



Prof. dr hab. Marianna Kańska
Uniwersytet Warszawski
Wydział Chemii
Ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa
e.mail: mkanska@chem.uw.edu.pl

Warszawa, 10-05- 2014 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr Marty Słupskiej

pt.

**Synteza peptydomimetyków tryptofanu w reakcji
Picteta-Splenglera chiralnych α -aminoaldehydów z
pochodnymi β^2 - lub β^3 -homo-tryptofanu**

Od wielu lat w Pracowni Peptydów Wydziału Chemii UW kierowanej przez Prof. dr hab. Aleksandrę Misicką-Kęsik prowadzone są intensywne studia nad syntez biologicznie czynnych peptydów, mogących mieć potencjalne zastosowanie w badaniach biochemicznych, medycynie oraz farmacji. Zainteresowanie naukowe zespołu Prof. dr hab. Aleksandry Misickiej-Kęsik jest skupione na syntezie peptydów i ich mimetyków, przy czym szczególną uwagę poświęca się nie tylko tym związkom, które mogą przejawiać czynność biologiczną, ale także poszukiwaniom i syntezie nowych, nieznanych peptydów lub peptydomimetyków o takiej strukturze, która wskazuje, że mogą stanowić potencjalny budulec przy projektowaniu i syntezie nowych leków peptydowych. Stosowanie naturalne peptydów, zbudowanych z reszt L-aminokwasowych, jako leków jest bardzo ograniczone, mimo ich poważnego potencjału farmakologicznego. Wynika to z ich niskiej odporności na działanie enzymów proteolitycznych, wywołujących ich szybki rozkład, co uniemożliwia ich

podawanie doustne. Podejmowane próby zaradzeniu tym zjawiskom zacierają do syntezy tzw. peptydomimetyków, substancji naśladujących działanie peptydów, a odpornych na działanie hydrolityczne proteaz i cechujących się wyższą przenikalnością przez lipoidalne błony biologiczne. Osiąga się to przez wbudowanie w naturalny łańcuch peptydowy takich jednostek, jak D-aminokwasy, β - lub γ -L-aminokwasy oraz inne „cegiełki” budowlane. Na tej drodze otrzymano już wiele obecnie już stosowanych leków używanych w terapii onkologicznej, AIDS, czy wirusowym zapaleniu wątroby. Podjęty i zrealizowany przez mgr Martę Słuską zamiar syntezy peptydomimetyków tryptofanu, ważnego elementu w łańcuchu peptydowym wchodzącego w obszar farmakoforu, wpisuje się w nurt intensywnych badań nad syntezą i właściwościami leków peptydowych prowadzonych w laboratoriach farmakologicznych.

Przedstawiona mi do recenzji obszerna, licząca ponad 156 str., dysertacja mgr Marty Słuskiej i składająca się z 6 rozdziałów, z których cztery (*Założenia i cel pracy, Przegląd literatury, Badania własne oraz Podsumowanie*) zawierają najistotniejsze wątki pracy. Im też poświęcę najwięcej uwagi.

W rozdziale pt. *Założenia i cel pracy* mgr Marta Słuska uzasadniła wybór tematu swojej pracy doktorskiej z zakresu syntezy i analizy peptydomimetyków na bazie tryptofanu. Wykazała znaczenie usztywnionych cyklicznych analogów tryptofanu jako „cegiełek” przy projektowaniu leków peptydowych, czy aktywnie biologicznych peptydomimetyków. Kierowała się przy tym znaczącą rolą tryptofanu w bioaktywnej konformacji peptydu.

W rozdziale *Przegląd literaturowy* mgr Marta Słuska dużo trudu włożyła w zaznajomienie czytelnika w dziedzinę dotyczącej syntezy i właściwości chemicznych i biologicznych peptydomimetyków. Omówiła metody modyfikacji peptydowego łańcucha głównego przez wprowadzanie nienaturalnych jednostek budulcowych, różne podejścia powodujące zmiany w łańcuchach bocznych reszt aminokwasowych, cyklizację łańcucha, czy zmiany struktury w obrębie α -helisy, β -kartki czy ingerencji w położenie zgięć tzw. β -zwrótów. Bardzo dużo uwagi poświęciła omówieniu reakcji cyklizacji aminokwasów

M. Kow

metodą Picteta-Splenglera, S-P, który to sposób wykorzystwała przy dokonanej syntezie peptydomimetyków tryptofanu. Przytoczyła również na przykładach strukturę i działanie farmakologicznie obecnie już stosowanych leków zaprojektowanych i otrzymanych z udziałem peptydomimetyków.

