Uniwersytet Gdański | Uczelnie Fahrenheita

Dr hab. Janusz Madaj, prof. UG
Wydział Chemii
Katedra Chemii Organicznej

08.12.2023 r. Gdańsk

Recenzja pracy doktorskiej Pni mgr inż. Katarzyny Żurawskiej

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska mgr inż. Katarzyny Żurawskiej pt.: *„Synteza heterocyklicznych pochodnych monosacharydów i ich wpływ na żywotność komórek nowotworowych"* zrealizowana została w Katedrze Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii na Wydziale Chemicznym Politechniki Śląskiej pod kierunkiem naukowym prof. dra hab. inż. Krzysztofa Walczaka i dr inż. Anny Kasprzyckiej.

Choroby nowotworowe należą do jednych z najczęstszych przyczyn zgonów ludzi na całym świecie. Statystyki śmiertelności i zapadalności na nie są bardzo niepokojące i sprawiają, że w wielu ośrodkach naukowych prowadzi się intensywne prace nad ich poprawą. Wyróżnić można dwa główne nurty tych prac. Pierwszy polegający na poznaniu czynników będących przyczyną tych chorób, co umożliwiłoby ograniczenie ich wpływu. Drugi polegający na poszukiwaniu nowych lub nowym wykorzystaniu już poznanych substancji, które można by wykorzystać w ich terapii. W podejściu tym dodatkowe utrudnienie stanowi fakt różnorodności typów nowotworów oraz różnego ich przebiegu, co sprawia, że trudno znaleźć jeden uniwersalny środek. Dlatego w poszukiwaniu nowych terapeutyków każdego roku w laboratoriach syntezuje się i bada aktywność przeciwnowotworową wielu substancji. W tym nurcie lokuje się praca doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Żurawskiej.

Praca posiada typowy układ przyjętych dla rozpraw doktorskich z dziedziny chemii. Otwiera ją kilkunastostronicowy *Przegląd literaturowy*. Napisany jest bardzo zwięźle w oparciu o informacje zawarte w 64 pozycjach literaturowych w znakomitej większości opublikowanych po

Wydział Chemii
tel. +48 58 523 50 74, fax. +48 58 523 50 12
e-mail: janusz.madaj@ug.edu.pl
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk
www.ug.edu.pl

roku 2000, a ich dobór świadczy o bardzo dobrej znajomości przez Doktorantkę literatury związanej z tematyką rozprawy. W części tej Autorka skupia się przede wszystkim na aspektach biochemicznych dotyczących m.in. porównania metabolizmu komórki zdrowej i nowotworowej. Najszerzej, co jest zrozumiałe biorąc pod uwagę cele pracy, opisane są fukozylotransferazy. Dla chemika, który nie specjalizuje się w tej tematyce, są to na pewno cenne informacje. Pewien mały niedosyt może odczuwać osoba mniej zaznajomiona z syntezą związków cukrowych, ale oczywiście dobór tematyki opisanej w części literaturowej jest zawsze sprawą subiektywnego wyboru Autorki. Jest ona napisana w sposób klarowny choć Pani Katarzynie nie udało się ustrzec kilku błędów z języka żargonowego. Jednak jako ważniejsze i warte zwrócenia na nie uwagi uznałbym określenie „*zawierający w swojej strukturze wiązanie podwójne między atomami C-5 i C-6 cykloheksenu*" (strona 18). Otóż zgodnie z nomenklaturą cykloalkenów numeracja atomów węgla powinna być tak prowadzona aby atomy tworzące wiązanie podwójne posiadały jak najmniejsze numery, a więc C-1 i C-2, a nie C-5 i C-6.

Na kolejnych dwóch stronach Doktorantka krótko i dokładnie przedstawiła cel i założenia realizowanej przez siebie pracy. Są one sformułowane bardzo klarownie i pozwalają czytelnikowi zorientować się w dążeniach naukowych, które postanowiła Ona zrealizować w ramach prac badawczych zaprezentowanych na kolejnych stronach. Prace syntetyczne, z grubsza rzecz biorąc, można podzielić na trzy bloki. Pierwszy dotyczy otrzymywania związków będących pochodnymi cukrów, drugi opisuje syntezę związków heterocyklicznych, a trzeci skupia się na syntezie glikokoniugatów. Wśród otrzymywanych pochodnych cukrów znalazły się cukry nienasycone, które Doktorantka otrzymywała klasycznymi metodami z bromków per-*O*-acetyloglikopiranozyli, których nie izolowała powołując się na ich bardzo wysoką reaktywność (strona 31). Trudno do końca zgodzić się z tym stwierdzeniem, szczególnie w przypadku bromku 2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo-D-glukopiranozylu, który jest związkiem stosunkowo trwałym, dającym się krystalizować i przechowywać. W ten sposób Autorka otrzymała z dobrymi wydajnościami odpowiednie acetylowane pochodne fukalu, galaktalu, glukalu i ramnalu. W przypadku pochodnej ramnalu przeprowadziła Ona również wymianę grup acetylowych na benzylowe, choć znowu trudno mi się zgodzić, że odbyło się to na drodze hydrolizy grup *O*-acetylowych. Z opisu znajdującego się na stronie 80 raczej należałoby uznać, że był to wynik metanolizy. W kolejnym etapie Doktorantka

