

Warszawa, 03.08.2023

Dr hab. Elżbieta Nowak
Laboratorium Struktury Białka
Międzynarodowy Instytut Biologii
Molekularnej i Komórkowej w Warszawie
e-mail: enowak@iimcb.gov.pl
tel.: (+48) 22 5970721

Recenzja pracy doktorskiej Pana mgr Dominika Langer'a zatytułowanej "Rentgenowska analiza strukturalna i charakterystyka fizykochemiczna pochodnych kwasu glicyretynowego i oleanolowego o potencjalnym zastosowaniu w medycynie".

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska została wykonana w Katedrze i Zakładzie Technologii Chemicznej Środków Leczniczych pod kierunkiem Pani promotor prof. Ewy Tykarskiej oraz promotora pomocniczego Pani dr Barbary Wicher.

Przedmiotem badań Doktoranta są związki należące do grupy pentacyklicznych triterpenoidów. Triterpeny, to obecnie jedne z najbardziej intensywnie badanych związków, do tej pory zidentyfikowano ponad ok. 30 000 związków pochodzenia naturalnego. Naturalnie występujące triterpenoidy są reprezentowane przez ponad 100 różnych typów szkieletów. Natywne triterpenoidy, w szczególności pochodne oleanu, są przedmiotem zainteresowania wielu grup badawczych ze względu na ich dostępność i liczne aktywności biologiczne, w tym przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, cytotoksyczne, i inne. Należy zaznaczyć, że cząsteczki triterpenowe są silnie hydrofobowe, co znacznie ogranicza ich zastosowanie jako skutecznych środków farmakologicznych. Obecnie jednym z najczęstszych sposobów zwiększenia skuteczności i biodostępności triterpenoidów jako leków jest ich chemiczna modyfikacja. Jednocześnie projektowanie nowych leków nieodłącznie wiąże się z ich analizą rentgenostrukturalną, w celu poznania procesów biologicznych na poziomie molekularnym. W ten nurt wpisują się prace prowadzone przez Pana mgr. Dominika Langer'a.

Doktorant za obiekt swych badań wybrał estry kwasu oleanolowego (OA), 11-okso OA i glicyretynowego (GE). Oprócz klasycznej rentgenografii strukturalnej do badań wykorzystał

termograwimetrię oraz różnicową kalorymetrie skaningową. Uzyskane wyniki krystalograficzne zostały wzbogacone o obliczenia energii oddziaływań międzycząsteczkowych.

Rozprawa doktorska mgr. Langerera przedstawiona została jako cykl czterech prac opublikowanych w latach 2022-2023. Trzy prace mające charakter badawczy opublikowane zostały w specjalistycznych czasopismach chemicznych, *Acta Cryst. B* (2 prace) oraz *Int. J. Mol. Sci.* Ostatnia z publikacji będąca pracą przeglądową została opublikowana w *Eur. J. Med. Chem.* We wszystkich pracach Doktorant jest pierwszym autorem, a w ostatniej z nich także jednym z dwóch autorów korespondujących, co jest warte podkreślenia szczególnie na tym etapie ścieżki naukowej. Zaznaczyć należy spójność tematyczną trzech pierwszych prac jak i czasopism, w których zostały opublikowane. Ponieważ każda z prac była wnikliwie analizowana i oceniana przez edytorów i co najmniej dwóch recenzentów zrezygnuję z ich oceny. Są to solidnie wykonane, bardzo dobre prace.

Wg załączonych oświadczeń autorskich wkład Doktoranta w powstanie w/w publikacji jest istotny i obejmował: samodzielną syntezę kilku z prezentowanych związków chemicznych oraz ich charakterystykę fizykochemiczną, przeprowadzenie krystalizacji i uzyskanie kryształów, wykonanie pomiarów dyfraktometrycznych, ustalenie struktur krystalicznych i ich analizę a także udział w przygotowaniu manuskryptów. Oceniając dorobek publikacyjny, stanowiący formalną podstawę dysertacji, w tym udziały autorskie Doktoranta, mogę stwierdzić, że spełnia on, w sposób wystarczający, wymogi formalne stawiane pracom doktorskim.

Publikacjom zamieszczonym w rozprawie towarzyszy 62-stronicowy komentarz, zawierający spis treści, opis dorobku naukowego Doktoranta, wprowadzenie do tematyki badawczej, zwięzły opis metodyki badawczej, cel badań i zadania postawione przed Doktorantem, skrótowe omówienie wyników, podsumowanie, spis literatury liczący 101 pozycji oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Jest to podział klasyczny spotykany często w opracowaniach naukowych. Dodatkowo na początku pracy Autor podaje wykaz stosowanych skrótów.

