



Politechnika Łódzka
Instytut Chemii Organicznej



Prof. dr hab. inż. Tomasz Janecki
Politechnika Łódzka
Instytut Chemii Organicznej
Ul. Żeromskiego 116
90-924 Łódź
Tel: +48 426313224
E-mail: tomasz.janecki@p.lodz.pl

Łódź, 29.01.2025

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

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska magister Joanny Andrusiak zrealizowana została w ramach doktoratu wdrożeniowego, w oparciu o umowę trójstronną pomiędzy Doktorantką, przedsiębiorstwem Syntex Technologies Sp. Z o.o. i Uniwersytetem Mikołaja Kopernika w Toruniu. Promotorem rozprawy jest prof. dr hab. Jacek Ścianowski z Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, a opiekunem ze strony przedsiębiorstwa Syntex Technologies Sp. Z o.o. dr Marcin Budny.

Rozprawa poświęcona jest opracowaniu nowej metody syntezy ksantohumolu, naturalnie występującego chalkonu zawierającego grupę prenylową (3-metylobut-2-enylową). Jest to związek występujący w żeńskich kwiatostanach chmielu mający silne właściwości antyoksydacyjne, przeciwzapalne, przeciwgrzybiczne czy antywirusowe. Z tego powodu jest on wykorzystywany, między innymi, w kosmetykach chroniących skórę przed starzeniem czy w suplementach diety. Ponieważ zawartość ksantohumolu w żeńskich kwiatostanach chmielu jest niewielka a jego izolacja z materiału naturalnego poprzez wielokrotne ekstrakcje mało efektywna, to opracowanie chemicznej metody syntezy tego związku wydaje się zadaniem w pełni uzasadnionym i celowym. Dodatkowo Doktorantka postanowiła zbadać możliwość zwiększenia stabilności ksantohumolu, który ma skłonność do ulegania wewnątrzcząsteczkowej addycji-1,4, tworząc jego kompleks z cyklodekstryną.

ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź, budynek A27
tel. +48 42 631-31-40, w3i32@adm.p.lodz.pl
Adres do korespondencji:
ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź



Ocena formalna

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska ma charakter badawczo-wdrożeniowy i zawiera 116 stron. Jej układ jest klasyczny i typowy dla rozpraw doktorskich. Obejmuje ona streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz stosowanych skrótów, spis treści, wstęp z zarysowanym celem pracy, część literaturową przedstawiającą aktualny stan wiedzy związanej z tematyką rozprawy (29 stron), wyniki badań własnych z podsumowaniem (27 stron), oraz część eksperymentalną zawierającą procedury syntetyczne i analizę fizykochemiczną otrzymanych pochodnych (32 strony). Uzupełnieniem treści rozprawy jest spis literatury liczący 131 pozycji. Oddzielny załącznik przedstawia dorobek naukowy Doktorantki, na który składają się trzy publikacje w czasopismach z tzw. „listy filadelfijskiej”, trzy patenty oraz dwie prezentacje posterowe na konferencjach krajowych. Doktorantka realizowała też dwa granty wydziałowe. Z wymienionych pozycji jedna publikacja i dwa patenty dotyczą tematyki, która opisana jest w rozprawie doktorskiej.

Podsumowując stwierdzam, że pod względem formalnym praca spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim.

Ocena merytoryczna

Część literaturowa

Część literaturowa rozprawy rozpoczyna się od informacji na temat ksantohumolu, sposobu jego izolacji ze źródeł naturalnych, biosyntezy, właściwości biologicznych i opisanych w literaturze metod syntezy. Ten fragment części literaturowej bardzo dobrze wprowadza czytelnika w tematykę pracy. W drugiej, obszerniejszej części omówione są opisane w literaturze sposoby wprowadzania grupy prenylowej do pierścienia aromatycznego. To, w mojej opinii najciekawszy fragment części literaturowej, w którym pokazano jak można wprowadzić grupę prenylową wykorzystując przegrupowania Claisena oraz *para*-Claisena w obecności wysokowrzących rozpuszczalników, a także różnych kwasów Lewisa. Omówione są też metody wykorzystujące metalowanie układów aromatycznych, kompleksy metali przejściowych czy reakcje bezpośredniego C-alkilowania fenoli halogenkiem prenylu. Na koniec omówione są budowa i właściwości cyklodekstryn oraz ich zastosowania w przemyśle farmaceutycznym do tworzenia kompleksów z lekami co wpływa na ich właściwości farmakokinetyczne i ulepsza formulację odpowiednich postaci leków.

