

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr ADRIANNY SZULC pt.  
„Synteza i właściwości fizykochemiczne podwójnych soli  
alkiloglucityloamoniowych”**

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 wydolikacenia naszych organizmów i, z drugiej strony, „wyhodowania” szczepów odpornych na stosowane leki i antyseptyki. Rosnąca świadomość 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 spełnienia, a jedną z klas związków, które go nieźle spełniają i w dziedzinie antyseptyków i dezynfektantów od lat posiadają znaczącą pozycję, są sole alkiloamoniowe. Ich nowszą generacją są podwójne (a też potrójne i więcej krotne) sole amoniowe. 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.

Wybór tej grupy połączeń chemicznych jako mikrobiocydów opiera się na zjawisku synergii – wprowadzenie dodatkowego centrum aktywnego pomnaża, a nie tylko podwaja aktywność przeciwdrobnoustrojową. Ta zmiana aktywności zależy w dość regularny sposób od wielkości poszczególnych elementów struktury cząsteczki i ogólne tendencje są już poznane. Nieznane natomiast są różne dodatkowe efekty, jakie można osiągnąć wprowadzając nowe grupy funkcyjne w tych elementach. Może to skutkować zmianami w rozpuszczalności, podatności na biodegradację, powinowactwie do określonych miejsc organizmu czy struktur komórkowych itp.

Jedną z takich modyfikacji, polegającą na wprowadzeniu kilku grup hydroksylowych i skupieniu ich w jednym z podstawników atomu azotu, wybrała Doktorantka jako obiekt swych badań.

Taka modyfikacja powoduje, że polihydroksylowy podstawnik azotu staje się wybitnie hydrofilowy, co ułatwia jego oddziaływania z środowiskiem wodnym, a także może stać się miejscem zapoczątkowania przemian metabolicznych prowadzących do biodegradacji na etapie przenikania do środowiska.

Przedstawiona praca jest obszerna, liczy 212 stron, zawiera typowy podział treści: wstęp (2 str.), część literaturową (20 str.), cel pracy, sformułowany na 2 stronach, omówienie wyników (68 str.), czterostronicowe podsumowanie, część eksperymentalną (28 str., w tym wzory wszystkich omawianych związków oraz ich nazwy w wersji „popularnej” oraz wg nomenklatury IUPAC), a także bibliografię przywołującą 232 pozycje. Całość uzupełnia spis treści oraz streszczenie pracy w języku angielskim.

W części literaturowej Autorka podaje w skondensowanej, ale przejrzystej i wyczerpującej formie stan wiedzy na temat tzw. „gemini surfaktantów”, ich syntezy, budowy, sposobów analizowania, właściwości i aktywności biologicznej a także zagadnień związanych z ich oddziaływaniem na środowisko. W tej części szczególnie interesująco przedstawiony jest fragment dotyczący zastosowania w transferze genów.

Następnie w sposób jasny i przekonujący przedstawia swoje zamierzenia badawcze, uzasadnia ich zakres i wybraną metodykę pracy.

Wyniki tej pracy przedstawione są szczegółowo w najobszerniejszej części dysertacji. Opisując syntezę Autorka przedstawia poszczególne jej etapy, które obejmowały kolejno:

- związanie łącznikiem diaminowym dwóch cząsteczek glukozy (długość łącznika wynosiła kolejno 2, 4, 6 grup metylenowych oddzielających atomy azotu)
- redukcję pierścienia glukozy do formy glucitolu
- przyłączenie podstawnika alkilowego (o różnej długości, od 6 do 12 atomów C) poprzez redukcyjne aminowanie odpowiedniego aldehydu
- alkilowanie do czwartorzędowej soli amoniowej jodoalkanami o różnej wielkości

Na każdym z tych etapów (poza redukcją glukozy), prowadzonych według jednolitej ogólnej preparatyki, reakcję przeprowadzano w kilku wersjach, zmieniając rozmiary przyłączanego elementu struktury.

Doprowadziło to do skompletowania zestawu związków o systematycznie zmieniających się wielkościach, co umożliwiło w dalszych etapach ich dokładne przebadanie i poprzez porównanie właściwości dało podstawy do pewnych wniosków ogólnych.

Zastosowane metody syntezy nie wybiegały poza standardowe metody chemii organicznej, zostały jednak skrupulatnie dopracowane i zoptymalizowane, co pozwala przypuszczać, że mogą być stosowane jako ogólne metody syntezy tej grupy związków. Jako przykład staranności można podać (prawdopodobnie żmudne) dobieranie rozpuszczalników do krystalizacji wielu z otrzymanych produktów, co zaowocowało dużą czystością preparatów. Tam zaś, gdzie krystalizacja się nie powiodła, zastosowane techniki wielokrotnego przemywania również pozwoliły na uzyskanie zadowolających wyników analizy elementarnej

Badany zakres właściwości obejmował właściwości spektralne (głównie widma

magnetycznego rezonansu jądrowego nuklidów  $^1\text{H}$  oraz  $^{13}\text{C}$  oraz widma FT-IR), badania rentgenostrukturalne jednego z preparatów, oznaczanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej, aktywności powierzchniowej i biodegradowalności.