W części zatytułowanej *Badania własne* mgr Marta Słupska przedstawiła wyniki swoich osiągnięć w syntezie pseudomimetyków tryptofanu. Wstępnym etapem pracy było otrzymanie optycznie czystego Boc-chronionego β^3 -*homo*-tryptofanu (β^3 -*hTrp*) z wykorzystaniem procedur znanych w literaturze. Ten związek posłużył do syntezy estru metylowego β^3 -*homo*-tryptofanu oraz dipeptydów oznaczonych skrótowo jako β^3 -*hTrpOCH*₃, β^3 -*hTrpAlaOCH*₃ i β^3 -*hTrpLeuOCH*₃. Następne substraty do reakcji Picteta-Splenglera, Doktorantka otrzymała z odpowiednich Cbz-zabezpieczonych α -aminokwasów o ogólnym wzorze R-CNHCBZ-COOH, gdzie R = L-, lub D-Ala, L-Ile, L-, lub D-Phe, L- lub D-Val oraz D-Leu). W wyniku procedury Fehrentza-Castro przekształciła je w odpowiednie L-, lub D- α -aminoaldehydy. Następnie mgr Marta Słupska przeprowadziła reakcję cyklizacji Picteta-Splenglera powyższych α -aminoaldehydów z β^3 -*hTrpOCH*₃, β^3 -*hTrpAlaOCH*₃ i β^3 -*hTrpLeuOCH*₃ otrzymując dla każdego substratu 8 odpowiednich peptydomimetyków tryptofanu. Reakcje przebiegały w warunkach zapobiegających racemizacji produktów. W trakcie cyklizacji Picteta-Splenglera pojawia się nowe centrum stereogeniczne, co skutkuje tworzeniem się diastereoizomerów *cis/trans*. Próby analizy produktów za pomocą HPLC nie były dostatecznie wiarygodne, gdyż odpowiednie piki na chromatogramie nie osiągały linii podstawowej. W pełni skutecznym sposobem ustalenia stosunku diastereoizomerów *cis/trans* okazała się spektroskopia ¹H MNR. Stosunek tych izomerów obliczono na podstawie integracji sygnałów od protonów grupy metylowej w otrzymanych związkach, gdzie przesunięcia chemiczne są wyraźne. Rejestracja widm 2D NMR ROESY dała możliwość identyfikacji fragmentów pochodzących od izomerów *cis* oraz *trans*. Na podstawie tych widm Doktorantka ustaliła, że cyklizacja Picteta-Splenglera składników aminowych (β^3 -*hTrpOCH*₃, β^3 -*hTrpAlaOCH*₃ oraz β^3 -*hTrpLeuOCH*₃) z D- α -aminoladehydami jest całkowicie diastereoselektywne i skutkuje wyłącznie tworzeniem się izomerem *cis*. W przypadku cyklizacji z L- α -

M. Kowalski

aminoladehydami (za wyjątkiem L-waliny) w przewodzie powstaje izomer *trans*. Autorka skonfrontowała otrzymane rezultaty z danymi literaturowymi dotyczących produktów cyklizacji powyższych aminoaldehydów z analogicznymi substratami aminowymi zawierających α -Trp zamiast β^3 -hTrp. W reakcji α -Trp z L- α -aminoaldehydami tworzy się produkt o konfiguracji *trans*, natomiast z D- α -aminoaldehydami powstaje wyłącznie izomer *cis*. Oznacza to, że obecność dodatkowej grupy metylenowej (-CH₂-) w β^3 -hTrp nie wpływa na stosunek izomerów. Natomiast reakcja cyklizacji L-AlaCHO z estrem metylowym β^3 -hTrp prowadzi w przewodzie do powstania produktu *cis*, czym różni się od pozostałych przypadków. Różnica ta wynika z możliwości tworzenia się dwóch pseudocyklicznych struktur: sześć- i siedmioczłonowych w ogólnie przyjętym mechanizmie cyklizacji Picteta-Splenglera. W reakcji z L- α -aminoaldehydem z powstaje izomer rozgałęzionym łańcuchem bocznym powstaje izomer *trans*. W przypadku L- α -aminoaldehydów z krótkimi lub słabo rozgałęzionymi łańcuchami bocznymi powstaje mieszanina izomerów *cis* oraz *trans*. Gdy substratem reakcji jest D- α -aminoaldehyd układ przestrzenny między kationem iminowym a grupą zabezpieczającą Cbz prowadzi do powstania izomeru *cis*.

