



Kraków, 24 kwietnia 2026 roku

dr hab. Małgorzata Brindell, prof. UJ  
Zakład Chemii Nieorganicznej  
Wydział Chemii UJ

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Adriany Kaszuby zatytułowanej**  
**„Nowe azolowe związki koordynacyjne platyny(II) i rutenu(II): synteza, charakterystyka**  
**strukturalna i ocena potencjału przeciwnowotworowego”**

Praca doktorska Pani mgr Adriany Kaszuby została przygotowana pod kierunkiem Pani Prof. dr hab. Iwony Łakomskiej. Badania zostały wykonane w Zespole Naukowym Chemii Bionieorganicznej wchodzącym w skład Katedry Chemii Analitycznej i Spektroskopii Stosowanej Wydziału Chemii na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu.

Jednym z kluczowych wyzwań współczesnej medycyny pozostaje zwiększenie skuteczności terapii przeciwnowotworowych, ponieważ nowotwory należą do głównych przyczyn zachorowalności i umieralności na świecie. Pomimo intensywnego rozwoju badań podstawowych i przedklinicznych, pełne „pokonanie” chorób nowotworowych nadal pozostaje celem odległym. Wynika to zarówno z ograniczonej liczby związków o korzystnym profilu terapeutycznym, jak i z faktu, że nawet związki kandydujące na leki często nie trafiają do praktyki klinicznej ze względu na długotrwałe, złożone i kosztowne badania kliniczne oraz surowe wymogi rejestracyjne.

Jedną z racjonalnych strategii projektowania nowych terapii jest modyfikacja leków już stosowanych, w celu poprawy ich skuteczności lub ograniczenia działań niepożądanych. Do najlepiej ugruntowanych klinicznie leków opartych na kompleksach metali należy cisplatyna, wykorzystywana w onkologii od ponad czterech dekad; mimo znanych ograniczeń (toksyczność, lekooporność) pozostaje ważnym elementem wielu schematów leczenia. W praktyce stosuje się także jej analogi, m.in. karboplatynę i oksaliplatynę, w których zastosowanie O,O-donorowych dikarboksylanów pozwoliło obniżyć toksyczność, choć nie przełożyło się to na jednoznaczny, istotny wzrost aktywności przeciwnowotworowej. W tym kontekście tematyka ocenianej rozprawy doktorskiej p. mgr Adriany Kaszuby bardzo dobrze wpisuje się w aktualny nurt badań ukierunkowanych na poszukiwanie nowych związków platyny o korzystniejszym profilu działania, tj. o zmniejszonej toksyczności przy równoczesnym utrzymaniu lub zwiększeniu skuteczności przeciwnowotworowej. Praca stanowi ponadto logiczną kontynuację badań prowadzonych w zespole Pani Profesor Iwony Łakomskiej, od lat zajmującym się projektowaniem i charakterystyką kompleksów metali o potencjale terapeutycznym. Należy podkreślić, że mimo bogatej literatury dotyczącej modyfikacji kompleksów platyny, związki otrzymane i scharakteryzowane przez Doktorantkę można uznać za oryginalny wkład w rozwój tej problematyki.



Na uwagę zasługuje również uwzględnienie w pracy wątku metaloorganicznych kompleksów rutenu, w szczególności arenowych układów Ru(II), które są postrzegane jako perspektywiczna alternatywa lub uzupełnienie chemioterapeutyków platynowych. Zainteresowanie tą klasą związków wynika m.in. z możliwości precyzyjnego kształtowania ich właściwości (dobór ligandu, lipofilowość, kinetyka wymiany ligandów), a także z doniesień wskazujących na odmienny mechanizm działania niż klasyczne uszkodzenia DNA, co może sprzyjać ograniczeniu zjawiska krzyżowej lekooporności. Włączenie tej grupy związków poszerza kontekst badawczy rozprawy i podkreśla jej aktualność w obszarze nowoczesnej chemii metali w medycynie.

Główny celem recenzowanej pracy była synteza a następnie charakterystyka spektroskopowa, strukturalna oraz fizykochemiczna biblioteki kompleksów platyny(II) i rutenu(II) posiadających w sferze koordynacyjnej ligandy azolowe modyfikowane ugrupowaniem azabicyklowym, benzofuranowym lub triazolopirymidynowym. Dodatkowym celem recenzowanej rozprawy była ocena właściwości biologicznych otrzymanych związków w układach modelowych oraz badaniach *in vitro*.