W mojej ocenie część literaturowa dobrze wprowadza czytelnika w aktualny stan wiedzy dotyczącej omawianych w rozprawie zagadnień i bardzo dobrze świadczy o przygotowaniu Doktorantki do realizacji zamierzonego celu badań.

Część ta napisana jest klarownym językiem i czyta ją się z przyjemnością. Z obowiązku recenzenta przedstawiam kilka drobnych uwag.

- 1) Z reguły dla opisywanych reakcji podawana jest wydajność, ale dla metody otrzymywania ksantohumolu z wykorzystaniem zmodyfikowanych genetycznie drożdży (str. 21) wydajności nie podano.
- 2) Brak odnośników do testów ksantohumolu na nowotworowych liniach komórkowych (str. 22).

Badania własne

W rozdziale Wyniki i dyskusja przedstawione zostały badania przeprowadzone przez Doktorantkę. Zdecydowana większość tego rozdziału poświęcona jest próbom opracowania nowej metody syntezy ksantohumolu i optymalizacji poszczególnych reakcji. Początkowo Doktorantka odtworzyła jedną z metod literaturowych otrzymując wzorzec ksantohumolu. Następnie opisane są różne sekwencje reakcji, w których Autorka, wykorzystując między innymi reakcję prenylowania pierścienia aromatycznego, przegrupowanie Claisena i kondensację Claisena-Schmidta, po kilku modyfikacjach ścieżki syntetycznej, otrzymała w końcu oczekiwane pochodne ksantohumolu z zablokowanymi grupami hydroksylowymi w pozycji 2 w stosunku do podstawnika prenylowego. Zastosowanymi grupami zabezpieczającymi były grupy metylowe lub benzytowe. Niestety, okazało się, że przekształcenie otrzymanych dimetyloksantohumolu i dibenzylloksantohumolu w wolny ksantohumol jest nieefektywne mimo wypróbowania bardzo różnych warunków deprotekcji. W kolejnej próbie syntezy ksantohumolu Autorka postanowiła wykorzystać reakcję sprzęgania Suzuki-Miyaura do wprowadzenia grupy prenylowej do pierścienia aromatycznego. Udało jej się otrzymać, zablokowany grupami benzyłowymi, 2-bromorezorcynol, który przekształciła w odpowiedni kwas boronowy, a ten w reakcji sprzęgania z bromkiem prenylu dał prenyloresorcynol zablokowany grupami benzyłowymi. Autorka stwierdza w tym miejscu, że uzyskane rezultaty potwierdziły zasadność dalszego rozwijania tej metody syntezy. Niestety, za słowami nie poszły czyny i w pracy na próżno szukać dalszego rozwinięcia tej metody. Mam nadzieję, że Doktorantka na obronie wytłumaczy się z tej niekonsekwencji. Powstaje też pytanie, czy w świetle poprzednich niepowodzeń przy deprotekcji pochodnych benzytowych ksantohumolu tym razem udałoby się tę reakcję efektywnie przeprowadzić.

W kolejnym fragmencie opisana jest udana synteza ksantohumolu wykorzystująca naturalny flawonoid – naringeninę, jako substrat. Kluczowym etapem tej syntezy było przegrupowanie Claisena w obecności Eu(fod)_3 jako katalizatora. Autorka podkreśla, że „okazało się, że można przeprowadzić tę reakcję w łagodniejszych warunkach (chloroform, 70°C)” (str. 61). Nie podaje jednak od jakich warunków były one łagodniejsze. Sama zresztą pisze w części literaturowej, że w reakcjach przegrupowania Claisena standardowo używa się chloroformu jako rozpuszczalnika (str. 29). Zagadkowe jest też zdanie ze strony 60 „Warto zwrócić uwagę na fakt, że