Autorka dokonała dodatkowo, na podstawie danych literaturowych i rejestrowanych widm 2D NMR ROESY, analizy konformacyjnej otrzymanych związków. W stereoizomerach *cis*, pochodzących z cyklizacji P-C z estrem metylowym β^3 -hTrp lub dipeptydów z β^3 -hTrp na N-końcu przeważa jeden typ formy krzesłkowej, gdzie proton przy C-3 zajmuje pozycję ekwatorialną. Z widm NMR wynika, że w przypadku izomerów *trans* możliwe są dwie konformacyjne formy skręconego krzesła (proton przy C-3 w pozycji aksjalnej lub ekwatorialnej) w zależności od wielkości podstawników w sekwencji peptydu, co może być przydatne przy projektowaniu peptydomimetyków.

Ze względu na znaczenie miejsca tworzenia się β -zgięcia w drugorzędowej strukturze peptydu, istotne przy projektowaniu leków peptydowych, mgr Marta Słupska przeanalizowała możliwość wystąpienia tej struktury w otrzymanych peptydomimetykach. Wykorzystując dane literaturowe,



modelowanie molekularne i zarejestrowane widma 2D NMR ROESY stwierdziła, że w dwu z otrzymanych związków (oznaczonych jako 75a i 77a) mogą występować struktury przypominające β -skręt.

Wykorzystując otrzymany β^3 -hTrp doktorantka zaplanowała syntezę pseudomimetyków zawierających dwa pierścienie tetrahydro- β -karbolinowe, które miały posłużyć do izolacji białek z surowicy krwi. W wyniku cyklizacji P-C estru metylowego β^3 -hTrp z Cbz-Phe-CHO otrzymała przejściowy substrat w postaci izomeru *trans*. Preparat podzielono na dwie części, poczym usunęła grupy zabezpieczające w ten sposób, by uwolnić w jednej części grupę aminową, w drugiej – karboksylową. Obie pochodne tetrahydro- β -karbolinowe po sprzęgnięciu dały peptydomimetyk. Niestety, jak wykazały próby, otrzymany związek nie wykazał powinowactwa do białek surowicy krwi.

Następnym etapem pracy była synteza peptydomimetyków na bazie β^2 -*homo*-tryptofanu, β^2 -hTrp i poprzednio syntezowanych α -aminoaldehydów. W wyniku cyklizacji P-C z udziałem β^2 -hTrp powstaje 7-, a nie 6-członowy pierścień, jak to się dzieje w przypadku β^3 -hTrp. Ponieważ, znane z literatury metody syntezy β^2 -hTrp są wieloetapowe i mało wydajne, dlatego mgr Marta Słupska wykorzystwała (z pewnymi modyfikacjami) sposób niedawno opracowany w zespole Karoyana. Pozwoliło to Jej otrzymać pożądaną, zabezpieczoną pochodną β^2 -hTrp z wydajnością około 20%, wystarczającą do prowadzenia reakcji Picteta-Spenglera z aminoaldehydami. Powyższą pochodną β^2 -hTrp doktorantka przekształciła w ester metylowy β^2 -L-*homo*-tryptofanu, który poddała cyklizacji, wg wcześniej użytej procedury, z poprzednio otrzymanymi L- i D- α -aminoaldehydami otrzymując 8 różnych peptydomimetyków. Widma ^1H NMR, rejestrowane na aparacie 200 MHz wskazywały na obecność jednego diastereoizomeru. Widma 2D NMR ROESY zarejestrowana na aparacie 700 MHz wykazały multiplikacje sygnałów, co świadczy o istnieniu kilku form konformacyjnych, co nie pozwala na jednoznaczne stwierdzenie występowania form *cis* lub *trans*. Przyczyną tego (być może) jest duża giętkość 7-członowego pierścienia, co przejawia się w multiplikacji sygnału wywołana obecnością form labilnych.

