



dr hab. Grzegorz Litwinienko, prof. UW
Uniwersytet Warszawski
Wydział Chemii
Pasteura 1
02-093 Warszawa
tel. 22 8220211 w. 333
e-mail: litwin@chem.uw.edu.pl

Warszawa 01/06/2014

**Recenzja rozprawy doktorskiej magistra inżyniera Sylwestra Kurconia pt.: „Selektywne modyfikacje pochodnych kwasu kobyrinowego - nowe regulatory cykazy guanylowej”
przedłożona Radzie Naukowej Instytutu Chemii Organicznej PAN**

Aktywacja cykazy guanylowej sGC ma podstawowe znaczenie w procesach regulacji skurczu mięśni gładkich, pośrednio wpływając na stan ciśnienia krwi. W zdrowym organizmie aktywatorem enzymu jest tlenek azotu, NO, i jest to kolejny przykład szczególnego znaczenia tego rodnika w przekazywaniu sygnałów i regulacji procesów fizjologicznych (nagroda Nobla w 1998 roku za badania nad rolą tlenu azotu jako przekaźnika sygnałów w układzie krwionośnym oraz w roku 2002 za wyjaśnienie mechanizmu apoptozy). W tym miejscu można powiedzieć, że historia zatoczyła koło, ponieważ stosowane obecnie lekarstwa regulujące wydzielanie tlenu azotu zawierają nitroglicerynę, czyli substancję dzięki której Alfred Nobel ufundował nagrodę nazwaną później jego imieniem.

Stosowanie nitrogliceryny i innych związków uwalniających tlenek azotu i rozszerzających naczynia krwionośne wiąże się w ryzykiem występowania niepożądanych skutków ubocznych, dlatego poszukiwane są nowe substancje aktywujące cyklazę guanylową bez pośrednictwa tlenu azotu. Pochodne kwasu kobyrinowego mogą pełnić funkcję regulatorów tego enzymu, jednak konieczne jest przeprowadzenie badań, które przyczynią się do opisanie wpływu struktury pochodnych kwasu kobyrinowego na ich aktywność i wyjaśnią mechanizm oddziaływań enzym-aktywator. Celem pracy było otrzymanie serii pochodnych pod kątem uzyskania najbardziej aktywnych związków o potencjalnym zastosowaniu jako aktywatorów sGC.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pana magistra inżyniera Sylwestra Kurconia wykonana została pod kierunkiem prof. dr hab. Doroty Gryko (promotorem pomocniczym jest doktor Keith ó Proinsias) i wykonywana była w ramach projektu TEAM „Novel approach towards NO-free activators of sGC enzyme for medical treatment of heart

diseases” finansowanego przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej i Unię Europejską. Praca liczy 173 strony i opatrzona jest 216 przypisami. Cel i zakres badań został sprecyzowany na stronach 14-15. Należy podkreślić umiejętne przygotowanie pola badawczego, polegające na wyborze i opisie obiektów badań oraz na dokładnym nakreśleniu i podziale zakresu zadań przewidzianych do realizacji. Plany obejmowały opracowanie metod selektywnej funkcjonalizacji kwasu kobyrinowego w pozycji *c*-, pozycji *mezo*- oraz pozycji *d*-.

Część literaturowa (str. 16 -73, łącznie 57 stron), napisana jest w sposób przystępny i kompetentny. Doktorant zwięźle opisał znaczenie związków tetrapirolowych w biologii i medycynie, gdzie są one stosowane jako czujniki oraz substancje odtruwające w przypadkach zatrucia cyjankami. W dalszej części autor koncentruje uwagę na powiązaniu struktury porfirynoidów z ich właściwościami i aktywnością fotofizyczną. Połączone mostkami pierścienie tworzą tetrapirolowy układ aromatyczny o szczególnych właściwościach elektronowych, optycznych i spektroskopowych i doktorant umiejętnie powiązał te cechy z opisem zastosowania porfirynoidów w nowoczesnych terapiach przeciwnowotworowych jak terapia fotodynamiczna (PDT) oraz terapia borowo-neutronowa (BNCT).