przeprowadzenie tej reakcji w 1,2-dichloroetanie powyżej temperatury wrzenia było lepsze w porównaniu z wcześniejszymi doniesieniami.” Czy była próba przeprowadzenia tej reakcji w 1,2-dichloroetanie? Jeżeli tak, to dlaczego nie jest ona opisana w części eksperymentalnej? W końcowym etapie pierścień chromanowy udało się otworzyć przy użyciu DBU co dało ksantohumol z dobrą wydajnością. Wykorzystując tę sekwencję reakcji Autorka otrzymała też ksantohumol-d₃, używając CD₃I zamiast CH₃I na etapie metylowania grupy hydroksylowej w produkcie przegrupowania Claisena 176. Związek ten wykorzystano jako wzorzec wewnętrzny do oznaczania stężenia ksantohumolu w dwóch rodzajach piw. Ostatnim fragmentem tej części pracy jest opis syntezy kompleksu ksantohumolu z γ -cyklodekstryną. Autorka podaje, że kompleks ten był stabilny w temperaturze 75°C przez 30 dni. Przeprowadzono też badania właściwości antyoksydacyjnych kompleksu i stwierdzono, że ma on trzydziestokrotnie lepsze właściwości antyoksydacyjne niż ksantohumol. Niestety, w części eksperymentalnej nie znalazłem żadnej wzmianki na temat sposobu charakteryzacji tego kompleksu. Skąd zatem wiadomo, że nie zmienił on swojej struktury podczas ogrzewania?

Inne uwagi do tej części pracy

1. Jest duża niekonsekwencja w zapisie numerów związków. Niektóre umieszczone są w nawiasie a inne nie. Czym kierowała się Autorka umieszczając numer związku w nawiasie? Przyjmuje się, że numery związków, dla których nie podaje się pełnej nazwy systematycznej, nie powinny być umieszczane w nawiasie.
2. Czy doktoratka ma jakiś pogląd na to skąd może wynikać tak różna wydajność kondensacji Claisena-Schmidta metyloketonów 28A i 28B z MOM zabezpieczonym 4-hydroksybenzaldehydem (str. 48)?
3. Dlaczego nie ma opisu eksperymentu hydrolizy związku 30A lub 30B przy stężeniu kwasu wyższym niż 2 M. Ile izoksantohumolu wówczas powstawało (str. 48)?
4. Na Schemacie 46 pokazane jest powstawanie produktu ubocznego 142 przy otrzymywaniu acetylowej pochodnej związku 146. W tekście wspomniano tylko, że oczekiwany produkt acetylowania powstawał z 40% wydajnością. Ile powstawało produktu 142? Niestety, brak jest opisu tej reakcji w części eksperymentalnej. To samo dotyczy związków przedstawionych na Schemacie 45. Też brak ich opisu w części eksperymentalnej.
5. Brak Schematu 47 (str. 55). Ten na stronie 53 ma co prawda numer 47, ale dotyczy innych reakcji.
6. Schemat 57 (str 61). Skrót Me oznacza grupę metylową. Nie może więc oznaczać również grupy CD₃.

Część doświadczalna

Część doświadczalna rozprawy zajmuje 32 strony. Są tam opisane procedury syntetyczne oraz wyniki badań fizykochemicznych otrzymanych związków, w tym opisy widm ^1H i ^{13}C NMR. Niektóre związki są scharakteryzowane tylko przez opis widma ^1H NMR. W przypadku ciał stałych, w ich charakterystyce często nie ma oznaczenia temperatur topnienia. Interesuje mnie czym kierowała się Doktorantka przy wyborze sposobu charakterystyki związku. Zdziwił mnie też fakt, że brak jest przepisów eksperymentalnych i charakteryzacji dla niektórych związków. Na przykład brak jest opisu eksperymentalnego i charakteryzacji dla związków przedstawionych na Schemacie 45, 46, 47 czy 56. Natomiast przepisy preparatywne, które znajdują się w części eksperymentalnej są dokładne i pozwalają na precyzyjne odtworzenie procedur, w tym sposobu oczyszczania końcowych produktów. Opisy widm NMR są zgodne z przyjętymi standardami. Bardzo pomocne dla czytelnika są też załączone struktury opisywanych związków. Część ta napisana jest przejrzysto, a Autorka trzyma się ustalonego schematu.

Podsumowanie

Podsumowując stwierdzam, że Doktorantka wykazała się dobrą znajomością tematyki rozprawy doktorskiej i zrealizowała założone cele badawcze, zgodnie ze standardami naukowymi. Rozprawa stanowi istotny i oryginalny wkład w poszukiwanie nowej metody syntezy ksantohumolu. Przedstawione uwagi krytyczne bądź dyskusyjne nie wpływają w znaczący sposób na wartość naukową rozprawy. Uważam, że przedstawiona mi do oceny praca spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z ustawą z dnia 20 lipca 2018 roku „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. 2018 poz. 1668 z późniejszymi zmianami) i wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr. Joanny Andrusiak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