M. Karay

Jak stwierdziła Autorka cyklizacja Picteta-Splenglera z zabezpieczoną pochodną β^2 -hTrp zachodzi z mniejszą wydajnością niż to ma miejsce w przypadku β^3 -hTrp. Próby zwiększenia wydajności przez użycie nadmiarowych ilości amino aldehydu prowadziły tylko do pojawiania się produktów ubocznych. Powstawały one w rezultacie reakcji estru metylowego β^3 -homo-L-Trp z produktem kondensacji aldolowej dwóch cząsteczek α -aminoaldehydu.

W Podsumowaniu mgr Marta Słupska zwięźle omówiła otrzymane wyniki, których obszerną dyskusję przeprowadziła w rozdziale *Badania własne*. Moją merytoryczną ocenę wniosków wysnutych z tych rozważań dokonałem przy ocenie tegoż rozdziału.

Do przykrych, chociaż koniecznych obowiązków recenzenta należy także wytknięcie błędów znalezionych w prezentowanej dysertacji. Mimo, że edytorsko praca została wykonana bardzo starannie, to jednak przy tak obszernym materiale trudno się ustrzec zarówno błędów czy pomyłek. Nie będę wytykać błędów interpunkcyjnych, których jest niewiele, ale skupię się na tych, które wprowadzają niejasności w odbiorze. I tak:

- Na stronie tytułowej w tytule naukowym promotora – błąd gramatyczny;
- W Tabeli 2 brakuje przypisu, wyjaśniającego różnice w wydajności przy pozycjach 72a i 73a, 72c i 73c, 74a i 75a, 74c i 75c, 76a i 77a oraz 76c i 77c;
- Kwas 3-indolopropionowy **87**. Na schemacie 25 ten związek oznaczono numerem **83**, a związek 87 występuje na schemacie 26 – str. 84;

Zarówno te, jak i inne, nie wymienione drobne uwagi, wg mojej opinii, nie mają istotnego wpływu na wartość i jakość pracy zaprezentowanej mi do recenzji. Wysoko oceniam sposób przedstawienia aktualnego stanu wiedzy z dziedzin nauki odnoszących się do tematu prowadzonych przez Autorkę. Ogólnie można stwierdzić, że praca doktorska mgr Marty Słupskiej stanowi wartościowy wkład w chemie mimetyków peptydowych na bazie tryptofanu.



Reasumując uważam, że w trakcie wykonywania pracy doktorskiej mgr Marta Słupska wykazała wszechstronne opanowanie metod związanych z syntezą peptydów, rozdziału i oczyszczania produktów, znakomitą zdolność w interpretacji danych spektroskopowych (NMR, MS) i UV) oraz dużą pomysłowością w prowadzeniu analizy konformacyjnej. Przejawiła też umiejętność wykorzystania danych analiz instrumentalnych do interpretacji wyników eksperymentalnych i duży talent w prezentowaniu wniosków wyciąganych przy dyskusji wyników. Wyniki badań Doktorantki dotychczas są opublikowane w postaci 1 pracy w czasopiśmie J. Peptide Science, a częściowe wyniki swej pracy doktorskiej prezentowała również na konferencjach naukowych. Przedstawiona mi do recenzji praca pt.

**Synteza peptydomimetyków tryptofanu w reakcji Picteta-Splenglera
chiralnych α -aminoaldehidów z pochodnymi β^2 - lub β^3 -homo-tryptofanu**

odpowiada w pełni wymaganiom stawianym pracom na stopień doktora i dlatego też wnioskuję o dopuszczenie mgr Marty Słupskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie uważam, że zarówno temat podjętej pracy, jakość jej wykonania i wnikliwa interpretacja wyników zasługuje na jej wyróżnienie. W oddzielnym dokumencie przedstawię w skrócie przesłanki, jakimi się kierowałam stawiając wniosek o nadanie mgr Marcie Słupskiej stopnia doktora nauk chemicznych z wyróżnieniem.