Przedstawione przez Doktorantkę wyniki badań spektralnych stanowią wartościowy zbiór danych, które mogą być przydatne w dalszych pracach nad tą grupą związków. Nie stwierdzono anomalii w obrazie widmowym, oznaczone wartości pasm absorpcji, intensywności, multipletowości sygnałów itp. zawierały się w zakresach, jakie przewiduje się dla tego typu związków. Widma zostały starannie zinterpretowane, a ich reprodukcje zamieszczone w pracy swym poziomem graficznym umożliwiają czytającemu samodzielną analizę (często ze względów edytorskich widma bywają tak pomniejszone, że stają się jedynie nieużytecznymi obrazkami, co tutaj nie ma miejsca). W licznych przypadkach eksperymentalne dane zostały skorelowane z wynikami obliczeń i na ogół zanotowano wysoką zgodność danych, zaś tam, gdzie zdarzały się odchylenia, Autorka przekonująco je interpretuje.

Dane krystalograficzne pokazują wysoką zdolność do samoorganizacji cząsteczek badanego związku (nazwanego GZ4Cl), wynikającą z licznych wiązań wodorowych obecnych w cząsteczce grup OH.

W badaniach aktywności przeciwdrobnoustrojowej wyniki wskazują, że główny cel – stworzenie nowej klasy skutecznych antyseptyków – został osiągnięty. O ile preparaty nie zawierające w swojej budowie centrum jonowego soli czwartorzędowej nie odznaczały się aktywnością, to ostateczne rezultaty cyklu syntez – czwartorzędowe sole amoniowe, taką aktywność posiadają i to w stopniu bardzo wysokim. Rokuje to bardzo dobrze co do ich potencjalnego zastosowania w praktyce.

Są one też bardzo dobrymi środkami powierzchniowo czynnymi o parametrach zdecydowanie lepszych od stosowanych „pojedynczych” surfaktantów. Autorka wiąże to między innymi z umieszczeniem w ich strukturze centrów polihydroksylowych w pobliżu atomu azotu.

Jeżeli chodzi o biodegradowalność, to nie we wszystkich przypadkach dało się ją oznaczyć, z uwagi na specyficzne właściwości badanych związków (silne zdolności do adsorpcji na osadzie czynnym i wybitną aktywność przeciwdrobnoustrojową).

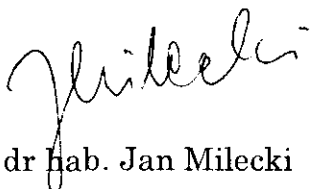
Sposób przedstawienia wyników badań jest bardzo poprawny i starannie wykonany. Praca napisana jest dobrym, zrozumiałym językiem, bez zbytecznego rozwlekania tematu. Liczba błędów maszynowych i prostych pomyłek jest bardzo niewielka, co dowodzi starannej korekty. Jednakowoż wkradły się pewne błędy nomenklaturowe i spotyka się czasami żargon laboratoryjny. W części literaturowej wyraźnym niedociągnięciem jest reprodukcja chromatogramów HPLC i TLC (str. 49) bez podania warunków rozdzielania, zaś na str. 55 pojawia się pojęcie współczynnika HLB, bez jego zdefiniowania. Pewną niezręcznością jest użycie w jednym zdaniu (str.61) słów „łącznik” i „spacer” (to drugie skojarzyło mi się z przechadzka...). Często spotykanym w wielu tekstach błędem jest użycie słowa „ilość” w znaczeniu „liczba”. Również w niniejszej pracy ten lapsus się pojawia, a z uwagi na jej naturę, powtarza się nagminnie. Na str. 99 i dalszych Doktorantka dyskutuje wystąpienie podwójnych

sygnałów dla protonów grupy metylenowej, stwierdzając, że są one „nierównocenne”. Jest to prawda, ale dokładniejszym terminem jest „protony diastereotopowe”, a w omawianych związkach jest to bardzo typowy przykład takiej zależności. Analizując dwuwymiarowe widmo związku GZ4Cl mam wątpliwości co do przypisania sygnałów protonów b i c (choć w tym przypadku może to wynikać z małej skali ilustracji). Niezrozumiały jest dla mnie termin „kwas laktamowy” (str. 34), podobną wątpliwość budzi określenie „grupa laktamowa” (str. 114), która dotyczy najwyraźniej aminoacetalu (aminalu).

Powyższa lista błędów wynika z obowiązku recenzenta, który powinien skrupulatnie sprawdzić, czy praca doktorska nie odbiega od najwyższych standardów pracy naukowej. Najczęściej jest to pierwsza poważna, kompleksowa praca młodego badacza i dobrze jest by te wysokie standardy utrzymywała. Podniesione zarzuty mają charakter drugorzędny i nie podważają w najmniejszym stopniu wysokiej wartości merytorycznej pracy, która jest świadectwem dojrzałości badawczej Autorki i zawiera znaczną porcję nowości naukowej. Oceniając pracę stwierdzam jednoznacznie, że zamierzony cel badawczy został osiągnięty. Zastosowany warsztat badawczy i sposób przedstawienia wyników dowodzi dużej biegłości doświadczalnej i znajomości nowoczesnej chemii organicznej.

Uznaję, 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 wnoszę o dopuszczenie mgr Adrianny Szulc do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Poznań, 6 maja 2012



Prof. UAM dr hab. Jan Milecki