W mojej opinii opis jest przedstawiony w sposób jasny i klarowny i czyta się go z przyjemnością. Jednakże, biorąc pod uwagę obszerność tematu, jakim są związki triterpenoidowe, wstęp do pracy jest potraktowany bardzo pobieżnie i skrótowo, pozostawiając pewien niedosyt dla czytającego, który bezpośrednio nie jest związany z tematem. W następnej kolejności Autor

zwięźle przedstawia motywy strukturalne badanych związków bazując na analizie struktur dostępnych w bazie CSD oraz przedstawia metodykę. Dalej zaprezentowany jest cel badań, którym było zbadanie motywów strukturalnych w kryształach badanych estrów, analiza oddziaływań międzycząsteczkowych, poszukiwanie odmian polimorficznych oraz charakterystyka termiczna wybranych kryształów.

Z treści pracy wynika, że cele te konsekwentnie były przez Doktoranta realizowane. Mgr Langer uzyskał 16 struktur krystalicznych, w których dokładnie przeanalizował oddziaływania międzycząsteczkowe i motywy strukturalne. Wiodącym motywem są struktury warstwowe lub helikalne, a wiodącym motywem jednowymiarowym jest wstęga. Za bardzo ciekawe, uważam powiązanie wartości parametru komórki elementarnej z rodzajem i kierunkiem obserwowanej wstęgi. Dla 2 spośród 14 badanych związków Doktorant zidentyfikował odmiany polimorficzne. Dla jednego z nich zaobserwował zjawisko przemiany fazowej w monokryształach, co w mojej opinii jest jednym z najbardziej interesujących wyników tej pracy. W przypadku drugiego związku, odmiany polimorficzne uzyskał w procesie krystalizacji. Charakteryzując odmiany polimorficzne estru n-butyloвого Doktorant wykazuje, że stabilizacja struktury następuje głównie na skutek słabych oddziaływań van der Waalsa, a nie poprzez wiązania wodorowe, co jest ciekawe ale warto poddać szerszej dyskusji.

Mimo, iż praca jest przygotowana starannie, Doktorant nie uniknął błędów głównie natury edytorskiej. Przykładowo (str. 27) cząsteczki związane są osią śrubową 2₁, rozumiem, że to był skrót myślowy, a cząsteczki są powiązane operacją symetrii śrubowej osi dwukrotnej, podobnie pisząc „R3-n-but-OA (str. 36), należy do grupy przestrzennej R3 o wysokiej symetrii” podejrzewam, że chodziło o wysoko symetryczną grupę przestrzenną R3. W rozprawie naukowej unikałabym nieprecyzyjnych określeń „prawie” czy „bardziej”, szczególnie gdy odnosi się to do wyników badań eksperymentalnych. Doktorant używa również określeń takich jak: „prawie identyczne” (str. 36), „bardziej poziomej” (str. 19). Doktorant nie objaśnia skrótu Mr występującego w tabelach z danymi krystalograficznymi, który zapewne został przeniesiony z tabeli przygotowywanej do publikacji w języku angielskim. Ponadto, w języku polskim jako separator dziesiętny używany jest przecinek. Doktorant naprzemiennie używa kropki i przecinka, uwaga ta dotyczy całego opisu. Uwagi te jednakże nie zmniejszają wartości merytorycznej pracy, którą oceniam bardzo pozytywnie.

Podczas czytania niniejszej pracy nasunęło mi się kilka pytań i uwag:

1. Autor we wstępie omawia tylko izomery β , czy również podobne motywy strukturalne są obserwowane dla izomerów α ?
2. W wielu miejscach opisu jest mowa o wyznaczeniu parametrów podobieństwa struktur, jednakże nie ma przedstawionych ich wartości. Proszę o podanie stopnia izostrukturalności badanych struktur w poszczególnych grupach przestrzennych.
3. Czy modyfikacje chemiczne kwasów oleanolowego i glicyretynowego do postaci estrów wpływały znacząco na ich właściwości fizykochemiczne poprawiając ich biodostępność?
4. Zaskakującym jest dla mnie fakt, iż wg obliczeń energetycznych stabilizujące są oddziaływania van der Waalsa, a nie oddziaływania wodorowe, które są znacznie silniejsze. Czy Doktorant mógłby się odnieść do tego faktu i szerzej go przedyskutować?
5. Autor wspomina o symulacji obrazu dyfrakcyjnego kryształu o symetrii R3. Czy mógłby przybliżyć w jaki sposób ta symulacja została wykonana?
6. W przypadku kryształów estrów kwasu OA tworzących strukturę helikalną Doktorant mówi o pustych przestrzeniach, jak duże są te przestrzenie i czy możliwe byłoby uzyskanie związków typu gospodarz : gość w tym przypadku?

Podsumowując, ocena przedstawionej pracy jest wysoka. Doktorant dokonał świadomego wyboru obiektu badań, dysponując dobrym warsztatem badawczym, wykorzystał spektrum metod badawczych, z właściwą znajomością tematu zinterpretował otrzymane wyniki i je przeanalizował, osiągając tym samym założone cele badawcze. W związku z powyższym stwierdzam, że rozprawa spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim w myśl ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669) i wnoszę o dopuszczenie mgr. Dominika Langerę do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Elżbieta Nowak