Oceniana rozprawa doktorska obejmuje 150 stron i ma formę klasyczną. Rozpoczyna się od spisu treści oraz listy skrótów, a następnie zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim. Kolejno zamieszczono krótkie wprowadzenie uzasadniające potrzebę podjętych przez Doktorantkę badań. Następnie Doktorantka w rozdziale „*Wstęp teoretyczny*” wskazuje kompleksy metali jako interesującą grupę związków do poszukiwania skuteczniejszych chemioterapeutyków oraz opisuje rozwój leków opartych na kompleksach platyny. Omawia triazole wykazujące właściwości przeciwnowotworowe oraz właściwości koordynacyjne związków opartych na triazolach. Doktorantka dokonała również szczegółowego przeglądu i analizy kompleksów platyny(II) z ligandami zawierającymi pierścień triazolowy. Część poświęcona przeglądowi literatury została opracowana na bardzo wysokim poziomie merytorycznym i redakcyjnym. Wyraźnie widać, że doktorantka podjęła wysiłek nie tylko zebrania, lecz również usystematyzowania i krytycznego uporządkowania dostępnych danych literaturowych, ze szczególnym uwzględnieniem kierunków projektowania nowych kompleksów Pt(II) z ligandami triazolowymi. Na uwagę zasługuje klarowny podział omawianych związków na cztery grupy: (i) strategie ukierunkowane na minimalizację dezaktywacji przez glutation, (ii) podejścia wykorzystujące koordynację z ligandami/nośnikami o funkcji transportowej, (iii) układy o mechanizmie działania odmiennym od klasycznego oddziaływania na DNA oraz (iv) pozostałe rozwiązania strukturalne. Przedstawiony przegląd stanowi bardzo wartościowe tło dla dalszych badań i wskazuje na dojrzałe rozumienie problemu badawczego. Co istotne, pozwolił on doktorantce świadomie i adekwatnie zaplanować własne prace eksperymentalne w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy, z czym Autorka poradziła sobie bardzo dobrze. Proponowałabym opublikowanie tak przygotowanego wstępu dysertacji w formie artykułu przeglądowego. Podobnie wysoki poziom merytoryczny prezentuje przegląd literatury dotyczący metaloorganicznych, arenowych kompleksów Ru(II) z ligandami triazolowymi. Doktorantka



w sposób przejrzysty wyodrębniła trzy główne grupy kompleksów Ru(II): (i) układy skoordynowane z cząsteczkami o potencjale terapeutycznym, (ii) kompleksy z ligandami sprzężonymi z cukrami oraz (iii) kompleksy zawierające inne ligandy chelatujące. „*Wstęp teoretyczny*” liczy 40 stron i został oparty na 127 pozycjach literaturowych, w znacznym stopniu opublikowanych w ostatniej dekadzie, co potwierdza aktualność podejmowanej problematyki oraz bardzo dobrze wprowadza Czytelnika w tematykę badań Doktorantki.

W rozdziale „*Cel pracy*” Autorka podkreśliła, że prowadzone badania ukierunkowane są na otrzymanie związków wykazujących cytotoksyczość porównywalną z cisplatyną, przy jednocześnie niższej toksyczości ogólnej oraz mniejszej skłonności do rozwoju lekooporności związanej z wiązaniem (inaktywacją) przez glutation. W tej części, obok sformułowania celu głównego pracy, Doktorantka przedstawia również plan badawczy.

Kolejny rozdział rozprawy zatytułowany „*Część eksperymentalna*” obejmujący 23 strony zawiera szczegółowe opisy syntez ligandów i kompleksów Pt(II) i Ru(II), metodykę badań umożliwiającą potwierdzenie ich czystości, tożsamości oraz struktury, a także opis metodyki badań fizykochemicznych oraz badań biologicznych. Wszystkie syntezy opisane są bardzo starannie. Zsyntetyzowane związki zostały scharakteryzowane za pomocą widm NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  oraz  $^{195}\text{Pt}$  NMR) oraz widm w zakresie podczerwieni (ATR-FTIR). Czystość kompleksów platyny(II) oraz ich skład stechiometryczny potwierdzono za pomocą analizy elementarnej oraz spektrometrii mas. Doktorantka zamieściła również jasne informacje dotyczące udziału innych osób w syntezie wybranych ligandów oraz jednoznacznie wskazała, które elementy badań zostały wykonane przez nią w ramach jej prac dyplomowych. Takie transparentne przedstawienie wkładu poszczególnych wykonawców należy ocenić jako szczególnie cenne i świadczące o rzetelności oraz uczciwości naukowej Autorki. W dalszej kolejności przedstawiono opis zastosowanej aparatury oraz określono warunki otrzymywania kryształów przeznaczonych do analiz rentgenostrukturalnych. Następnie przedstawiono metodykę badań lipofilowości otrzymanych związków oraz ich reaktywności względem glutationu i DNA. Nie określiłabym jednak tej części mianem badań biologicznych – trafniej byłoby mówić o charakterystyce właściwości fizykochemicznych kompleksów oraz ocenie ich reaktywności. W dalszej kolejności opisano procedury związane z badaniami *in vitro*: oceną cytotoksyczości i właściwości antyproliferacyjnych, a także analizą wpływu związków na cykl komórkowy. Rozdział zakończono opisem procedury enkapsulacji. Całość została opracowana bardzo przejrzysto i logicznie; zawiera komplet kluczowych informacji metodycznych, co zwiększa czytelność pracy oraz ułatwia odtworzenie badań i krytyczną interpretację uzyskanych wyników.