Politechnika Łódzka

Prof. dr hab. inż. Aleksandra Olma
Profesor PŁ
Instytut Chemii Organicznej
Wydział Chemiczny

Łódź, 29.05.2014

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr **Marty Słupskiej**

**p.t. „Synteza peptydomimetyków tryptofanu w reakcji Picteta-Spenglera chiralnych
 α -aminoaldehidów z pochodnymi β^2 - lub β^3 -*homo*-tryptofanu”**

Przedstawiona Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego
celem uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych

Recenzowana praca doktorska mgr Marty Słupskiej została wykonana w Pracowni Peptydów, pod kierunkiem prof. dr hab. Aleksandry Misickiej-Kęsik. Rozprawa poświęcona jest projektowaniu i syntezie nowych bloków budulcowych o ograniczonej swobodzie konformacyjnej, które mogą zostać wykorzystane do modyfikacji łańcucha peptydowego. Podjęcie takiego kierunku badań jest w pełni uzasadnione, otrzymane peptydomimetyki β^2 i β^3 -*homo*-tryptofanu stanowią znakomite narzędzie w badaniach zależności pomiędzy strukturą a aktywnością peptydów bioaktywnych.

Endogenne peptydy, pełniące kluczowe role w organizmach żywych, wykazują dużą swobodę konformacyjną, której ograniczenie może prowadzić do zwiększenia ich aktywności i selektywności. Prof. dr hab. Aleksandra Misickia-Kęsik od wielu lat zajmuje się projektowaniem i syntezą nowych bloków budulcowych, ich wykorzystaniem w syntezie peptydów biologicznie czynnych oraz badaniami konformacyjnymi otrzymanych analogów. Mgr

Marta Słupska włączając się w ten nurt badań, za cel pracy postawiła sobie syntezę cyklicznych analogów β^2 - lub β^3 -*homo*-tryptofanu wykorzystując reakcję Picteta-Spenglera.

Dysertacja, która ma typowy układ dla tego typu opracowań liczy 156 stron, z których 50 zajmuje część referatowa (zatytułowana przez doktorantkę „Przegląd literatury”), 39 stron stanowią badania własne z podsumowaniem (5 stron), 42 strony część eksperymentalna oraz literatura cytowana (215 pozycje).

Część literaturowa rozprawy pozwala na wykazanie się przez doktorantów znajomością problematyki naukowej związanej z tematem pracy oraz daje podstawy do wystawienia oceny za umiejętność jej przedstawienia. Autorka po wstępie obejmującym bardzo podstawowe wiadomości na temat białek, krótko omówiła peptydomimetyki a następnie metody ograniczania swobody konformacyjnej łańcucha peptydowego. W kolejnej części opisała wybrane przykłady modyfikacji struktury drugorzędowej oraz modyfikacje łańcucha peptydowego poprzez wbudowanie reszt aminokwasów niekodowanych, w tym α,α -dipodstawionych glicyn oraz mimetyków dipeptydowych. Ostatni rozdział części literaturowej poświęciła wykorzystaniu reakcji Picteta-Spenglera do cyklizacji aminokwasów aromatycznych. Zawarty w tym rozdziale materiał stanowi dobre wprowadzenie do badań własnych autorki.

W pierwszej części swojej pracy mgr Marta Słupska, w reakcji Picteta-Spenglera, jako komponenty aryloaminowe wykorzystwała estry metylowe β^3 -*homo*-tryptofanu oraz β^3 -*homo*-tryptofanyloalaniny i β^3 -*homo*-tryptofanyloleucyny. Potrzebne do tych transformacji chiralne D i L *N*-chronione α -aminoaldehydy wywodzące się z alaniny, izoleucyny, fenyloalaniny i waliny doktorantka otrzymała zgodnie z procedurą Fehrentza-Castro. Boc- β^3 -*homo*-tryptofan, który jest niezwykle drogim odczynnikiem komercyjnym, otrzymała na drodze kilkuetapowej homologacji Arndta-Eisterta z handlowo dostępnego Boc-Trp. Kondensacje estrów metylowych β^3 -*homo*-tryptofanu, β^3 -*homo*-tryptofanyloalaniny lub leucyny z *N*-Z-aminoaldehydami prowadziła z 1,5-krotnym nadmiarem komponentów karbonylowych. Doktorantce nie udało się dobrać odpowiednich warunków HPLC do dokładnego określenia stosunku izomerów *cis/trans*. Najlepszą do tego celu metodą analityczną okazała się spektroskopia ^1H NMR. Dla ilościowego oznaczenia wybrała sygnały pochodzące od protonów grupy metylowej, które były najlepiej rozdzielonymi sygnałami. Przeprowadzone badania wykazały, że w reakcjach z udziałem D-aminoaldehdów powstaje wyłącznie izomer *trans*, podobnie jak w reakcji Picteta-Spenglera z pochodnymi tryptofanu, zbadanej wcześniej w Zespole Peptydowym. Za diastereoselektywność

