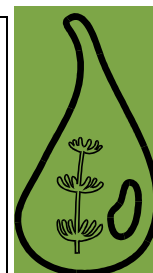




Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Chemiczny
Politechnika Wrocławska
Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław
Prof. Paweł Kafarski
e-mail: pawel.kafarski@pwr.wroc.pl
web: bioorganic.ch.pwr.wroc.pl



Wrocław 07.12.2015

Recenzja pracy doktorskiej Pani mgr inż. Anny Brodzkiej
„Badania nad opracowaniem chemoenzymatycznej syntezy enancjomerycznie czystych kwasów 3-arylo-4-pentenowych”.

Pani mgr inż. Anna Brodzka pracę doktorską wykonała w Instytucie Chemii Organicznej P.A.N. w Warszawie pod opieką Pana profesora Ryszarda Ostaszewskiego. Jej rozprawa doktorska to typowy przykład wykorzystania biotransformacji dla otrzymania bloków budulcowych użytecznych w syntezie leków. Celem jaki postawiła sobie Doktorantka było opracowanie enzymatycznej estryfikacji racemicznego kwasu 3-fenyl-4-pentenowego, tak aby uzyskać jego rozdział na enancjomery. Następnym krokiem było wykorzystanie tej procedury celem syntezy pochodnych tego kwasu zawierających podstawniki w pierścieniu benzenowym. Ciekawym rozszerzeniem badań było sprawdzenie, czy da się wykorzystać jako substraty kwasy nie zawierające fragmentu aromatycznego. Aby osiągnąć założony cel Pani mgr Anna Brodzka zdecydowała się na zastosowanie esteraz, w szczególności lipaz, jako stereoselektywnych katalizatorów reakcji estryfikacji. Doktorantka skoncentrowała się na użyciu nietypowych donorów reszty estrowej czyli: ortooctanów, ortomrówczanów, ortowęglanów, acetalu i ketali. Stosowała wprawdzie kinetyczny rozdział mieszaniny enancjomerów bazujący na tym iż jeden z nich znacznie szybciej ulegał estryfikacji niż drugi. Kolejną, logiczną modyfikacją było zastosowanie czynnika racemizującego niereaktywny izomer, czyli zastosowanie tzw. dynamicznego rozdziału kinetycznego.

Praca tego typu wymaga wykonania znacznej liczby eksperymentów, których celem jest optymalizacja warunków stosowanych reakcji – odpowiedniego doboru reagentów (enzymu, donora grupy estrowej i czynnika racemizującego) oraz warunków reakcji (rozpuszczalnika, pH, temperatury). Co gorsza optymalne warunki reakcji dobrane dla prostego rozdziału kinetycznego wcale nie muszą być optymalne w przypadku dynamicznego rozdziału kinetycznego – tak było również w tym przypadku. Doktorantka dokonała zatem wielu eksperymentów, a ich liczbę najlepiej obrazuje dwanaście tabel zawartych w pracy – każda z nich poświęcona wyborowi optymalnych warunków kolejnej reakcji. Systematyczna optymalizacja warunków wielu reakcji jest zresztą najsilniejszą stroną recenzowanej rozprawy. Pani mgr Anna Brodzka nie ograniczyła się do prostej konstatacji wyników. W kilku

przypadkach postanowiła również zbadać mechanizmy stosowanych reakcji wykazując przy tym zarówno dociekliwość jak i pomysłowość.

Wyniki uzyskane w czasie realizacji rozprawy doktorskiej są znaczące o czym stanowi fakt ich opublikowania w postaci dwóch artykułów w porządnym czasopiśmie. Mają one też znacznie praktyczne i dlatego stanowią podstawę czterech zgłoszeń patentowych.

Niestety, dobre wrażenie psuje sposób redakcji pracy. Sprawia ona wrażenie pisanej w znacznym pośpiechu – jest wiele niepotrzebnych powtórzeń, sporo chaosu (niektóre fragmenty napisane są ruchem konika szachowego) i określeń żargonowych. Najlepszym przykładem jest tu podrozdział 3.2, który powinien znaleźć się w części literaturowej, a nie w części poświęconej opisowi badań.

Tradycyjnie, praca poprzedzona jest przeglądem literatury, który wprowadza w tematykę pracy. Wstęp jest bardzo obszerny (ponad 40% objętości pracy) i dobrze pomyślany - za to gorzej napisany, znacznie gorzej niż część opisowa pracy. Znalazłem w niej sporo błędów ale omówię tylko wybrane i proszę Doktorantkę aby na nie nie odpowiadała gdyż odpowiedzi są oczywiste:

