



WYDZIAŁ  
CHEMII

Uniwersytet Łódzki

Łódź, dnia 11.08.2017 r.

Katedra Chemii Organicznej

dr hab. Bogna Rudolf prof. UŁ

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Hanny Koenig  
pt. „ Synteza i analiza spektroskopowa alkiloamoniowych pochodnych steroidów o  
właściwościach przeciwdrobnoustrojowych”**

Praca doktorska Pani mgr inż. Hanny Koenig została przygotowana w Pracowni Mikrobiocydów Wydziału Chemii UAM pod kierunkiem Prof. UAM Bogumiła Bryckiego, którego zainteresowania naukowe koncentrują się wokół substancji chemicznych o działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Dorobek badawczy Pani mgr Hanny Koenig w zakresie przedstawionej pracy stanowią trzy artykuły naukowe wszystkie opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym *Molecules* (IF=2,86) w latach 2013-14, jak również artykuł przeglądowy, który ukazał się w tym samym czasopiśmie w 2015 roku oraz rozdział w monografii *Nauka i Przemysł, Metody spektroskopowe w praktyce nowe wyzwania i możliwości*, Wyd. UMCS Lublin 2013. Doktorantka jest także autorem trzynastu publikacji w czasopismach z listy filadelfijskiej, które nie dotyczą pracy doktorskiej oraz dwudziestu pięciu komunikatów prezentowanych na konferencjach o zasięgu ogólnopolskim i międzynarodowym.

Poszukiwanie nowych związków stanowiących potencjalne leki stanowi przedmiot intensywnych badań zarówno w laboratoriach akademickich jak i w przemyśle farmaceutycznym. W nurt tych badań wpisuje się tematyka podjęta przez Panią mgr Hannę Koenig w pracy doktorskiej. Celem pracy było otrzymanie nowych koniugatów steroli z solami amoniowymi o zróżnicowanej strukturze, związków o potencjalnych właściwościach biobójczych. Zainteresowanie poliaminowymi koniugatami steroli wynika z ich

Katedra Chemii Organicznej

Wydział Chemii UŁ

Tel/fax.:42 635-57-50

ul. Tamka 12, 91-403 Łódź

udowodnionych właściwości przeciwdrobnoustrojowych i przeciwnowotworowych. Przykładem naturalnego koniugatu steroidowo-poliaminowego jest skwalamina wyizolowana między innymi z kolenia pospolitego (*Squalus acanthias*). Związek ten wykazuje znaczną aktywność wobec niektórych bakterii, grzybów i wirusów, a także wzmacnia działanie przeciwnowotworowe czynników cytotoksycznych wykorzystywanych w leczeniu nowotworów płuc, mózgu oraz sutka. Zapotrzebowanie na tę substancję przekracza możliwości pozyskania jej ze źródeł naturalnych dlatego w literaturze wiele jest doniesień dotyczących otrzymania skwalaminy drogą syntetyczną jak również syntezy związków o zbliżonej budowie, których nowe elementy strukturalne zwiększyłyby pożądane działanie farmakologiczne. W ramach przeprowadzonych badań stwierdzono, że działanie terapeutyczne pochodnych skwalaminy związane jest z obecnością w cząsteczce sztywnego hydrofobowego szkieletu modyfikowanego giętkim hydrofilowym łańcuchem połączonym z hydrofobową jednostką oraz obecnością polarnych grup funkcyjnych. Do związków zawierających takie elementy strukturalne należą także koniugaty steroli z solami amoniowymi, którym poświęcona jest niniejsza praca doktorska.

Recenzowana rozprawa ma układ typowy dla prac z zakresu chemii organicznej i zawiera trzy najważniejsze rozdziały „Część literaturową”, „Omówienie i dyskusję wyników” oraz „Część eksperymentalną”. W „Części literaturowej” doktorantka obszernie omawia poszczególne grupy związków, które stanowią podstawę syntezowanych przez nią pochodnych: sterole, aminy biogenne, czwartorzędowe sole amoniowe ze szczególnym uwzględnieniem ich aktywności biologicznej. Końcowy fragment tej części poświęcony jest naturalnym koniugatam steroli, które posiadają właściwości biobójcze i stały się asumptem do badań przedstawionych w niniejszej pracy. Autorka opiera się na niezwykle bogatej bibliografii liczącej 279 pozycji literatury.

