

Prof. UAM dr hab. Jan Milecki  
Pracownia Spektrochemii Organicznej  
Wydział Chemii UAM  
ul. Umultowska 89b, 61-614 Poznań

E-mail: [janmil@amu.edu.pl](mailto:janmil@amu.edu.pl)  
Tel.: 61-829 1687  
Fax : 61-829 1555

---

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. HANNY KOENIG  
pt. „Synteza i analiza spektroskopowa alkiloamoniowych pochodnych  
steroidów o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych”**

Rozwój cywilizacji prowadzi do coraz lepszego i wygodniejszego stylu życia, jest jednak okupiony zagrożeniami wynikającymi z oderwania się od naturalnego środowiska, do którego organizm ludzki został precyzyjnie dostosowany. Jednym z takich zagrożeń jest wzrastająca wrażliwość na zakażenia drobnoustrojami, wynikająca z wydelikacenia naszych organizmów i, z drugiej strony, „wyhodowania” szczepów odpornych na stosowane leki i antyseptyki. Ponadto lawinowy wzrost liczebności skupisk ludzkich, nie zawsze, zwłaszcza w Trzecim Świecie, przebywających w optymalnych warunkach higieny, oraz rosnąca mobilność podnosi ryzyko masowych zakażeń i epidemii. Uświadomienie tych faktów powoduje poszukiwanie środków walki z drobnoustrojami, które działać będą w sposób bardziej wyrafinowany i obciążone będą minimalną liczbą efektów ubocznych. Mechanizm ich działania powinien być możliwie prosty i uniwersalny, nieszkodliwy dla organizmów wyższych, stężenie skuteczne powinny być jak najniższe, a okres pozostawania w środowisku niezbyt długi (przy czym powinny one degradować się do nieszkodliwych produktów). Ten zestaw wymagań nie jest łatwy do zachowania, a jedną z klas związków, które go nieźle spełniają i w dziedzinie antyseptyków i dezynfektantów od lat posiadają znaczącą pozycję, są sole alkiloamoniowe. Badaniem tych związków zajmuje się od dłuższego czasu kierowana przez prof. Bogumiła Bryckiego Pracownia Mikrobiocydów Wydziału Chemii UAM, z którego to zespołu badawczego pochodzi recenzowana praca.

Mimo, że wiele modyfikacji generalnej struktury czynnika biobójczego zostało już przez prof. Bryckiego i jego zespół przebadanych, to wybór tej grupy połączeń chemicznych, jakie postanowiła zbadać Doktorantka jest nowością. Podstawnikami połączeń amoniowych badanych przez p. mgr inż. Hannę Koenig były cząsteczki 3 $\beta$ -acetoksysteroli – ergosterylu, cholesterylu i dihydrocholesterylu. Połączone one zostały z pojedynczymi i podwójnymi czwartorzędowymi solami amoniowymi, a otrzymane związki zostały szczegółowo scharakteryzowane spektroskopowo oraz zbadano ich aktywność przeciwdrobnoustrojową. Jako opis grupy nowych związków praca stanowi

wartościowy przyczynek do wiedzy na temat tej klasy połączeń.

Praca liczy 241 stron, podzielona jest w sposób ogólnie przyjęty na część literaturową (56 stron), poprzedzoną dwustronicowym wstępem, opis celu pracy (na 4 stronach), omówienie wyników (80 stron) oraz dwie strony podsumowania, a także opis procedur doświadczalnych (40 stron) i bibliografię, liczącą 279 pozycji. Uzupełnieniem tekstu są, co oczywiste, spis treści, wykaz stosowanych skrótów, spis rysunków, streszczenie w języku angielskim oraz zwyczajowe podziękowania i dedykacja.

Pierwsza część dobrze uzasadnia potrzebę wykonania przedstawionych w pracy badań i przedstawia treściwy przegląd podstawowych wiadomości na temat steroli, zwłaszcza ich stereochemii i aktywności biologicznej oraz, w drugiej części, na temat amin biogennych. Część literaturową kończy mały rozdział na temat naturalnych koniugatów steroli i ich aktywności. Zapewne stamtąd też wyniknęła główna inspiracja podjętych badań – wybitna aktywność antybiotyku aminosterolowego, skwalaminy. Logiczną decyzją było podjęcie syntezy i badań związków o strukturach, będących różnymi modyfikacjami i wariantami struktury tego antybiotyku.

Opis tych badań stanowi treść drugiej i najważniejszej części rozprawy. Postawiony cel pracy zakładał syntezę modelowych koniugatów opartych na rdzeniach trzech wyżej wymienionych acetoksysterolu, a zawierających zróżnicowane komponenty aminowe. Bazowały one zarówno na długołańcuchowych monoaminach (od 6 do 16 atomów węgla), jak i poliaminach – 1,3-propanodiaminie, dietylenotriaminie oraz N<sup>1</sup>-3-aminopropylo-1,3-propanodiaminie. Pochodne aminowe były czwartorzędowane grupami metylowymi, a pochodne diaminowe albo były bis-podstawione resztą sterolu, albo też jedna z grup aminowych na końcu łańcucha zablokowana była resztą ftalimidową. Dawało to zbiór trzydziestu pochodnych o stopniowo zmieniających się elementach struktury, co stanowi już wystarczający materiał do oszacowania wpływu tych zmian na właściwości.