W „*Części eksperymentalnej*” również znajduje się podrozdział „*Dyskusja wyników*” (44 strony) i obejmuje prezentację rezultatów badań wraz z ich analizą oraz pogłębioną dyskusją. W pierwszej części przedstawiono dane eksperymentalne dotyczące otrzymanych kompleksów platyny i rutenu. Wszystkie związki zostały jednoznacznie zidentyfikowane i scharakteryzowane z wykorzystaniem metod spektroskopowych, a dla wybranych kompleksów uzyskano również monokryształy, co umożliwiło przeprowadzenie



rentgenowskiej analizy strukturalnej. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt wyznaczenia struktur krystalicznych aż dla pięciu badanych związków, co należy uznać za istotne osiągnięcie Doktorantki. Uzyskane wyniki zostały opracowane rzetelnie i przejrzysto oraz opatrzone adekwatnym komentarzem. Wyraźnie widoczna jest duża biegłość Doktorantki w zakresie analizy danych NMR, w tym w stosowaniu i interpretacji eksperymentów dwuwymiarowych.

W drugiej części tego rozdziału Doktorantka przedstawiła wyniki badań lipofilowości związków, na podstawie których dokonała selekcji kompleksów Pt(II) i Ru(II) do dalszych analiz, obejmujących ocenę reaktywności wobec glutationu. Należy zaznaczyć, że badania reaktywności z glutationem przeprowadzono wyłącznie dla kompleksów platyny. W ramach pierwszego etapu badań *in vitro* dla związków Pt(II) oceniono dla wybranych kompleksów dwa stężenia (1 oraz 10  $\mu\text{M}$ ) na czterech liniach komórkowych, wyznaczając procent przeżywalności komórek. Uzyskane wyniki pozwoliły na wyłonienie najbardziej cytotoksycznych związków (Pt1, Pt4 oraz Ru2), dla których następnie określono parametr  $\text{IC}_{50}$  wobec pięciu linii nowotworowych oraz jednej linii prawidłowej. W celu zwiększenia aktywności cytotoksycznej kompleksu Pt4 podjęto próbę jego modyfikacji poprzez zastąpienie ligandów chlorkowych ligandami szczawianowymi, jednak zabieg ten nie przelożył się na znaczącą poprawę cytotoksyczności. Kolejną strategią było enkapsulowanie wybranych związków w micelach kopolimerowych Pluronic®P123 i Pluronic®P127; podejście to okazało się skuteczne, umożliwiając uzyskanie układów o bardzo wysokiej aktywności cytotoksycznej, z wartościami  $\text{IC}_{50}$  poniżej 1  $\mu\text{M}$ . Bardzo cennym elementem badań nad kompleksami enkapsulowanymi była szczegółowa charakterystyka wielkości miceli z wykorzystaniem komplementarnych technik DLS i TEM oraz oznaczenie średniego stężenia jonów metali w micelach metodą ICP-MS. W swojej rozprawie doktorantka stwierdza: „*Obserwowana wyraźna poprawa aktywności cytotoksycznej po enkapsulacji jest zbyt duża, aby można ją było tłumaczyć jedynie zwiększoną rozpuszczalnością kompleksów.*” Przytoczone stwierdzenie świadczy o dużej dojrzałości naukowej oraz krytycznej świadomości Doktorantki w zakresie skomplikowanej natury układów biologicznych i wyzwań związanych z badaniem mechanizmów działania leków. W dalszej części rozprawy Doktorantka przedstawiła wyniki badań dotyczących wpływu kompleksów Pt1, Pt4, Pt8 oraz Ru2 na aktywność antyproliferacyjną, ocenianą z wykorzystaniem testu BrdU, ich oddziaływania na cykl komórkowy, a także reaktywności wobec plazmidowego DNA. Uzyskane wyniki wskazują, że mechanizm działania badanych związków różni się od mechanizmu obserwowanego dla cisplatyny.