odpowiedzialna jest struktura przejściowo tworzącego się kationu iminiowego oraz budowa α -aminoaldehydu. Analiza efektu NOE w widmie 2D ROESY przeprowadzona przez doktorantkę wykazała, że konformacja utworzonego sześcioczłonowego pierścienia zależy od wielkości podstawników. Z danych literaturowych i badań Zespołu wynika, że dipodstawiony sześcioczłonowy pierścień tetrahydro- β -karbolinowy o konformacji *trans* może indukować β -zgięcie. Mgr Marta Słupska przeprowadziła modelowanie molekularne dla analogów **75a** i **77a** (izomery *trans*) wykorzystując program HyperCube i HyperChem 8.0. Badania udowodniły, że z dwóch możliwych struktur pseudocyklicznych, przypominających β -skręt, 11-sto członowa jest uboższa energetycznie. Wynik modelowania potwierdzony został badaniami 2D NMR.

Związek **73c**, otrzymany w reakcji Picteta-Spenglera z estru metylowego β^3 -*homo*-tryptofanu z *N*-Z-feniloalaninalem o konfiguracji *trans*, po usunięciu osłony funkcji aminowej w jednej części i funkcji karboksylowej w drugiej posłużył do syntezy dipeptydu zawierającego dwie jednostki tetrahydro- β -karbolinowe.

Otrzymany peptydomimetyk, po hydrolizie estru metylowego, został osadzony na żywicy Toyopearl AF-650M i wykorzystany w chromatografii powinowactwa do izolacji białek surowicy. Projekt był realizowany we współpracy z prof. Righetti z Politechniki w Mediolanie. Zabrakło mi w pracy szerszego opisu motywacji badań i wyboru tego peptydomimetyku jako układu do przeprowadzenia separacji białek.

W drugiej części dysertacji mgr Marta Słupska podjęła badania nad wykorzystaniem w reakcji Picteta-Spenglera z udziałem pochodnych β^2 -*homo*-tryptofanu. Otrzymanie β^2 -*homo*-tryptofanu jest znacznie trudniejszym wyzwaniem syntetycznym niż β^3 -*homo*-tryptofanu i obejmuje większą ilość etapów. Doktorantka wybrała metodę opracowaną przez Karoyana i wsp. z handlowo dostępnego kwasu 3-indolopropionowego. Acylowany sultan **89** otrzymała z wydajnością 45-80 %. Nie znalazłam w pracy komentarza dla tak różnych wyników. Mimo niskiej sumarycznej wydajności uzyskana ilość N_α -Boc- N_{in} -Bn- β^2 -*h*-Trp pozwoliła na zbadanie reakcji Picteta-Spenglera z użyciem estru metylowego N_{in} -Bn- β^2 -*h*-Trp jako komponenta aminowego. Dla zwiększenia wydajności i przesunięcia równowagi w kierunku powstawania produktu doktorantka zastosowała 2-3-krotny nadmiar substratów karbonylowych, którymi były *N*-Z-aminoaldehydy otrzymane z L lub D Ala, Ile, Phe, Val. Niestety w części eksperymentalnej nie znalazłam opisu reakcji z użyciem takiego nadmiaru aldehydu.

Próby określenia selektywności reakcji oraz przeprowadzenia analizy konformacyjnej za pomocą technik NMR, mimo użycia aparatu o częstotliwości 700 MHz zakończyły się niepowodzeniem, wszystkie sygnały w widmie były zwielokrotnione. Jedną z przyczyn może być większa swoboda konformacyjna siedmioczłonowego pierścienia. Również tworzenie się większej ilości produktów ubocznych, związanych z dużym nadmiarem *N-Z*-aminoaldehdów mogło utrudnić interpretację widm surowych produktów. Czy były prowadzone eksperymenty z równomolową ilością karbonylowego komponenta?