Badania własne opisane są na stronach 74-125. Lektura tej części pracy, ujętej w szereg podrozdziałów, jest pouczająca zarówno dla osób, które chciałyby w przyszłości powtórzyć eksperymenty jak i dla tych badaczy, którymi kieruje jedynie ciekawość i chęć szczegółowego zapoznania się z metodologią selektywnej modyfikacji kwasu kobyrinowego. Należy podkreślić, że w momencie rozpoczynania projektu doktorskiego istniały doniesienia na temat modyfikacji pochodnych witaminy B₁₂ jedynie w pozycjach *c*- i *mezo*-, zatem podjęty przez Doktoranta temat jest nowatorski. Przeprowadzone syntezy lub próby syntez dotyczyły wymiany liganda aksjalnego, otrzymywania *c*-laktonu w celu zróżnicowania terminalnych grup estrowych a następnie otwierania *c*-laktonu i dalszych selektywnych modyfikacji kwasu kobyrinowego w pozycjach *c*- i *d*-. Doktorant opisał i dogłębnie przedyskutował warunki reakcji z etanoloaminą, prowadzącej do otrzymania kilku głównych produktów, a mianowicie *c*-monoamidu, *c,d*-diamidu i *d*-spirolaktonu, poszerzając dyskusję o problemy związane z optymalizacją otrzymywania każdego w tych produktów, zakresem i ograniczeniami stosowanej metodologii. Z kolei rozdział 3.3. poświęcony jest otrzymywaniu *mezo*-amidu poprzez stadium nitrozwiązku i aminy w tej właśnie pozycji. Opracowane metody sprzęgania *mezo*-aminy z kwasami karboksylowymi lub ich chlorkami pozwoliły zsyntezować osiem *mezo*-amidów. W osobnym rozdziale (3.4) Doktorant opisał tworzenie się produktu ubocznego i zidentyfikował tę substancję jako pochodną kwasu kobyrinowego posiadającą siedmioczłonowy pierścień laktamu łączącego pozycję *d*- i *mezo*-. To właśnie modyfikacja tego laktamu umożliwia otrzymywanie pochodnych w pozycjach *d*- oraz, dodatkowo, w pozycjach *mezo*-.

Rozdział 3.5 zawiera opis nieudanych prób sprzęgania w pozycji *mezo*- przy użyciu katalizatorów metaloorganicznych oraz metodą bezpośredniego arylowania. Chociaż cel ten nie został osiągnięty, to decyzja o włączeniu opisu tych eksperymentów jest ze wszech miar uzasadniona, albowiem poszerza wiedzę o reaktywności pochodnych kwasu kobyrinowego.

W kolejnym, krótkim rozdziale 3.6 magister Sylwester Kurcoń opisał i zidentyfikował a także ustalił optymalne warunki powstawania związku o strukturze dimerycznej, natomiast obszerny rozdział 3.7 to dokładny raport i dyskusja dotycząca mechanizmu powstawania związku zawierającego grupę *c*-okso i nazwanej przez autora kobryketonem, po czym związek ten był przekształcony w nor-pochodną i został wykorzystany do otrzymywania pentaestru w postaci mieszaniny stereoizomerów.

Część związków otrzymanych i opisanych przez doktoranta w rozdziałach 3.2-3.7 została przesłana do badań biologicznych wykonanych w University of Texas, Health Science Center w Houston. Badania te miały na celu wyznaczenie zdolności badanych analogów do aktywowania cykazy guanylowej, a ich rezultaty opisane są w rozdziale 3.8., z którego wynika, że najbardziej efektywne jest wprowadzenie podstawników izopropylimidowych do pozycji *c*- i *d*-. Rozdział ten jest napisany bardzo zwięźle, pomimo to jest klarowny i zrozumiały nawet dla czytelnika niebędącego ekspertem.

Dokładny opis syntez, identyfikacji produktów końcowych i pośrednich oraz szczegóły metodologiczne i aparaturowe zawarte są w części eksperymentalnej, na stronach 125-165. Na podstawie tej części pracy można stwierdzić, że doktorant bardzo dobrze opanował arkana interpretacji wyników badań w celu identyfikacji / potwierdzenia struktury otrzymanych związków.

Strukturę i sposób przedstawienia pracy uważam za prawidłowy. Załączone ilustracje, zarówno w części literaturowej jak i w części eksperymentalnej są logicznym uzupełnieniem tekstu, podpisy są jednoznaczne i informatywne (choć dziwi umieszczanie podpisów nad wykresami zamiast, jak wskazuje źródłostów słowa „podpis”, pod wykresami). Pracę kończy spis odnośników literaturowych zawierający 216 pozycji. Całość spełnia wymagania stawiane tekstom zarówno raportów naukowych jak i dysertacjom stanowiącym podstawę przyznawania stopni naukowych. Dokonując ogólnej oceny rozprawy doktorskiej uważam, że podjęty przez doktoranta temat jest ważny dla nauki, został on odpowiednio precyzyjnie sformułowany a sposób rozwiązania stawianych problemów charakteryzuje się nowatorstwem. Prezentacja badań własnych wskazuje na znajomość i twórcze wykorzystanie literatury przedmiotu, umiejętność wykorzystania wiedzy literaturowej do zaplanowania, zorganizowania i opracowania syntez oraz do przedyskutowania mechanizmów a także, co również bardzo istotne, do wyjaśnienia ewentualnych niepowodzeń. Doktorant wykazał się umiejętnością dostrzegania i formułowania problemów badawczych na każdym etapie pracy, po czym przystępował do ich twórczego rozwiązania lub, jeśli to nie było możliwe, do wyjaśnienia przyczyn niepowodzeń, co w syntezie organicznej jest cenną umiejętnością.