Podsumowując tę część pracy, należy podkreślić, że warsztat badawczy Doktorantki jest bardzo bogaty i obejmuje szerokie spektrum różnorodnych technik eksperymentalnych, pokrótce omówionych powyżej. Znaczny nakład pracy, jaki Doktorantka włożyła w realizację założonych celów, znajduje odzwierciedlenie w kolejnym rozdziale pt. „*Podsumowanie i wnioski*”, w którym przedstawiono najważniejsze konkluzje. Zostały one sformułowane w sposób zwięzły i trafny, adekwatnie podsumowując uzyskane wyniki. Z kolei rozdział



„Dalsze perspektywy badawcze” wskazuje na potrzebę kontynuacji rozpoczętych badań, a zarazem unaocznia, jak rozległa i wielowątkowa jest to dziedzina oraz jak wiele istotnych pytań pozostaje nadal otwartych. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorantka nie ogranicza się do prostego podsumowania rezultatów, lecz proponuje logicznie uzasadnione kierunki dalszych prac, wynikające bezpośrednio z przedstawionych danych. Taka umiejętność krytycznej oceny własnych wyników oraz identyfikowania kolejnych etapów badań świadczy o dojrzałości naukowej i dobrze rokuje dla dalszego rozwoju prowadzonych prac.

Ostatnia część doktoratu to bibliografia obejmująca 191 pozycji oraz jej dorobek naukowy.

Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki, uzyskanych w toku realizacji opisanych powyżej zadań badawczych składających się na recenzowaną Dysertację, należy zaliczyć:

1. otrzymanie, pełną charakterystykę oraz kompleksowe badania biologiczne kompleksów Pt(II) o obniżonej reaktywności względem glutationu, co może świadczyć o ich zmniejszonej tendencji do rozwijania mechanizmów lekooporności;
2. wykazanie, że enkapsulacja badanych związków w micelach opartych na Pluronic® P123 nie tylko sprzyja zwiększonej akumulacji związków w komórkach, lecz również może prowadzić do uruchomienia odmiennego mechanizmu działania. Aspekt ten pozostaje otwarty badawczo i stanowi bardzo obiecującą podstawę do dalszych, pogłębionych badań w tym obszarze.

Część wyników przedstawionych w rozprawie została już opublikowana, a tym samym poddana wnikliwej ocenie specjalistów w toku recenzji. Pozostała część wyników została przesłana do recenzji i z pewnością zostanie wkrótce opublikowana. W ramach obowiązków recenzenta przedstawiam poniżej kilka zagadnień, które warto przedyskutować podczas obrony rozprawy doktorskiej:

1. W jaki sposób wyznaczano wartości IC50 w badaniach kompleksów enkapsulowanych (co brano pod uwagę jako stężenie związku, jak podawano zawiesinę)?
2. Czy badania *in vitro* były prowadzone samodzielnie przez Doktorantkę, a jeśli tak to które etapy (hodowle komórkowe, przygotowanie próbek, pomiary, analiza danych) realizowała osobiście?
3. Jakie były największe wyzwania eksperymentalne związane z enkapsulacją kompleksów platyny w micelach opartych na Pluronic® P123 i jakie czynniki w największym stopniu wpływały na efektywność tego procesu?

Podsumowując moją ocenę rozprawy doktorskiej Pani mgr Adriany Kaszuby, pragnę podkreślić wysoki poziom merytoryczny przeprowadzonych badań. Świadczą one o bardzo dobrych kompetencjach Doktorantki w zakresie chemii koordynacyjnej, zaawansowanych metod spektroskopowych oraz badań krystalograficznych, a także o jej otwartości na zagadnienia związane z biologicznymi aspektami prowadzonych prac badawczych. Wyniki



badania przedstawionych w recenzowanej rozprawie doktorskiej zostały już częściowo opublikowane w dwóch artykułach oryginalnych w czasopismach z bazy JCR: *Polyhedron* oraz *Dalton Transactions* (w obu przypadkach Doktorantka jest pierwszą współautorką), a kolejna praca znajduje się obecnie w recenzji (*Dalton Transactions*). Doktorantka jest ponadto współautorką pracy opublikowanej w *International Journal of Molecular Sciences*, również poświęconej syntezie oraz badaniom biologicznym kompleksów platyny. Na szczególną uwagę zasługuje także jej współautorstwo, wraz z Promotorką, zgłoszenia patentowego. Pani mgr Adriana Kaszuba aktywnie uczestniczyła w licznych krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych; znaczna liczba zaprezentowanych komunikatów potwierdza jej dojrzałość naukową oraz umiejętność prezentowania wyników własnych badań. Ponadto Doktorantka odbyła staże naukowe w renomowanych ośrodkach krajowych i zagranicznych (Uniwersytet Jagielloński, Uniwersytet w Pizie), na które pozyskała środki grantowe.

Ja niżej podpisana stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Adriany Kaszuby stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdzając wiedzę oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych przez Doktorantkę, zatem spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określone w art.13 *Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym 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 z późn. zmianami). Wnoszę więc do Rady Dyscypliny Nauki Chemicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie Pani mgr Adriany Kaszuby do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, z uwagi na wysoką wartość merytoryczną uzyskanych wyników, omówioną przeze mnie we wcześniejszej części recenzji oraz ich opublikowanie w uznanych czasopismach, stawiam wniosek do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy.

Krzysztof Brudel