- ✦ na str. 7 Pani mgr Anna Brodzka pisze, że aby przeprowadzić reakcję katalizowaną enzymatycznie wystarczy zastosować 0,001 – 0,0001 % molowego enzymu. Tak rzeczywiście wynika z obliczeń, ale w praktyce używa się znacznych ilości enzymu;
- ✦ enzymy nie pracują ale działają (str. 9 i późniejsze);
- ✦ Schemat 4 (str. 16) jest skopiowany z oryginalnej pracy, ale w reakcji aldehydu z NBS nie może powstać ester – reakcja jest prowadzona w metanolu;
- ✦ co Autorka ma na myśli pisząc o „wysokich kosztach obsługi HPLC” (str. 19)?;
- ✦ mechanizm reakcji enzymatycznej **nie** różni się od klasycznej katalizy (str. 21), enzymy katalizują reakcje zgodnie z zasadami chemii – bardzo efektywnie ją wykorzystując;
- ✦ istnieje polska nazwa ketolaku, to znany lek (str. 31);
- ✦ nie można wydłużyć konwersji, można wydłużyć jej czas (str. 34);
- ✦ dynamiczny rozdział kinetyczny polega na połączeniu rozdziału kinetycznego z racemizacją niereaktywnego enancjomeru, a nie dwóch enancjomerów (str. 35);
- ✦ wolałbym aby pisać opracowanie procedury dynamicznego rozdziału kinetycznego, a nie opracowanie dynamicznego rozdziału kinetycznego;
- ✦ niefortunne są sformułowania „tożsamość atomów wodoru” i „są one pomieszane pomiędzy C i X”; (str. 45);
- ✦ liczba enzymów nie jest tożsama z ich ilością (str. 46);
- ✦ reakcja nie zachodzi za pomocą mechanizmu lecz według mechanizmu (str. 48);
- ✦ lipazy są stosowane w procesach chemoenzymatycznych ze względu na wysoką aktywność i **niską** selektywność (akceptują substraty of różnej budowie chemicznej). Natomiast wykazują one wysoką specyficzność (str. 50)
- ✦ na rysunku 7 dobrze byłoby pokazać strukturę LG 121071. Jest to związek ważniejszy niż jego prekursor (str. 51);
- ✦ ból nie jest zaburzeniem psychicznym (str. 52);

- ✧ przedostatnie zdanie na str. 52 nie jest potrzebne bo nieomal identyczne stwierdzenie można znaleźć wcześniej;
- ✧ nie bardzo rozumiem dlaczego reakcja enzymatycznej hydrolizy nitrilu ma być trudna do przeprowadzenia w laboratorium chemicznym (str. 56).

Natomiast opis przeprowadzonych badań, wnioski z nich wyciągane oraz część eksperymentalna napisane są lepiej, choć zawierają również sporo usterek redakcyjnych. Bardzo dobre wrażenie robią natomiast: opis eksperymentów, czyli część eksperymentalna oraz rozdział zatytułowany *Wnioski*. Najgorzej napisany jest rozdział 6.1. - Koncepcja i cel badań. Lepiej było go wydłużyć zamiast starać się o lapidarność i pochylić się bardziej nad jego treścią bo to ważny fragment pracy.

Na stronie 89 Autorka podsumowuje wyniki badań poświęconych doborowi donora grupy alkoksylowej w procesie estyfikacji badanego kwasu katalizowanej Novozymem 435. Czy wynik reakcji oznaczonej w Tabeli numerem 14 nie stoi jednak w sprzeczności z proponowanym mechanizmem reakcji?

Nie mogę też zgodzić ze stwierdzeniem na str. 110, że opracowane procedury rozdziału kinetycznego otwierają nowe możliwości w enancjoselektywnej syntezie tego rodzaju związków, to znaczy tych nie zawierających fragmentu aromatycznego. Lepiej byłoby powiedzieć – dają nadzieję.

Doktorantka starała się zadbać o odpowiednią redakcyjną i estetyczną stronę pracy, co nie zawsze się jej udawało. Praca nie jest obszerna i liczy nieco ponad 120 stron, a mimo to zawiera sporą liczbę błędów redakcyjnych i drobnych potknięć merytorycznych. Najistotniejsze poruszyłem już powyżej a pozostałe są nieco mniej spektakularne. Dodatkowo znalazłem też dość sporo drobnych błędów redakcyjnych, które pojawiają się na stronach: 15, 24, 34, 35, 41, 48, 49, 51, 59, 62, 71, 97 i 109. Nie zamierzam ich wymieniać i ich znalezienie pozostawiam Autorce.

Wymienione przeze mnie błędy i usterki choć nieco umniejszają wartość rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Brodzkiej nie zmieniają mojego zdania, że to dobra i wartościowa praca doktorska. Dlatego też stwierdzam, że praca ta spełnia wszystkie warunki, zarówno te ustawowe jak i te zwyczajowe, jakie stawia się rozprawom tego typu w Polsce i dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Instytutu Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W tym miejscu pojawia się problem, który przyszło mi postawić i rozwiązać. Zakres badań przedstawionych w pracy doktorskiej Pani mgr Anny Brodzkiej jest szeroki, a samo wykonanie badań wprost wzorowe. Wyniki uzyskane w trakcie badań zostały już opisane w postaci dwóch porządnych publikacji i są obiektem czterech zgłoszeń patentowych. Co więcej, Doktorantka jest współautorem czterech dodatkowych prac opublikowanych w czasopiśmie o wysokim standardzie międzynarodowym. To spowodowało, że mimo krytycznej oceny sposobu napisania rozprawy stawiam wnioski o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr Anny Brodzkiej – oczywiście pod warunkiem, że spełnione są wszystkie warunki jakie stawia Rada Naukowa Instytutu.