Jako metody charakterystyki spektralnej autorka wybrała spektroskopię NMR, zarówno jąder wodoru jak i węgla, spektroskopię w podczerwieni oraz spektrometrię mas. Uzyskane dane spektralne zebrane są w czytelne tabele i niewątpliwie stanowią wartościowy materiał dokumentujący.

Za pomocą programu WinMopac wykonano też obliczenia semiempiryczne metodą PM5, co dało ciepła tworzenia badanych związków oraz wyliczoną przestrzenną postać cząsteczek. Obliczone też zostały teoretyczne widma i dokonano ich porównania z danymi eksperymentalnymi. Badania teoretyczne zostały rozszerzone ponadto na prognozowanie aktywności biologicznej związków i ustalona została prawdopodobna aktywność antagonistyczna wobec cholesterolu oraz w hipercholesterolemii, a także określono potencjał inhibicji wobec szeregu enzymów.

Tradycyjny, doświadczalny nurt badań aktywności biologicznej przedsięwzięty został wobec pochodnych z 12-węglowym łańcuchem aminy sprzężonym z resztą sterolową i dotyczył on trzech różnych organizmów bakteryjnych i dwóch grzybowych. Badane preparaty wykazywały wyraźną aktywność w testach z wybranymi drobnoustrojami, była ona jednak niższa od skwalaminy, chociaż w niektórych

przypadkach porównywalna z aktywnością jej naturalnych koniugatów.

Podsumowując uzyskane wyniki należy stwierdzić, że Autorka wykonała z dużym powodzeniem syntezę szeregu związków – koniugatów steroli z różnymi aminami, uzyskując zestaw preparatów pozwalających na wyciągnięcie podstawowych sugestii co do wpływu elementów struktury na aktywność biologiczną. Otrzymane związki zostały starannie scharakteryzowane, wykonano też szereg obliczeń dodatkowo uściślających wiedzę na temat właściwości omawianych związków. Założony plan badań był spójnie i logicznie skonstruowany i został zrealizowany.

W tego rodzaju pracy naukowej ukoronowaniem i najcenniejszym wynikiem jest uzyskanie wybitnie aktywnego związku. Należy stwierdzić, że to się nie udało, ale jest to los bodajże ponad 95% tego typu przedsięwzięć badawczych i nie ma tu błędu badacza. Fakt uzyskania pozytywnej aktywności, chociaż na poziomie, którego nie można nazwać wybitnie aktywnym, wskazuje, że badana klasa związków kryje w sobie potencjał i wymaga po prostu dalszych badań.

Odnosnie do formalnej strony przedstawionej mi do recenzji pracy muszę z uznaniem odnotować bardzo staranną szatę graficzną i dbałość o dobre zilustrowanie wywodzonych tez rysunkami i tabelami. Pewien niedosyt stwarza brak choćby przykładowego widma dwuwymiarowego NMR, chociaż wnioski z tych eksperymentów spektralnych są w pracy umieszczone. Korekta nie pozostawia wiele do życzenia, jest parę pomyłek literowych, ale uważam, że jest to praktycznie nie do uniknięcia i spotyka się je w pracy w stopniu dużo niższym niż to zwykle bywa.

Autorka nie ustrzegła się natomiast wpadania od czasu do czasu w żargon laboratoryjny, co nieprzyjemnie „zgrzyta” w skądinąd dobrze napisanym tekście. (parę przykładów: „...protony są w przedziale...”, „... jon fragmentaryczny...”, „...reakcja była wrażliwa na światło...”, „...chlorek kokosowodimetyloamoniowy...”). Jest też parę pomyłek w numeracji ( np. na str. 142 jest odwołanie do rysunku 58, gdy naprawdę chodzi o rysunek 59).

Z obowiązku recenzenta muszę wskazać takie niedociągnięcia, działając w przekonaniu, że praca doktorska jest zwieńczeniem i zakończeniem pewnego etapu kariery naukowej i należy dołożyć starań, by również jej postać materialna była wzorcowa.

Wymienione niedoskonałości nie podważają bynajmniej merytorycznej wartości pracy. Ranga tych uchybień jest niepomernie mniejsza od bardzo pozytywnej oceny merytorycznej przedstawionych badań, stanowiących przykład pokaźnej porcji bardzo solidnej i wnikliwej pracy laboratoryjnej, przeprowadzonej z dużym kunsztem, znajomością metodyki oraz według dobrze przemyślanego i konsekwentnie realizowanego planu. Zastosowany warsztat badawczy i sposób przedstawienia wyników dowodzi dużej biegłości doświadczalnej i znajomości chemii organicznej. Postawiony na początku cel pracy był jasno sformułowany, dobrze uzasadniony, posiada dużą wagę naukową i wiele elementów nowości. Cel ten został osiągnięty. Efektem badań są 4 publikacje w recenzowanym czasopiśmie, 2 komunikaty oraz rozdział w monografii. Pani mgr inż. Hanna Koenig jest też współautorka licznych publikacji,

które dotyczą badań niezwiązanych z tematyką doktoratu, ale dowodzą jej doskonałego obycia i doświadczenia w chemii steroidów

W konkluzji uznają, że recenzowana praca w zupełności spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim w Ustawie „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” z dnia 14 marca 2003 roku z późniejszymi zmianami i z całym przekonaniem wnoszą do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie mgr inż. Hanny Koenig do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Poznań, 16 czerwca 2017



Prof. UAM dr hab. Jan Milecki