



Katedra Chemii Bioorganicznej

Politechnika Wrocławska
Wybrzeże Wyspiańskiego 27

50-370 Wrocław

Prof. Paweł Kafarski

e-mail: pawel.kafarski@pwr.wroc.pl

web page: <http://bioorganic.ch.pwr.wroc.pl>



Wrocław 24.06.2020

Recenzja pracy doktorskiej Pana mgr inż. Ignacego JANICKIEGO

„Nowe zastosowania metod biokatalitycznych w asymetrycznej syntezie związków heteroorganicznych przy wykorzystaniu ene-reduktaz oraz katalitycznego promiskuityzmu enzymów”

Głównym celem pracy doktorskiej Pana mgr inż. Ignacego Janickiego było zastosowanie ene-reduktaz w reakcji redukcji α,β -nienasyconych fosfonianów i zbadanie wpływu budowy substratów na przebieg tej reakcji. Dla porównania wykonano także badania redukcji tych samych substratów za pomocą komórek grzybów strzępkowych *Mucor circinelloides*. Integralną częścią pracy jest, bardzo ciekawy z punktu widzenia chemika-organika, fragment poświęcony syntezie jednej z grup substratów tych biotransformacji - (*Z*)- α,β -nienasyconych fosfonianów, otrzymanych stosując metodę Stilla-Gennariego. Ostatnia część pracy poświęcona jest zbadaniu zdolności różnych enzymów wybranych w sposób zrandomizowany jako katalizatorów addycji nitrometanu do imin (reakcja aza-Henry’ego). Ten ostatni fragment, choć dość luźno związany z głównym celem pracy, uważam za sympatyczny dodatek i zasygnalizowanie dalszej tematyki studiów.

Tematyka pracy doktorskiej pracy jest atrakcyjna naukowo i ważna z punktu widzenia chemii organicznej, gdyż opisuje alternatywną procedurę redukcji tytułowych fosfonianów, której przebieg steryczny jest inny niż przebieg klasycznie stosowanych metod wodorowania. Wybór α,β -nienasyconych fosfonianów jako substratów jest trafiony i znajduje uzasadnienie, w tym, że produkty reakcji mogą stanowić cenne bloki budulcowe w chemii medycznej.

Badania wykonane pod opieką Prof. Piotra Kiełbasińskiego to przykład bardzo solidnej i przemyślanej rozprawy naukowej lokującej się zarówno w nurcie „zielonej chemii” jak i

„białej biotechnologii”. Promotor pracy jest uznanym autorytetem w zakresie zastosowań biokatalizy w syntezie organicznej co widać zarówno w sposobie wykonania pracy, jak i dbałości o szczegóły. Mimo że praca nie jest obszerna (co pochwalam), jej wyniki zostały opublikowane w postaci pięciu prac, w bardzo porządnym czasopiśmie naukowym. Biorąc pod uwagę ten fakt zastanawiałem się czy nie lepiej było spiąć te publikacje i, poprzedzone krótkim wstępem, uznać za rozprawę doktorską.

Pierwsze badania przesiewowe wykonano dla 18 substratów i 8 ene-reduktaz z różnych źródeł. Badania te Doktorant wykonał w laboratorium prof. Kurta Fabera z Uniwersytetu w Graz. Badania te pokazują, że końcowy wynik reakcji jest silnie zależny od struktury substratu, a także zależy od rodzaju użytego biokatalizatora. Jedynie sześć substratów ulega redukcji w stopniu zadowalającym. Jest to typowy wynik uzyskiwany w procesach biokatalizy gdzie dobór odpowiedniego katalizatora musi być dokonywany od nowa dla każdej nowej grupy połączeń chemicznych, a nawet dla pojedynczych substratów. Najlepszym biokatalizatorem okazał się enzym z drożdży piekarskich OYE3 i zastosowanie regeneracji kofaktora (NADH) w enzymatycznej reakcji utlenienia mrówczanu amonu do dwutlenku węgla. Konsekwentnie zatem wykonano badania redukcji wyselekcjonowanych 6 substratów za pomocą tego enzymu w skali preparatywnej, uzyskując bardzo przyzwoite wydajności redukcji oraz znakomitą stereoselektywność. Na szczególne wyróżnienie zasługują, moim zdaniem: próba określenia absolutnej konfiguracji produktów reakcji redukcji na drodze chemicznej korelacji ze związkami o znanej strukturze absolutnej, oraz potwierdzenie tej struktury w reakcji enzymatycznej przeprowadzonej w ciężkiej wodzie i badanie jej sterycznego przebiegu za pomocą chemii obliczeniowej. To drugie podejście trzeba uznać za innowacyjne. Co ciekawe, badania te zdają się negować wyniki opisane w literaturze. Szkoda, że Doktorant nie dyskutuje bardziej szczegółowo jak określona została struktura związku wzorcowego przez prof. Renata Kadyrova i co może być źródłem ewentualnego błędu.