Doktorant nie ustrzegł się mankamentów, związanych głównie z nieprawidłowym stosowaniem interpunkcji, nadużywaniem żargonu (str. 20: „szybka reakcja dała”, „tuba ciśnieniowa”, str. 29: „ modyfikacje były tematem licznych przeglądów”), błędna pisownia (str. 26 „wnika w głąb tkanki, co najmniej na głębokość 1 centymetra”, powinno być rozłącznie „wnika w głąb tkanki”). Często zdarzają się błędy stylistyczne np. nagminne stosowanie zaimka wskazującego „tą” zamiast „tę” (np. nieprawidłowe zwroty typu „tą

reakcję”, „tą metodę” „tą samą technikę” zamiast *tę reakcję, tę metodę, taką samą technikę*. itp.), nadużywanie sformułowań „w przypadku”, „w wypadku” oraz „skutkuje”. Natomiast zdanie na stronie 86: „... otrzymałem związki 279-281 będące pierwszymi pochodnymi kwasu kobrynowego, selektywnie zmodyfikowanymi...” kojarzy się z terminologią typową dla rachunku różniczkowego, więc bezpieczniej by było napisać: „po raz pierwszy otrzymałem pochodne kwasu...” lub „... otrzymałem pochodne 279-281, których wcześniej nie opisano w literaturze...”. W kilku miejscach błędne jest nazewnictwo: na str. 72 chlorek benzenosulfonowy (benzenosulfonowy?), na str. 85 „struktura krystalograficzna” (prawidłowo powinno być „struktura krystaliczna”, na str. 86 „proton w pozycji *mezo*- wykazuje charakter częściowo aromatyczny” (co autor miał na myśli?), kilkukrotne stosowanie sformułowania „rozszerzony chromofor”, np. na stronach 99 i 104. Powyższe zarzuty dotyczą jednak warstwy językowej i nie są powiązane z merytoryczną wartością pracy.

Podsumowując, tematykę pracy należy uznać za oryginalną a podjęty przez magistra inżyniera Sylwestra Kurconia temat charakteryzuje się dużą innowacyjnością i jest istotny zarówno ze względów naukowych jak i aplikacyjnych. Za największe osiągnięcia opisanego w rozprawie projektu doktorskiego uważam: (i) opracowanie metody syntezy pochodnych witaminy B₁₂ poprzez selektywne rozerwanie c-laktonu aminami, co prowadzi do otrzymywania mono- i diamidów oraz spirolaktonu, (ii) opisanie i wykorzystanie reakcji tworzenie siedmioczłonowego pierścienia laktamowego w pochodnej kwasu kobrynowego oraz (iii) prace nad syntezą, mechanizmem powstawania i wykorzystaniem pochodnej zawierającej grupą c-okso (kobryketon).

Dodatkową, ale niezwykle istotną miarą merytorycznej wartości pracy jest fakt, że część wyników została opublikowana w trzech doskonałych czasopismach naukowych z dziedziny chemii organicznej: w *Organic Letters* 2010, 12, 4674-4677, w *European Journal of Organic Chemistry* 2012, 1, 154-159, oraz w *Organic Letters* 2013, 78, 4115-4122.

Tekst pracy doktorskiej świadczy o tym, że Pan magister Sylwester Kurcoń jest autorem oryginalnego rozwiązania problemu naukowego i wykazał się dużą wiedzą teoretyczną i praktyczną w zakresie chemii organicznej. Rozprawa spełnia wymagania określone w art. 13 ustawy z dn. 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65/2003 poz. 595 z późniejszymi zmianami), dlatego wnioskuję o dopuszczenie Pana magistra inżyniera Sylwestra Kurconia do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, biorąc pod uwagę zakres badań i ważkość podejmowanych zagadnień, popartą dobrym dorobkiem publikacyjnym, stawiam wniosek o wyróżnienie tej rozprawy.

Warszawa, 1 czerwca 2014