



Warszawa, 7 stycznia 2019 r.

Opinia o rozprawie doktorskiej mgr inż. Małgorzaty Urbańczyk

pt.: **Synteza i właściwości nowych glikopeptydów
o działaniu przeciwwzmarzającym**

Praca doktorska wykonana została na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej pod opieką dr. hab. Rafała Latajki, prof. PWr.

Przedstawiona rozprawa została napisana w języku angielskim, w którym tytuł brzmi; *Synthesis and characterization of novel antifreeze glycopeptides (AFGP)*. Praca doktorska składa się z 188 stron i obejmuje: część wprowadzającą, zawierającą dane literaturowe (40 stron), część eksperymentalną (68 stron) oraz opis badań własnych wraz z dyskusją (29 stron). W oddzielnych rozdziałach przedstawione zostały cele pracy oraz podsumowanie przeprowadzonych badań. Uzupełnienie pracy stanowią spis stosowanych skrótów oraz cytowanej literatury (262 odnośniki).

W części literaturowej pracy Doktorantka umiejętnie wprowadza Czytelnika w zagadnienia związane ze znaczeniem protein i glikoprotein o działaniu przeciwwzmarzającym. W interesujący sposób omówione zostały zarówno biologiczne znaczenie tych związków jak i ich liczne zastosowania w medycynie, przemyśle spożywczym, rolnictwie oraz w innych dziedzinach technologii.

Doktorantka zwróciła uwagę na fakt, że mechanizm działania naturalnie występujących glikoprotein o działaniu przeciwwzmarzającym nie został dotychczas dokładnie poznany. W związku z powyższym, utrudnione są badania nad syntetycznymi analogami, które mogłyby znaleźć szersze zastosowania w przemyśle

Adameczyk - Woźniak

i medycynie. Z trudności tych wynika cel pracy, a mianowicie: synteza związków modelowych czyli prostych analogów AFGP. Doktorantka skupiła się na otrzymaniu dwóch typów związków: (i) tri i pentapeptydów, zaprojektowanych w celu zbadania struktury konformacyjnej oraz (ii) glikopeptydów o dłuższych łańcuchach, których struktura umożliwiałaby badania mechanizmu ich działania przeciwarzającego. W związku z szeroką gamą możliwych zastosowań praktycznych tych związków, uważam podjęcie opisanej tematyki za dobrze uzasadnione. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorantka umiejętnie przeprowadziła krytyczną dyskusję zarówno danych literaturowych, jak i uzyskanych wyników, nie skupiając się jedynie na zaletach danych związków, czy metod badawczych, ale wymieniając również możliwe ograniczenia w ich stosowaniu.

W części eksperymentalnej pracy Doktorantka opisuje syntezę poszczególnych monomerów cukrowych (produkty 1-4), aminokwasowych (produkty 5-8) oraz glikozydów (produkty 9-17). Identyfikacja otrzymanych produktów opiera się na analizie ich widm masowych oraz ^1H NMR. Nieco zastanawiające jest, że charakterystyka produktów 1 i 2 ograniczyła się do stwierdzenia, że jest to brązowy gęsty olej (eng. brown syrup) oraz że otrzymane produkty zostały użyte w dalszych etapach syntezy bez oczyszczania. Następnie Doktorantka opisuje syntezę docelowych glikopeptydów (18-31), które otrzymane zostały w różnych wariantach syntezy na stałym nośniku (*Solid Phase Peptide Synthesis, SPPS*). Szczególnie interesująca zdaniem Recenzentki jest opracowana przez Doktorantkę nowa metodologia syntezy glikopeptydów na stałym nośniku. Sposób ten polegał na tym, że stałe złoże ze związanym peptydem zostało podzielone na dwie równe części. Z jednej części stałego nośnika zdjęto glikozylowany tripeptyd, a następnie użyto go jako substratu w kolejnej reakcji z pozostałym na złożu produktem. W wyniku tej procedury Doktorantka otrzymała heksapeptyd 26 ze stosunkowo wysoką wydajnością ok. 22%. Otrzymane peptydy zostały poddane analizie metodą spektroskopii dichroizmu kołowego (produkty 22, 23, 26, 28, 29, 30, 31). W celu zbadania drugorzędowej struktury modelowych peptydów (związki 19, 20, 22 i 23) wykorzystano różne jedno-