Zastosowanie komórek *Mucor circinelloides* dało również interesujące wyniki, zarówno z badawczego, jak i praktycznego punktu widzenia. Redukcji ulegają bowiem zarówno wiązanie podwójne, jak i grupy aldehydowe substratów. Co ciekawe, nie zaobserwowano jednoczesnej redukcji obydwu grup funkcyjnych. Przebieg reakcji jest silnie zależny od konfiguracji wiązania podwójnego, a co więcej można w pewnym zakresie sterować jej przebiegiem przez odpowiedni dobór pożywki w jakiej hodowany jest mikroorganizm.

Warto także zwrócić uwagę, że Doktorant musiał wykonać syntezę większości substratów. Mimo, że w części wykorzystał procedury opracowane wcześniej był to syntezy nietrywialnie i wymagały sporego nakładu pracy. Dodatkowo, otrzymanie substratów o konfiguracji Z wymagało opracowania specjalnej procedury i zastosowano tu reakcję Stilla-Gennariego. Jest to wartościowy fragment rozprawy doktorskiej.

Wprowadzenie do pracy stanowi część literaturowa podzielona na dwie części, w których Autor omawia w sposób zwarty i kompetentny procesy biokatalityczne, ze szczególnym uwzględnieniem ene-reduktaz, oraz metody syntezy α,β -nienasyconych fosfonianów i ich asymetrycznej redukcji. Wprowadzenie to dobrze wprowadza czytelnika w tematykę opisywanych dalej badań. Stanowi ono około 30% objętości rozprawy, co jest dość standardowe w pracach doktorskich.

Podstawowym rozdziałem pracy jest ten, w którym Pani mgr inż. Ignacy Janicki omówił wyniki badań. Ta część jest również napisana bardzo starannie, przejrzysto i czyta się ją dobrze. Na szczególne podkreślenie zasługuje dążenie Autora do pełnej charakteryzacji otrzymanych związków za pomocą bardzo dobrze i przejrzysto omówionego NMR. Tu widać wyraźnie, że Autor lubi tę technikę i dobrze ją opanował. Część eksperymentalna napisana jest niemal wzorcowo. Cieszy mnie to, że są jeszcze badacze wykonujący analizy elementarne.

Należy też pochwalić stronę edytorską pracy doktorskiej. Nie udało mi się bowiem znaleźć żadnych błędów tego typu co wydaje się wprost niemożliwe.

Jedynym fragmentem pracy, z którym nie mogę się zgodzić jest stwierdzenie, że badania Doktoranta wskazują na wysoki potencjał zastosowania badanych grzybów strzępkowych (strona 7). Powiedziałbym raczej, że potwierdzają użyteczność tego szczepu udatnie wykorzystywanego w różnym celu przez grupę kierowaną przez Panią prof. Mirosławę Szczęsną-Antczak. Inna drobna uwaga jest raczej ciekawostką i dotyczy zastosowania w biokatalizie, przez grupę prof. Michaela Maffei, drożdży piekarskich zakupionych w sklepie. Doświadczenie recenzenta wskazuje, że profil biokatalityczny drożdży piekarskich kupowanych w sklepie jest bardzo standardowy i to bez względu na kraj produkcji (używaliśmy drożdży polskich, niemieckich, francuskich i hiszpańskich). Chciałbym też

dodać, że w pełni rozumiem podziękowania browarowi *Żywiec* za wsparcie.

Reasumując stwierdzam, że przyszło mi recenzować wyróżniającą się pracę doktorską, która spełnia warunki, jakie stawia się tak ustawowo jak i zwyczajowo pracom doktorskim i dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi o dopuszczenie Pana mgr inż. Ignacego Janickiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Chciałbym, na zakończenie recenzji, również postawić wniosek o wyróżnienie tej pracy stosowną nagrodą. Jest to ciekawa i wartościowa praca, a jej wyniki zostały opublikowane w postaci czterech publikacji. Dodatkowym rezultatem jest praca przeglądowa umieszczona w czasopiśmie o bardzo wysokim standardzie.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several stylized, overlapping strokes that form a unique monogram or set of initials.



Katedra Chemii Bioorganicznej
Politechnika Wrocławska
Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław
Prof. Paweł Kafarski
e-mail: pawel.kafarski@pwr.wroc.pl



Wrocław 24.06.2020

Pani

Dr inż. Barbara JEŻYŃSKA

Kierownik Sekretariatu Naukowego

Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN

ul. Sienkiewicza 112

90-363 Łódź

Szanowna Pani,

Przesyłam dwie kopie recenzji pracy doktorskiej Pana mgr inż. Ignacego Janickiego „*Nowe zastosowania metod biokatalitycznych w asymetrycznej syntezie związków heteroorganicznych przy wykorzystaniu ene-reduktaz oraz katalitycznego promiskuityzmu enzymów*”.

Bardzo serdecznie pozdrawiam

Z poważaniem