Otrzymane peptydomimetyki zawierające zarówno sześć- jak i siedmioczłonowy pierścień wykazują silne właściwości fluorescencyjne przy długościach fali wzbudzenia i emisji charakterystycznych dla tryptofanu. Stwarza to możliwość wykorzystania ich w diagnostyce medycznej, zwłaszcza tych łatwiej dostępnych i lepiej scharakteryzowanych pochodnych β^3 -*homo*-tryptofanu.

Dorobek mgr Marty Słupskiej obejmuje jedną publikację w *J. Pept. Sci.* (IF= 2.071, 2013), dwie prace w książkowych materiałach konferencyjnych oraz 12 komunikatów zaprezentowanych na krajowych i zagranicznych konferencjach.

Kilka słów na temat warsztatu eksperymentalnego. Z opisu rozprawy wynika, że autorka panuje dobrze nad metodologią syntezy organicznej i wykorzystaniem metod stosowanych w syntezie peptydów oraz chromatograficznymi technikami oczyszczania. Charakterystyka chemiczna i fizyczna otrzymanych związków nie budzi wątpliwości. Na uznanie zasługuje gruntowna wiedza mgr Marty Słupskiej w dziedzinie zaawansowanych technik NMR, zastosowanych do analizy konformacyjnej. Należy podkreślić zarówno samodzielność i biegłość doktorantki w pracy eksperymentalnej, jak również ważną umiejętność powściągliwego i rozważnego wyciągania wniosków. Doktorantka dobrze zaplanowała swoje badania i wykazała się bardzo dojrzałym podejściem do realizowanego tematu.

Po przeczytaniu dysertacji nasuwa się kilka uwag, które z obowiązku recenzenta wymienię:

1. Synteza *N*-Boc- β^3 -*homo*-tryptofanu jest opublikowana (np. *Helv. Chim. Acta*, **2000**, 83, 16-3, *Chem. Pharm. Bull.*, **2008**, 56, 260-265), w pracy nie znalazłam odniesienia do właściwości fizykochemicznych opisanych w literaturze przez innych autorów (temperatura topnienia czy skręcalność właściwa).

2. Optymalną wydajność przegrupowania Wolffa można była przewidzieć dla reakcji z udziałem żelaznego krzemionkowego na podstawie doniesień literaturowych.
3. W schemacie 15 zamiast diazometanu jest CH_2NH_2
4. Jaka była czystość chemiczna i optyczna otrzymanych amino aldehydów **71 a-h** ?
5. *N*-Chronione amino aldehydy były komponentami karbonyłowymi a nie karboksylowymi jak jest w Podsumowaniu na str. 99
6. Doktorantka nie uniknęła kilku niezręcznych sformułowań np. „geometria tetrahedralna” (str. 14), „alamethicin, który..” (str.32) „sygnały o podobnych przesunięciach zlewają się” (str. 93), czy „podłączenie pomocnika chiralnego (str. 114).

Przytoczone wyżej uwagi mają wyłącznie charakter formalny i w niczym nie umniejszają walorów naukowych rozprawy, którą oceniam wysoko z merytorycznego punktu widzenia. Na podkreślenie zasługuje niewielka liczba błędów edytorskich, których nie będę wymieniała.

Wniosek końcowy

Reasumując, materiał przedstawiony do oceny w rozprawie doktorskiej mgr Marty Słupskiej spełnia kryteria stawiane tego typu rozprawom. Temat podjęty przez doktorantkę jest z punktu widzenia naukowego i aplikacyjnego wysoce aktualny, a przedstawione wyniki mogą zostać wykorzystane w badaniach na temat zależności pomiędzy strukturą a aktywnością biologiczną peptydów.

Stwierdzam, że przedłożona rozprawa doktorska mgr Marty Słupskiej spełnia wszelkie wymogi zwyczajowe stawiane pracom doktorskim. Spełnione są również formalne wymogi stawiane przez Ustawę o Tytule Naukowym i Stopniach Naukowych. Wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Aleksandra Olma