kwestią są wspomniane wcześniej oddziaływania wewnątrz cząsteczek estrów kwasu lasalowego, które analizowano z wykorzystaniem metod spektroskopowych. Zmiana wartości przesunięcia sygnału protonu grupy hydroksylowej $O_{37}H$ estrów kwasu lasalowego wobec wyjściowego związku, została wyjaśniona jako efekt wewnątrzcząsteczkowego oddziaływania związanego z tworzeniem wiązania wodorowego z ugrupowaniem „odsłaniającym” proton $O_{37}H$. Założono, że im silniejsze to oddziaływanie, tym silniejsze tworzy się wiązanie wodorowe. Czy mógłbym prosić o wyjaśnienie tej kwestii w odniesieniu do estru 2-etyloheksanolowego kwasu lasalowego (LasEtHex) oraz estru ksylitolowego kwasu lasalowego (LasX), bowiem w tych przypadkach bardzo odmienne strukturalnie reszty alkoholowe indukują niemal identyczny efekt, biorąc pod uwagę wartości podane w tabelach odpowiednio 10 oraz 7.

Niezależnie od wcześniej sformułowanych próśb o wyjaśnienie niektórych kwestii, warto podkreślić konkretne rezultaty prac przeprowadzonych przez Panią mgr inż. Monikę Papsdorf. Na uznanie zasługuje opracowanie przez Doktorantkę efektywnej metody otrzymywania soli sodowej kwasu lasalowego, co pozwoliło na uzyskanie substratu niezbędnego do syntezy 7 nowych estrów tego kwasu, a następnie na określenie struktury otrzymanych kompleksów z wykorzystaniem spektrometrii mas oraz spektroskopii w podczerwieni i różnych technik spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego.

Natomiast biorąc pod uwagę perspektywiczne znaczenie wyników prac Autorki niniejszej dysertacji, chciałbym zwrócić uwagę na testowane przez Nią estry LasVanil i Las2-pyriprop, które transportują kationy efektywniej i bardziej selektywnie niż kwas lasalowy i inne badane pochodne. Związki te zasługują na włączenie ich w tok badań aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

Ponieważ do obowiązków Recenzenta należy także ocena rozprawy pod kątem spójności i jakości edycji treści, pragnę zauważyć, że i w tym utworze znajdują się tego rodzaju nieznaczne uchybienia. Tymi, które na dłuższą chwilę przykuły moją uwagę były:

Str.23; trzeci akapit - tytuł dysertacji podany przez Autorkę w streszczeniu przygotowanym w języku polskim, różni się od tytułu podanego na pierwszej stronie niniejszej rozprawy. Mam jednak nadzieję, że to jedynie efekt kilkukrotnych korekt kolejnych wersji tekstu,

Str.44; pierwszy akapit – w myśl wcześniej podanych informacji jeżeli „wewnętrzna” – bogata w atomy tlenu część cząsteczki jonoforu karboksylowego - a takim jest kwas lasalowy, jest hydrofilowa, to część „zewnętrzna” powinna być hydrofobowa, by mógł działać jako transporter transbłonowy. Tymczasem w opisie struktury kwasu lasalowego znajduje się informacja o hydrofilowym wnętrzu i równie hydrofilowej części zewnętrznej. Chciałbym prosić o jednoznaczne wyjaśnienie tej kwestii,

Str.50; ostatni akapit – z całą pewnością drożdżaki z rodzaju Candida nie mogą być zaliczane do Gram-ujemnych bakterii, gdyż są to grzyby mikroskopowe. Proszę o zweryfikowanie tego zapisu,

Str. 88; rys. 48 – widmo ^1H NMR estru LasGlu nie zawiera sygnału protonu grupy O_{37}H , brakuje go również w widmie korelacyjnym COSY – rys. 50, natomiast w tabeli nr 6 pojawiają się dane wskazujące na ustalenie wartości przesunięcia chemicznego tego protonu, a co za tym idzie również ustalenia różnicy odpowiednich wartości odpowiadających LasH i LasGlu. Proszę o wyjaśnienie. Przy okazji chciałem zwrócić uwagę na niespójne znaki graficzne oznaczające w tabelach 6-12 wspomnianą różnicę opisaną w drugim akapicie str. 86 jako „Differences in chemical shifts of signals from OH groups in the ^1H NMR spectra of lasalocid acid and in the spectra of complexes with alcohols can be determined by the parameter Δ ($\Delta = \delta_{\text{complex}} - \delta_{\text{lasalocid acid}}$).”,

Str.138-139; rys. 96 – większość struktur opisanych jako alkohole nie spełnia tego warunku ze względu na brak stosownej grupy funkcyjnej w podanym wzorze.

Podsumowując ocenę rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Moniki Papsdorf chciałbym stwierdzić, iż sformułowane prośby dotyczące wyjaśnienia niektórych kwestii, poczynione uwagi oraz komentarze, nie zmieniają mojej jednoznacznie pozytywnej oceny niniejszej dysertacji. Uważam, że uzyskane przez Doktorantkę wyniki są oryginalne i wartościowe,

czego jednym z dowodów jest ich upublicznienie w formie 3 (trzech) artykułów naukowych w czasopiśmie indeksowanych w światowych bazach abstraktowo-bibliometrycznych (WoS, Scopus) oraz w formie ponad dwudziestu wystąpień konferencyjnych, w ponad połowie przypadków na konferencjach międzynarodowych.

Chciałbym również podkreślić umiejętności Doktorantki w kontekście identyfikacji zsyntezowanych substancji w oparciu o analizę strukturalną z wykorzystaniem różnych technik magnetycznego rezonansu jądrowego, spektrometrii mas oraz spektroskopii w podczerwieni (IR).

Uznając oryginalność tematyki oraz wartość uzyskanych wyników jako spełniające formalne i zwyczajowe wymagania stawiane dysertacjom doktorskim stwierdzam, że w moim przekonaniu niniejsza rozprawa spełnia warunki ujęte w art. 13 pkt.1 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789), jak również warunki ujęte w art. 187, ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r.(Dz. U. z 2023r. poz. 742 ze zm.).

Biorąc pod uwagę moją jednoznacznie pozytywną ocenę niniejszej dysertacji oraz dorobku naukowego Doktorantki, wnoszę do Wysockiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, o dopuszczenie Pani mgr inż. Moniki Papsdorf, do kolejnych etapów postępowaniu dotyczącego nadania stopnia doktora.