

Dr hab. Stanisław Porwański, prof. UŁ

Łódź, 20.02.2025 r.

Katedra Chemii Organicznej i Stosowanej

Wydział Chemii UŁ

tel.: (048) 042 635 57 64

e-mail: stanislaw.porwanski@chemia.uni.lodz.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Andrusiak zatytułowanej „Opracowanie efektywnej metody syntezy ksantohumolu, badanie jego właściwości i enkapsulacja”.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Joanny Andrusiak została zrealizowana w ramach doktoratu wdrożeniowego w oparciu o umowę trójstronną pomiędzy Doktorantem, przedsiębiorstwem Synthex Technologies Sp. z o.o., a Uniwersytetem Mikołaja Kopernika w Toruniu. Promotorem doktoratu z ramienia Uczelni był prof. dr hab. Jacek Ścianowski, opiekunem zaś ze strony przedsiębiorstwa dr Marcin Budny.

Badania przeprowadzone w trakcie doktoratu wpisują się w szeroką tematykę zainteresowań promotora w tym prace nad modyfikacją związków pochodzenia naturalnego jakimi są terpeny. Ogromną zaletą tej klasy połączeń, jest zaliczanie ich do grupy t.zw. surowców odnawialnych.

Z formalnego punktu widzenia układ pracy jest typowy dla doktoratów wdrożeniowych i obejmuje spis treści, streszczenie, część literaturową ściśle powiązaną z tematyką badawczą zawartą na 34 stronach. Wyniki i dyskusja wraz z podsumowaniem zajmują 28 stron, dalej 33 strony części eksperymentalnej. Dysertację kończy 131 pozycji odnośników literaturowych.

W streszczeniu ocenianej rozprawy doktorskiej mgr Joanna Andrusiak zapoznaje czytelnika z tematyką badawczą oraz postawionymi przed nią celami eksperymentalnymi, którymi było poszukiwanie nowych, skutecznych procedur otrzymywania ksantohumolu. Przedstawia szeroką gamę leczniczych właściwości ksantohumolu, akcentując słabą wydajność jego pozyskiwania ze źródeł naturalnych, w tym przypadku znanego wszystkim chmielu. Podane informacje uświadamiają czytelnikowi jak bardzo ciekawą rośliną jest chmiel, który do tej pory kojarzył mu się zapewne tylko z przemysłem piwowarskim.

We wstępie dysertacji Pani Andrusiak przytacza przykłady zastosowania 1000 chemicznych substancji zawartych w szyszkach chmielu, z podaniem oryginalnych źródeł literaturowych. Dalej prezentuje rodzinę chalkonów prenylowanych z której pochodzi ksantohumol, obiekt badawczy doktorantki. Jego szerokie, potencjalne zastosowanie w kosmetyce czy suplementach diety, potwierdza trafność wyboru tego naturalnego produktu przez Panią Andrusiak.

W części literaturowej Autorka podaje inne źródła pozyskiwania ksantohumolu m.in. z roślin występujących w Afryce czy Azji. Następnie powraca do głównego źródła jego obecności czyli szyszek chmielowych. Na schemacie **1** pokazuje całą gamę prenylowanych chalkonów i flawonów występujących w tej roślinie. Dowiadujemy się także o historii odkrycia związku sięgającej roku 1913. W tekście zawarte są informacje o jego izolowanie z naturalnych surowców, głównie na drodze ekstrakcji.

W kolejnym schemacie **2** Doktorantka obrazuje biosyntezę ksantohumolu. W tym miejscu nie ustrzegła się błędu w strukturach kwasu cynamonowego (**17**) i *p*-kumarowego (**18**).

Studiując dalsze fragmenty pracy znajdziemy wiadomości na temat metod syntezy ksantohumolu. Niektóre z nich są modyfikacjami wcześniej opisanych już pomysłów. Zauważyć można, że wydajności końcowe produktu we wszystkich prezentowanych przemianach są bardzo niskie, dlatego badania podjęte przez Panią Andrysiak w celu poprawy wydajności całej syntezy, czy tylko jej fragmentów są w pełni uzasadnione.

Szczególnie interesująca dla oceniającego pracę, wydaje się otrzymywanie ksantohumolu z glukozy (Schemat **9**). Jednak wydajność tej reakcji jest czynnikiem zniechęcającym do jej odtwarzania.