i dwuwymiarowe techniki spektroskopii NMR. Przeprowadzono także obliczenia teoretyczne, które wskazać miały preferowaną strukturę konformacyjną związków 19, 20, 22 i 23. Do badań właściwości otrzymanych związków (30 i 31) wykorzystano również mikroskopię sił atomowych (AFM) we współpracy z naukowcami z Uniwersytetu w Mainz w Niemczech.

Wyniki przeprowadzonych przez Doktorantkę badań podsumowane zostały na stronach 170-172. Pani magister Małgorzata Urbańczyk słusznie wymienia najważniejsze osiągnięcia pracy, takie jak: opracowanie wydajnych metod syntezy peptydów, określenie wpływu temperatury na strukturę konformacyjną badanych związków oraz przeprowadzenie pełnej interpretacji widm NMR krótszych z otrzymanych peptydów. Cenne jest również wskazanie przez Doktorantkę możliwych dalszych kierunków badań.

Pani magister inżynier Małgorzata Urbańczyk jest pierwszym autorem w dwóch pracach przeglądowych związanych z tematem rozprawy: (i) rozdziału w monografii pt. „Na pograniczu chemii i biologii”, tom XXXV, str. 81-88 oraz (ii) artykułu w czasopiśmie *Amino Acids*, vol. 49, str. 209-222 (IF = 3.196). Kolejna praca została wysłana do recenzji w czasopiśmie *Amino Acids*.

Rozprawa doktorska została przygotowana w sposób staranny. Poniżej przedstawiam zauważone przeze mnie drobne błędy językowe, literowe oraz niedociągnięcia redakcyjne:

- *itselŕe* zamiast *themselves* na stronie 137, 6 linia od dołu; *results* zamiast *result* na stronie 146, 6-ta linia od góry; *were* zamiast *was*, strona 133, 3-cia linia od dołu,
- niejednorodne cytowanie literatury (np. na stronie 149, linie 3 i 5),
- nieznanne znaki w nazwisku w odnośniku 34,
- tabele z listami reagentów powinny wg Recenzentki zostać przeredagowane tak, aby mieścił się na stronie w orientacji pionowej. Dzięki temu można byłoby uniknąć licznych pustych miejsc w opracowaniu (np. na stronach: 62, 76, 83, 87, 85, 93 i 95),

- błędne wskazanie pochodzenia sygnału masowego: $[M + H]^+$ zamiast: $[M + K]^+$, w opisach kilku widm masowych, m. in. na stronach: 107, 108, 115 oraz 116,
- brak wyjaśnienia skrótu „Cal.”, który pojawił się na stronie 107 i dalszych, w opisach widm masowych. Prosiłabym Doktorantkę o wyjaśnienie przyczyn różnic pomiędzy masami molowymi oczekiwanych produktów, a sygnałami w widmach masowych związków: **26, 27, 29, 30** oraz **31**.

Powyższe uwagi nie umniejszają wysokiej oceny poziomu merytorycznego recenzowanej pracy. Rozprawa doktorska mgr inż. Małgorzaty Urbańczyk stanowi w moim przekonaniu oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Doktorantkę. Przedstawiona rozprawa spełnia zatem wymagania wynikające z obowiązującej ustawy o stopniach i tytule naukowym (Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, Dz. U. Nr 65, poz. 595 ze zm.) oraz rozporządzenia MNiSW z dnia 22 września 2011 roku (Dz. U. Nr 204, poz. 1200). W związku z powyższym, wnoszę o dopuszczenie Pani magister Małgorzaty Urbańczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Adamczyk - Woźniak