



prof. dr hab. Zbigniew Czarnocki
Uniwersytet Warszawski
Wydział Chemii

Warszawa, 13 listopada 2018

Recenzja
pracy doktorskiej Pani mgr Anety Baj, zatytułowanej „Synteza i badania
strukturalne nowych analogów witaminy E”

Przedłożona do recenzji praca doktorska mgr Anety Baj zrealizowana została w Wydziale Biologiczno-Chemicznym Uniwersytetu w Białymstoku pod kierunkiem naukowym Profesora Stanisława Witkowskiego. Rolę promotora pomocniczego pełnił dr Piotr Wałęjko.

Grupa badawcza, w której Doktorantka realizowała swoją pracę posiada wieloletnie, ugruntowane doświadczenie w studiach nad chemią i biochemią układów izoprenoidowych, co stanowiło doskonały prognostyk uzyskania wartościowych wyników. Potwierdza to bliższe zapoznanie się z rozprawą.

Dotyczy ona bardzo interesujących i aktualnych zagadnień związanych z badaniem aktywności biologicznej analogów witamin z grupy witaminy E. Najważniejszy przedstawiciel tej grupy, α -tokoferol, wykazuje szeroki wachlarz oddziaływania metabolicznego i jego rola w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu jest nie do przecenienia. Wciąż jednak wiele mechanizmów działania biologicznego α -tokoferolu i jego analogów nie jest w pełni poznanych, co powoduje, że wiele światowych grup badawczych prowadzi studia nad różnorodnymi pochodnymi syntetycznymi, upatrując w tym możliwość lepszego poznania relacji pomiędzy ich strukturą a aktywnością. Okazuje się jednak, że mimo zbliżonej pozornie budowy, profil działania szeregu pochodnych tokochromanoli odbiega od wzorca, co stanowi zachętę do dalszych poszukiwań. W ten nurt działalności naukowej doskonale wpisuje się recenzowana rozprawa.

Pod względem formalnym, tej bardzo obszernej pracy nadano klasyczny układ treści, przy czym Części Literaturowej poświęcono 46 stron, badaniom własnym 68 stron, a części eksperymentalnej 42 strony. W końcowej części pracy zamieszczono listę aż 368 pozycji literatury przedmiotu. Pracę rozpoczyna zwięzły wstęp zarysowujący założenia i cel badań, którym były studia nad rolą atomu tlenu w pozycji O-1 oraz wpływu podstawników w pozycji

C-2 na preferencje konformacyjne i dynamikę molekularną układu chroman-6-olu. Jednym z ważniejszych celów była też synteza i badania nowych karbapochodnych, a także wybranych 2-desmetylo analogów tego układu. Wszystkie otrzymane 6-hydroksy-1,2,3,4-tetrahydronaftaleny miały być też poddane wnikliwym badaniom biologicznym. Zadania powyższe zarysowane zostały we wstępie rozprawy, natomiast obszerna Część Literaturowa omawia szczegółowo chemię i biochemię witamin z grupy E.

Rozdział ten napisany został, w mojej opinii, niezwykle interesująco. Zawiera systematycznie zgrupowane istotne informacje o rodzajach i budowie molekularnej witamin E, ich do tej pory rozpoznanej roli biologicznej, nie pomijając w opisie ciekawych aspektów historycznych odkrycia i studiów nad tokoferolami i tokotrienolami. Wartość przeglądu podnosi też wnikliwa analiza biochemii tych pochodnych, pozwalająca lepiej zrozumieć realizowane później przez Doktorantkę zadania, a także docenić złożoność uprawianej tematyki.

Stosowne miejsce w opisie ogólnym znalazły też kwestie syntez α -tokoferolu, jako najważniejszego reprezentanta witamin E i jego analogów. Bardzo szczegółowo potraktowane zostały kwestie stereochemiczne, zarówno dotyczące mechanizmów działania biologicznego, jak i istotnych w procesach syntez asymetrycznych. Ze względu na tematykę pracy, do dyskusji włączono też problemy stereochemii dynamicznej układu chromanowego.

Ogólnie, opis literatury przedmiotu dokonany przez Doktorantkę oceniam bardzo pozytywnie. Jest on obszerny i wielowątkowy, lecz logicznie skonstruowany i interesująco napisany, dowodząc dobrej orientacji Autorki w uprawianej tematyce.

Jedyną drobną uwagą krytyczną, jaką można sformułować w odniesieniu do tego rozdziału jest zawarte na str. 28 zbyt ogólne stwierdzenie o utlenianiu lipidów. Warto pamiętać, że opisane zjawisko dotyczy jedynie lipidów zawierających wybrane nienasycone kwasy tłuszczowe. Pewne zdziwienie budzi także umieszczenie na Rys. 9 (str. 37) cząsteczki, zapewne mającej oznaczać fosfolipid, ale zawierającej triol nie będący gliceryną oraz czteronienasycony kwas tłuszczowy *all-trans*.