Wydział Chemii
tel. +48 58 523 50 74, fax. +48 58 523 50 12
e-mail: janusz.madaj@ug.edu.pl
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk
www.ug.edu.pl

podjęła się próby otrzymania z pochodnych fukalu i glukalu odpowiednich 2-deoksy-2-fluoropochodnych. Jak wynika ze schematu 9 (strona 34) dokonała tego w oparciu o pozycję literaturową 74. W tym miejscu nasuwa się pytanie w jaki sposób została potwierdzona konfiguracja atomu węgla C-2? Z wcześniej otrzymanych glikali Pani Katarzyna w wyniku przegrupowania Ferriera otrzymała odpowiednie azydopochodne. Przyznam się, że powołując się na to przegrupowanie (schemat 10, strona 36) oczekiwałbym raczej przywołania innej pozycji literaturowej, jak choćby *„Ferrier, Robert J.; Zubkov, O. A. (2003). "Transformation of Glycals into 2,3-Unsaturated Glycosyl Derivatives". Org. React.* **62**: *569–736. doi:10.1002/0471264180.or062.04."* Określone azydopochodne zostały również otrzymane z per-*O*-acetylowanych cukrów. Całości dopełniły syntezy alkinowych pochodnych 2-deoksy-2-fluorocukrów, otrzymanych na potrzeby syntez w oparciu o tzw. *click chemistry*.

Kolejnym etapem prac syntetycznych było otrzymanie z pochodnych fukalu i ramnalu na drodze przegrupowania Ferriera odpowiednich pochodnych pseudoglikali. I w tym miejscu warto zwrócić uwagę (strona 53 i dalsze), że zgodnie z polską nomenklaturą poprawna jest nazwa glikozyd metylu, a nie metylo glikozyd. A jeśli już pojawiają się uwagi dotyczące nomenklatury to warto też zauważyć, że od pewnego czasu nie używa się już nazwy *N*-glikozydy (strona 60 i inne), a w to miejsce mówimy o glikozylowanych aminach. Wyniki przeprowadzonych syntez zostały zestawione w Tabeli 1, w której pojawia się zawartość poszczególnych anomerów w produkcie. Ponieważ taka informacja pojawia się też w kolejnych tabelach myślę, że dobrze byłoby choć jeden raz podać informacje jak został wyznaczony ten stosunek. Wyniki dalszych syntez Doktorantka przedstawia w kolejnych tabelach, co przy tej liczbie wyników zdecydowanie ułatwia ich analizę. Mnogość zaprezentowanych wyników sprawia, że trudno było ustrzec się drobnych pomyłek, jak choćby w Tabeli 4 w przypadku produktu Glu7 na rysunku mamy anomer β, podczas gdy w ostatniej kolumnie znajduje się informacja, że powstaje wyłącznie anomer α. Zastanawiająca jest też konkluzja pod tabelą, że *„Produkty* ***Ram24-Ram28***, ***Glu7-Glu10*** *i* ***Gal4-Gal7*** *otrzymano z zadowalającymi wydajnościami oraz wysoką α-stereoselektywnością..."*, co szczególnie dziwi w przypadku Glu10, który według informacji w tabeli jest czystym anomerem β.

Całość prac syntetycznych wieńczy *Podsumowanie*, w którym Autorka w sposób zwięzły przedstawia raz jeszcze uzyskane przeprowadzonych syntez.