Cel pracy został zwięźle zaprezentowany na stronie 91. Pani mgr Hanna Koenig w swojej pracy podjęła się syntezy i analizy nowych nieopisanych dotąd w literaturze soli alkiloamoniowych 3 $\beta$ -acetoksy pochodnych wybranych steroli: ergosterylu, cholesterylu, dihydrocholesterylu, a także syntezy ftamidopropyloamoniowych koniugatów z wymienionymi 3 $\beta$ -acetoksy sterolami. Zaplanowane zostały również badania mające na celu określenie parametrów termodynamicznych z wykorzystaniem metody semiempirycznej PM5. Doktorantka zaplanowała także badania związane z określeniem właściwości farmakologicznych syntezowanych pochodnych, na co składają się badania *in silico* przy

wykorzystaniu programu PASS oraz badania aktywności bakteriostatycznej i grzybostatycznej wybranych pochodnych.

Zasadnicza część pracy opisana w części „Omówienie i dyskusja wyników” dotyczy syntezy pojedynczych i podwójnych czwartorzędowych soli alkiloamoniowych  $3\beta$ -acetoksy ergosterylu, cholesterylu, dihydrocholesterylu. Doktorantka w pierwszej kolejności otrzymała odpowiednie  $3\beta$ -bromo acetoksy sterole, które następnie zostały poddane reakcjom z odpowiednimi aminami trzeciorzędowymi o długich łańcuchach oraz wybranymi diaminami i triaminami trzeciorzędowymi. Kolejnym etapem była synteza ftaimidopropyloamoniowych koniugatów  $3\beta$ -acetoksy steroli, które uzyskano w wyniku reakcji  $3\beta$ -bromo acetoksy steroli ergosterylu, cholesterylu, dihydrocholesterylu oraz *N,N*-dimetylo-3-ftalimidopropyloaminy. W sumie Doktorantka w ramach swojej pracy opracowała syntezę 31 nowych dotychczas nie opisanych związków o bardzo skomplikowanej strukturze. Do najważniejszych osiągnięć tej części pracy należy zaliczyć syntezę dziewięciu podwójnych czwartorzędowych soli amoniowych  $3\beta$ -acetoksysteroli, które otrzymano z wysokimi wydajnościami.

W dalszej części pracy Pani mgr Koenig obszernie omawia wyniki badań spektroskopowych otrzymanych związków w tym widma  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR oraz IR na podstawie, których ustaliła struktury zsyntezowanych pochodnych steroli. W części dotyczącej widm NMR przesunięcia chemiczne sygnałów dotyczące poszczególnych grup otrzymanych związków zebrane są w tabelach, a w niektórych przypadkach ilustrowane widmami. Interpretacja widm NMR nie budzi zastrzeżeń, jednak dziwi fakt, że przy analizie związków o tak skomplikowanej budowie jak pochodne steroidów nie zrobiono żadnych dwuwymiarowych widm NMR, które pozwoliłyby na przypisanie sygnałów z większym prawdopodobieństwem. Widma masowe wykonano techniką ESI-MS. W tej części pracy Doktorantka omawia fragmentację poszczególnych związków, a także proponuje kryteria rozróżniania dla danej serii związków oparte na współczynnikach  $\mu$ , nie precyzuje jednak dokładnie co te współczynniki wnoszą. Prosiłabym o komentarz jaką wartość naukową mają wspomniane współczynniki? Co wnoszą do interpretacji widm? W jaki sposób wyjaśniają przebieg fragmentacji?

