

**Prof. dr hab. Alina Bienko****08.05.2026****alina.bienko@uwr.edu.pl**

Recenzja rozprawy doktorskiej *pt. „Nowe azolowe związki koordynacyjne platyny(II) i rutenu(II): synteza, charakterystyka strukturalna i ocena potencjału przeciwnowotworowego”* przedstawionej przez **Panią magister** Adrianę Kaszubę w celu uzyskania stopnia naukowego doktora nauk chemicznych.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Adriany Kaszuby, wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Iwony Łakomskiej ukierunkowana jest w głównej mierze na zaprojektowanie nowych związków koordynacyjnych o potencjalnym zastosowaniu przeciwnowotworowym. Tematyka rozprawy wpisuje się w aktualny i intensywnie rozwijany nurt badań z powodzeniem realizowany przez Promotorkę przedstawionej do recenzji dysertacji, Panią profesor Iwonę Łakomską. Poszukiwanie alternatyw dla klasycznych cytostatyków platyny(II), charakteryzujących się wysoką toksycznością oraz narastającą opornością komórek nowotworowych, stanowi obecnie jedno z najważniejszych wyzwań chemii medycznej i bionieorganicznej. W tym kontekście podjęta przez Doktorantkę problematyka naukowa jest w pełni uzasadniona, aktualna i posiada istotne znaczenie zarówno poznawcze, jak i aplikacyjne. Przedłożona rozprawa obejmuje szeroko zakrojone badania dotyczące syntezy nowych azolowych kompleksów platyny(II) i rutenu(II), ich charakterystyki strukturalnej oraz oceny ich potencjału przeciwnowotworowego. W szczególności badania skoncentrowano na analizie wpływu rodzaju liganda azolowego oraz modyfikacji środowiska koordynacyjnego metalu na właściwości fizykochemiczne i aktywność biologiczną otrzymanych związków. Dodatkowym celem było określenie możliwości wykorzystania układów micelarnych jako nośników poprawiających właściwości biologiczne badanych kompleksów oraz wskazanie zależności pomiędzy strukturą otrzymanych układów a ich aktywnością przeciwnowotworową.

Z formalnego punktu widzenia oceniana rozprawa doktorska zawarta jest na 150 stronach maszynopisu i ma klasyczną formę książki. Opracowanie obejmuje 13 podstawowych części: wykaz używanych skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wprowadzenie, wstęp teoretyczny, cel pracy, część teoretyczna zawierająca m.in. przegląd literatury, część doświadczalną prezentującą procedury preparatywne i metodykę pomiarów, wyniki badań i ich dyskusję, podsumowanie, dorobek naukowy oraz bibliografię. Struktura pracy, typowa dla rozpraw doktorskich z zakresu nauk eksperymentalnych, jest przejrzysta, odpowiada tytułowi, koncepcji i zakresowi wykonywanych badań. W bibliografii, obejmującej 191 pozycji, została uwzględniona kluczowa literatura przedmiotu, w większości stanowią ją pozycje z ostatnich kilkunastu lat. Należy podkreślić, że praca została przygotowana bardzo starannie pod względem edytorskim.

Układ rozprawy jest logiczny i przejrzysty. Część literaturowa przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący przeciwnowotworowych kompleksów platyny i rutenu, ze szczególnym uwzględnieniem roli ligandów triazolowych oraz strategii projektowania nowych metalo-leków. Na podkreślenie zasługuje bardzo szeroki i dobrze dobrany przegląd literatury. Część eksperymentalna obejmuje syntezę szeregu nowych związków koordynacyjnych platyny(II) i rutenu(II) zawierających ligandy azolowe, a następnie ich kompleksową charakterystykę z wykorzystaniem nowoczesnych metod badawczych. Doktorantka zastosowała m.in. spektroskopię NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  oraz  $^{195}\text{Pt}$ ), spektroskopię IR, dyfrakcję rentgenowską monokryształów oraz obliczenia DFT. Pozwoliło to na jednoznaczne określenie składu oraz geometrii otrzymanych kompleksów. Należy zauważyć, że rozprawa cechuje się bardzo wysoką jakością części eksperymentalnej, dużą liczbą wykonanych analiz oraz dojrzałością naukową w zakresie planowania i prowadzenia badań.