Wydział Chemii
tel. +48 58 523 50 74, fax. +48 58 523 50 12
e-mail: janusz.madaj@ug.edu.pl
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk
www.ug.edu.pl

Na stronie 74 rozpoczyna się część zatytułowana *Część eksperymentalna* i jak można się domyślać zawiera ona szczegółowy opis procedur syntetycznych. Ich przegląd nasuwa kilka uwag oraz pytań. Warto zwrócić uwagę, że w języku polskim cyfry w podawanych wartościach, choćby przesunięć chemicznych, oddzielamy przecinkiem. Jednak bardziej istotne jest, że w części tej bark jakichkolwiek informacji na temat zarejestrowanych widm 2D NMR (COSY, HETCOR), a skoro nie były wykonywane to w jaki sposób Doktorantka dokonała przypisania sygnałów na widmach ^{1}H i ^{13}C NMR? Ponadto w charakterystyce uzyskanych produktów nie znajduję danych pozwalających się odnieść do ich czystości. Standardem już stają się takie metody jak: analizy chromatograficzne HPLC, analiza elementarna czy HRMS. A jeśli już mowa o standardach i dobrych zwyczajach to w przypadku większości czasopism chemicznych staje się rutyną zamieszczanie tzw. materiałów uzupełniających (*ang.* Supplementary materials), w których załączone są wyniki analiz i widma NMR. To bardzo ułatwia analizę uzyskanych wyników.

Na zakończenie Autorka prezentuje występną ocenę aktywności biologicznej otrzymanych w ramach swojej pracy związków. Dla zsyntezowanych przez Nią związków przeprowadzone zostały m.in.: badania cytotoksyczności, hamowanie cyklu komórkowego i działania proapoptycznego czy test przesunięcia temperatury topnienia białka (*ang.* Thermal Shift Assay, TSA). Wiele z uzyskanych wyników zaprezentowanych zostało w postaci wykresów, co zdecydowanie ułatwia ich analizę. Wśród konkluzji pojawiających się w przypadku uzyskanych wyników nie dziwi raczej spostrzeżenie, że aktywność badanych związków jest różna dla różnych linii nowotworowych. Ponadto, jak to często bywa, wyniki nie zawsze okazują się takie jakich byśmy oczekiwali, jednak zgadzam się, że uzyskane przez Panią Katarzynę wyniki wstępnych badań aktywności biologicznej mogą wskazywać kierunki ich dalszej kontynuacji. Szczególnie trafne wydaje się stwierdzenie, że pojawiające się trudności w rozpuszczalności badanych związków można pokonać poprzez usunięcie grup ochronnych.

Z obowiązków recenzenta chciałbym zwrócić jeszcze uwagę na kilka drobnych błędów i nieścisłości pojawiające się w pracy:

- Str. 17 jest " W odróżnieniu do" – myślę że powinno być „W odróżnieniu od";
- Str. 20 jest „w którym" – powinno być „w której";
- Str. 22 jest „odwróceniem konfiguracji na C-1" – powinno raczej być „odwróceniem konfiguracji atomu węgla C-1";

Wydział Chemii
tel. +48 58 523 50 74, fax. +48 58 523 50 12
e-mail: janusz.madaj@ug.edu.pl
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk
www.ug.edu.pl

- Str. 31 – substraty są zazwyczaj wyjściowe;
- Str. 36 – jest „eliminacja podstawnika" – powinno raczej być „odszczepienie podstawnika w wyniku dysocjacji wiązania";
- Str. 39 Schemat 14 – na rysunku konfiguracja anomerycznego atomu węgla jest nieokreślona, a w podpisie znajduje się informacja, że jest to glikozyd β;
- Str. 39 „spektrometrią mas ESI(MS), która potwierdziła obecność 3 atomów azotu w cząsteczce" – to chyba zbyt daleko posunięte stwierdzenie;
- Str. 58 – jest „Schemat 30" – powinno być „Schemat 31";
- Str. 71- jest „w reakcji substytucji grupy acetylowej" – myślę, że powinno być „w reakcji substytucji grupy *O*-acetylowej";
- Str. 92 - jest „^{13}C NMR (400 MHz, $CDCl_3$)" – chyba powinno być „^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$)".

Te drobne niedociągnięcia oczywiście nie wpływają na moją pozytywną ocenę przedstawionej mi do recenzji pracy. Chciałbym również podkreślić ogrom pracy, którą musiała włożyć Doktorantka w syntezę otrzymanych prze Siebie związków. Znakomita większość z nich to nowe związki, nie opisane wcześniej w literaturze, podobnie, z oczywistych względów, jak wyniki ich badań aktywności biologicznej. Wszystko to potwierdza nowość naukową prezentowanego materiału i stanowi wkład Pani Katarzyny w rozwój dziedziny naukowej.

Biorąc więc pod uwagę wysoką wartość naukową przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Żurawskiej mogę w pełni stwierdzić, że spełnia ona wszystkie ustawowe wymogi stawiane rozprawom doktorskim i Kandydatom ubiegającym się o nadanie stopnia doktora i z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej o dopuszczenie Pani mgr inż. Katarzyny Żurawskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Podpisano odręcznie przez autora

Wydział Chemii
tel. +48 58 523 50 74, fax. +48 58 523 50 12
e-mail: janusz.madaj@ug.edu.pl
ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk
www.ug.edu.pl