Trwałości syntezowanych związków Doktorantka określiła na podstawie semiempirycznych obliczeń z wykorzystaniem metody PM5, wyznaczając wartości finalnego ciepła tworzenia. Największe wartości HOF (*Heat of Formation*) wskazujące na mniejszą

trwałość zaobserwowano dla pochodnych steroli zawierających wiązania podwójne co może się wiązać z ich większą reaktywnością. Obserwacje te potwierdziły także wyniki obliczeń *ab initio* wykonane metodą B3LYP.

W pracy przedstawiono również badania *in silico* z wykorzystaniem programu PASS w celu prognozowania aktywności farmakologicznej otrzymanych pochodnych. Wyniki przedstawiono w Tabeli 44 i można z nich wnioskować, że większość z otrzymanych związków może mieć potencjalne znaczenie terapeutyczne. W swojej pracy Pani mgr Hanna Koenig przedstawia również rezultaty badań biologicznych mających na celu oszacowanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej nowych koniugatów steroli wobec wybranych bakterii i grzybów oraz porównanie aktywności tych związków z aminosterolami - pochodnymi skwalaminy. Do tych eksperymentów wybrano trzy pochodne steroli posiadające w strukturze 12-węglowy łańcuch alkilowy. Stwierdzono, że wszystkie przebadane związki wykazują aktywność biobójczą ale ich skuteczność w porównaniu z pochodnymi skwalaminy nie jest duża.

Część eksperymentalna zawiera opis procedur przeprowadzonych reakcji, zilustrowanych ich schematami. Nie zawiera natomiast, wyników badań spektroskopowych, które zostały dla poszczególnych związków przeprowadzone. Opis tych badań znajduje się co prawda w części „Omówienie i dyskusja wyników” jednak przedstawione tam dane pogrupowane są w zależności od techniki badań i nie dają obrazu pełnej charakterystyki poszczególnych produktów. Poza tym część wyników badań spektroskopowych jak np. widma IR została przedstawiona w rozdziale „Omówienie i dyskusja wyników” jedynie dla „reprezentatywnych koniugatów” i trudno stwierdzić czy widma te zostały też zarejestrowane dla pozostałych związków, o których w tym miejscu pracy Doktorantka nie wspomina?

Oceniając formalną stronę pracy stwierdzam, że praca napisana jest poprawnym językiem, Doktorantka dobrze posługuje się terminologią fachową, choć nie ustrzegła się błędów (np. jony fragmentaryczne zamiast fragmentacyjne, w tabelach 10-13 oraz 37 użyto określenia skład elementarny zamiast wzór sumaryczny). Przedstawione cele i wnioski są jasno sformułowane, a dane bibliograficzne prawidłowo opisane. Należy również podkreślić bardzo staranną szatę graficzną pracy.

W pracy znalazłam także drobne błędy redakcyjne, które przedstawiam poniżej:

- Str. 153 - jest „na Rys 64b” - powinno być „na Rys 65b”
- Str. 153- jest „przewidywane częstości są wymienione w tabeli 39 jako vscaled” tymczasem w tabeli użyto dla tych wartości innego określenia.
- Str. 139 jest „Rysunek 57 przedstawia numerację podwójnych czwartorzędowych soli amoniowych” - powinno być „Rysunek 57 przedstawia numerację atomów węgla podwójnych czwartorzędowych soli amoniowych”.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr Hanny Koenig zawiera obszerny i wartościowy materiał doświadczalny zawierający elementy nowości naukowej. Niniejsza praca świadczy o tym, że Pani mgr Hanna Koenig potrafi samodzielnie zaprojektować oraz przeprowadzić interdyscyplinarne badania, a także prawidłowo zinterpretować uzyskane rezultaty. Zamieszczone tutaj uwagi i zastrzeżenia nie mają wpływu na moją bardzo wysoką ocenę niniejszej pracy.

Stwierdzam, że recenzowana praca doktorska Pani mgr Hanny Koenig spełnia wymogi art. 13 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dn. 14 marca 2003 roku. Wnoszę zatem do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza o dopuszczenie Pani mgr Hanny Koenig do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