W rozdziale „Biologiczne właściwości ksantohumolu”, raz jeszcze spotykamy się z opisem całego spektrum jego działania, z którego najważniejsze wydaje się zastosowanie w terapii nowotworowej.

W następnym rozdziale opisane są sposoby wprowadzenia łańcucha prenylowego do układu aromatycznego z wykorzystaniem na ostatnim etapie syntezy, przegrupowania Claisena. Na schemacie **11**, widzimy błąd w nazwie związku **52**, również na schemacie **18** nazwa związku **73** na schemacie nie zgadza się z podpisem pod nim.

W rozdziale 1.7.1. Autorka opisuje bardzo ważną grupę pochodnych cukrowych jakimi są cyklodekstryny z przytoczeniem m.in. ciekawych zdolności kompleksowania gościa w kompleksach typu gość/gospodarz.

Ta część pracy w większości napisana jest poprawnym językiem i nie budzi większych zastrzeżeń. Obowiązkiem recenzenta jest jednak podać nawet te drobne uchybienia.

- W związku **128**, niepotrzebnie pogrubiony atom jodu; różne grubości czcionki tego pierwiastka znajdujemy również w innych fragmentach pracy.

- Wydaje się niefortunne stwierdzenie na stronie 41 „Inną metodą jest mielenie cyklodekstryny z ligandem....”.

- Na rysunku **7** przedstawione struktury cyklodekstryn (m.in. atomy tlenu nałożone na siebie), dla czytelnika który zajmuje się cukrami, tak narysowane wzory są trudne do zaakceptowania.

W rozdziale wyniki i dyskusja doktorantka raz jeszcze przypomina główne cele pracy. Na początku badań, postanowiła powtórzyć reakcję opisaną w 2007 roku aby pozyskać odpowiednią ilość ksantohumolu dla firmy partnerskiej oraz by dysponować tym związkiem jako wzorcem w przyszłych syntezach.

Pierwszym etapem tej metody jest reakcja acylowania Fiedela-Craftsa którą udało się przeprowadzić z dobrą wydajnością 68%. Gorzej poszło przy zabezpieczeniu grup hydroksylowych, w reakcji zaś Williamsona wydajność była bardzo dobra i wynosiła 93%.

Przy oczyszczaniu produktu **26** doszło do odbezpieczenia jednej z grup hydroksylowych co zostało potraktowane jako możliwość sprawdzenia przydatności niespodziewanego związku

w projektowaniu nowej czy zmodyfikowanej syntezy ksantohumolu. Nadanie numeru **26B** nowej strukturze uważam za błąd.

Rodzą się też pytania:

1. Czy autorka podjęła jakieś próby przeciwdziałania tym niekorzystnym efektom zmieniając fazę stałą czy neutralizując żel krzemionkowy za pomocą np. trietyloaminy?
2. Czy w mieszaninie poreakcyjnej oprócz związku **28B** nie było obecności produktu jako wynik metylowania dwóch grup hydroksylowych?
3. Autorka dziwi się różnicą w wydajnościach związków **28A** i **28B** sugerując w przytoczonym opisie „Co zaskakujące całkowicie zabezpieczony związek **30A** otrzymałam w tych warunkach z wydajnością.....”, że reakcje były prowadzone w tych samych warunkach. Na schemacie **41** te warunki są zdecydowanie różne. Proszę o komentarz.

Podkreślić należy, że udało się Pani uzyskać w podjętej próbie ksantohumol z wydajnością 7%, co jest wynikiem bardzo dobrym dla początkującego badacza w starciu ze związkami pochodzenia naturalnego.

Kolejnym pomysłem doktorantki było wykorzystanie grup benzytowych przy zabezpieczaniu floroglucynolu (**23**) (Schemat **43**) by z takimi zabezpieczeniami prowadzić dalsze przemiany. Nie za bardzo rozumiem sens pierwszego etapu, w którym Doktorantka zabezpieczała związek **23** grupami acetylowym a następnie wymieniała na benzytowe. Czy nie można było od razu wprowadzić takie zabezpieczenia? Czy zabezpieczenia benzytowe próbowała Pani osiągnąć używając zamiast chlorku, bromek benzylu?