Następujący kolejno rozdział Badań Własnych rozpoczyna krótkie przypomnienie głównych celów poszukiwań, w tym metod syntezy 1-karbaanalogów tokoferoli, przy czym za związek kluczowy wybrano układ odpowiedniego tetralolu. W odniesieniu do tego zagadnienia, recenzent ma nadzieję na dyskusję w trakcie obrony pracy nad motywami dokonania takiego właśnie wyboru badanego układu. W szczególności, interesujące będzie rozważenie, jakie cechy stereoelektronowe układu 6-hydroksy-1,2,3,4-tetrahydronaftalenu

mogłyby wpływać na właściwości powstającego w przemianach wolnorodnikowych rodnika, którego trwałość uczyni go bardziej skutecznym w porównaniu do układu chromanowego.

Istotne z punktu widzenia dalszych przemian aldehydy, oznaczone w pracy numerami 129 i 130, otrzymane zostały w wyniku starannie zoptymalizowanych sekwencji syntetycznych przy użyciu zaawansowanych metod chemii organicznej. Zostały one następnie poddane reakcjom Wittiga, w wyniku czego elegancko sfinalizowano założone cele. Osobnym wątkiem badawczym były syntezy analogów tokoferolu modyfikowanych w pozycji C-2. Otrzymane zostały dwie serie analogów α -tokoferolu, w których łańcuch boczny zmodyfikowany był fragmentami krótszymi (np. grupą amidową lub cyjanową). Z kolei, druga grupa pochodnych nie zawierała podstawnika metylowego w pozycji C-2a. W odniesieniu do tego fragmentu rozprawy znów należy z uznaniem odnotować wysoki kunszt eksperymentatorski i wybitną pracowitość Doktorantki, gdyż omawiane syntezy miały bardzo wysoki poziom trudności i ich pozytywna finalizacja dobitnie wskazuje na doskonałe opanowanie warsztatu chemicznego.

Wybrane związki poddane zostały następnie wnikliwym badaniom fizykochemicznym w celu określenia ich preferencji konformacyjnych, o których wiadomo, że mają wpływ na oddziaływania z podwójną warstwą fosfolipidową w układach biologicznych. Istotne informacje, w tym oszacowania barier energetycznych uzyskano poprzez analizę widm VT NMR, wspomaganą obliczeniami kwantowo-chemicznymi DFT. Do dyskusji włączono też rezultaty strukturalnej analizy rentgenowskiej niektórych pochodnych. Wyniki zostały starannie zebrane i skomentowane, aczkolwiek niektóre ze stwierdzeń można było pominąć, jak na przykład „Badania...potwierdziły, że wraz obniżaniem temperatury dochodzi do spowolnienia przejść konformacyjnych” (str. 113), albo „otrzymane wyniki są zgodne z danymi literaturowymi” (tamże).

Materiał rozprawy doktorskiej został znacząco wzbogacony rezultatami badań biologicznych wybranych związków w zakresie oszacowania ich aktywności antyoksydacyjnej oraz wpływu na właściwości termotropowe modelowych warstw podwójnych (pomiar DSC wobec liposomów dipamitynianu fosfatydylocholiny). Wyniki tych badań należy traktować jako wstępnie interesujące i inspirujące do dalszych poszukiwań.

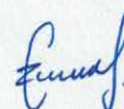
Merytoryczną część rozprawy kończy opis procedur syntetycznych i zestawienie danych analitycznych wszystkich otrzymanych związków, przy czym substancje nowe scharakteryzowane zostały w sposób szczególnie skrupulatny, co warte jest pozytywnego odnotowania.

Podsumowując ocenę rezultatów eksperymentalnych zaprezentowanych w rozprawie, można z przekonaniem stwierdzić, że są one bardzo wartościowe, w istotny sposób wnoszące wkład do wiedzy o chemii, fizykochemii i biochemii analogów witaminy E. Na bardzo pozytywne podkreślenie zasługuje fakt zamieszczenia niektórych wyników w aż sześciu publikacjach w czasopismach międzynarodowych z listy filadelfijskiej, co dobitnie wskazuje na ich wysoką wartość merytoryczną.

Tekst rozprawy przygotowany został rzetelnie i starannie. Jej część literaturowa jest obszerna, spójna i zredagowana kompetentnie na wysokim poziomie merytorycznym. Badania Własne stanowią doskonały przykład efektywnej realizacji ambitnego projektu naukowego. Praca napisana jest profesjonalnie, posiada nienaganną szatę graficzną i wolna jest, w mojej opinii, od uchybień merytorycznych. W pracy odnotować można nieliczne przeoczenia literowe i stylistyczne, które w niczym nie umniejszają mojej wysoce pozytywnej oceny ogólnej pracy.

Stwierdzam zatem, że w mojej opinii dysertacja całkowicie spełnia wszelkie kryteria ustawowe, ilościowe i jakościowe, stawiane rozprawom doktorskim i z pełnym przekonaniem składam wniosek do Rady Wydziału Biologiczno-Chemicznego Uniwersytetu w Białymstoku wniosek o dopuszczenie rozprawy Pani mgr Anety Baj do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, biorąc pod uwagę bardzo wysoki poziom merytoryczny pracy doktorskiej, udokumentowany zamieszczeniem części wyników w sześciu publikacjach w dobrych czasopismach, stawiam wniosek o wyróżnienie rozprawy.



Zbigniew Czarnocki