Trudności pojawiły się także podczas próby acylowania FriedlaCraftsa. Zaplanowane etapy syntezy przyniosły oprócz zaskoczeń, także wiele niespodziewanych ale i ciekawych związków. Dalszą przygodę ze związkiem **23** obserwujemy na schemacie **47**. Studiując go szczegółowo zauważmy, że w tym przypadku problemy pojawiły się w dwóch przemianach tzn. w przegrupowaniu Claisena eteru **148** (maksymalna wydajność 40%) i podczas odbezpieczania grup benzytowych.

Powyższe przeszkody nie zniechęciły Pani Andrusiak do floroglucynolu. Postanowiła kontynuować poszukiwania, zaprzęgając do jego modyfikowania reakcję Suzuki-Miyaura. Swoją przygodę zakończyła jednak tylko na sprzęganiu kwasu fenyloboronowego **168** z bromkiem prenylu (Schemat **56**). Proponuje także dalsze poszukiwania (ewentualnemu następcy), które mogą doprowadzić do końcowego produktu jakim jest pożądaný ksantohumol. W międzyczasie podczas swych badań, Autorka przeprowadziła szereg prób i udało jej się wyjaśnić wiele skomplikowanych zagadnień związanych z niespodziewanych przebiegiem niektórych reakcji.

W kolejnej próbie wyjściowym związkiem do osiągnięcia zamierzonego celu była naringenina. Autorka postanowiła zmodyfikować znaną już w literaturze metodę. Ważnymi jej wyzwaniem były reakcje Mitsunobu i przegrupowanie Claisena. Ciekawym pomysłem na pewnym etapie przemian było metylowanie za pomocą deuterowanego jodku metylu. Udało się w ten sposób otrzymać znacząco deuterem ksantohumol **1b**. Sukcesem zakończyły się także optymalizacje warunków przegrupowania Claisena i reakcji alkilowania. Warto zaznaczyć, że modyfikacja opisanej powyżej metody pozwoliła zwiększyć jej wydajność do 19.8%.

Deuterowany analog posłużył do ilościowego oznaczenia metodą rozcieńczeń izotopowych ksantohumolu w dwóch markach polskiego piwa.

Aby zapobiec izomeryzacji ksantohumolu w ewentualnych produktach kosmetycznych, Doktorantka wykorzystwała właściwości kompleksowania przez cyklodekstryny jako gospodarzy innych cząsteczek czyli gości. Jak pisze „przeprowadziłam jego enkapsulację”.

Co prawda, termin ten jest bardzo szeroko stosowany m.in. w informatyce, ale w przypadku chemii związków pochodzenia naturalnego myślę, że nie powinien być używany.

Następnie przebadala odporność na utlenianie ksantohumolu zamkniętego w powłoce cyklodekstryny.

Podczas opisu syntez przy niektórych nazwach związków, ich numery podawane były w nawiasach chociaż ich nazwy nie były pełne np. (kwas boronowy **168**) strona 59.

W podsumowaniu Doktorantka prezentuje informacje na temat zrealizowanych celów badawczych. W części eksperymentalnej znajdujemy opis procedur badawczych jak również dane spektroskopowe otrzymanych produktów.

Praca ze związkami pochodzenia naturalnego nie należy do łatwych, co może zaświadczyć piszący tą recenzję. Dlatego każdy sukces na tym polu warty jest zauważenia.

W ramach swoich badań Pani Andrusiak wykazała się bardzo dużymi umiejętnościami przy planowaniu i realizacji tak odmiennych reakcji jak przegrupowanie Claisena, z drugiej strony reakcji Mitsunobu, czy przy otrzymywaniu kompleksów typu gość/gospodarz. Oczyszczanie często skomplikowanych mieszanin poreakcyjnych, także wymaga sporych manualnych zdolności.

Modyfikacja znanej w literaturze syntezy z wydajnością 19.8% wydaje się dla mniej obeznanego czytelnika nieudana, jednak jest to progres o ponad 100%. Miarą sukcesu w przypadku doktoratu wdrożeniowego są dane odnośnie zysków co świadczą liczby przedstawione w tabeli zawartej w posumowaniu. Ilość sprzedanego kompleksu ksantohumolu z cyklodekstryną wzrosła z 200g w 2020 roku do 5kg w 2024.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Joanny Andrusiak spełnia warunki określone w artykule 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku (Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce Dz.U z 2018 r., poz. 1668 z późniejszymi zmianami). Wnoszę zatem do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

St. Porwien'ski