Szczególnie wartościowym elementem rozprawy są szeroko zakrojone badania biologiczne otrzymanych związków. Doktorantka przeprowadziła ocenę lipofilowości, reaktywności względem glutationu, aktywności cytotoksycznej i antyproliferacyjnej, a także analizę wpływu kompleksów na cykl komórkowy i ich oddziaływanie z DNA. Tak kompleksowe podejście pozwoliło na wytypowanie czterech (trzech Pt(II) i jednego Ru(II)) szczególnie obiecujących układów o potencjalnym zastosowaniu przeciwnowotworowym. Na uwagę zasługują zwłaszcza wyniki wskazujące, że wybrane kompleksy wykazują niższą toksyczność wobec komórek prawidłowych oraz odmienny mechanizm działania niż klasyczna cisplatyna. Interesującym i nowoczesnym aspektem badań jest również wykorzystanie procesu enkapsulacji w miceli Pluronic®P123 jako systemu nanoosiłkowego poprawiającego właściwości biologiczne badanych

kompleksów. Uzyskane submikromolarne wartości  $IC_{50}$  kompleksu po enkapsulacji stanowią bardzo obiecujący rezultat.

Praca posiada również wysoką wartość poznawczą. Szczególnie istotne w tym aspekcie jest w mojej ocenie wykazanie zależności pomiędzy strukturą ligandów azolowych a właściwościami biologicznymi otrzymanych kompleksów.

Rozprawa została napisana poprawnym i precyzyjnym językiem naukowym. Przedstawione wyniki są dobrze udokumentowane i poddane właściwej analizie. Co istotne Doktorantka wykazała się bardzo dobrym warsztatem eksperymentalnym oraz umiejętnością interpretacji wyników z wykorzystaniem zarówno metod eksperymentalnych, jak i obliczeniowych. W konsekwencji uzyskane wyniki posiadają potencjał publikacyjny i mogą stanowić podstawę dalszych badań nad nową generacją metalo-leków przeciwnowotworowych.

#### **Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki należy zaliczyć:**

- fakt, że Pani mgr Kaszuba zrealizowała kompleksowy program badawczy obejmujący syntezę nowych związków koordynacyjnych platyny(II) i rutenu(II) (11 nowych układów), ich szczegółową charakterystykę fizykochemiczną, badania strukturalne (dla 5 związków wyznaczono struktury krystaliczne), obliczenia teoretyczne oraz szeroko zakrojone badania biologiczne;
- interdyscyplinarny charakter pracy, łączący chemię koordynacyjną, chemię medyczną, biofizykę i modelowanie molekularne. Doktorantka wykazała się bardzo dobrym opanowaniem nowoczesnych metod eksperymentalnych oraz umiejętnością krytycznej interpretacji uzyskanych wyników.
- otrzymanie układów koordynacyjnych o wysokiej aktywności przeciwnowotworowej (4 takie układy), w tym kompleksów wykazujących korzystniejsze właściwości biologiczne względem klasycznych leków platynowych. Szczególnie wartościowe są wyniki dotyczące wpływu enkapsulacji w micelach Pluronic®P123 na wzrost aktywności biologicznej badanych kompleksów oraz zmniejszenie ich toksyczności wobec komórek prawidłowych.

Obowiązkiem recenzenta jest również wskazanie kwestii wymagających dyskusji lub drobnych uzupełnień. Dlatego w tym miejscu proszę Panią Adrianę o:

1. Szersze przedyskutowanie zależności pomiędzy lipofilowością badanych kompleksów a ich aktywnością biologiczną. Informacje przedstawione na ten temat w pracy budzą pewien niedosyt. Lipofilowość stanowi bowiem jeden z kluczowych czynników wpływających na aktywność przeciwnowotworową związków koordynacyjnych, ponieważ determinuje m.in.: zdolność przenikania przez błony komórkowe, biodostępność, transport wewnątrzkomórkowy, a także selektywność wobec komórek nowotworowych i prawidłowych. W rozprawie Pani

mgr Kaszuba określa różnice w aktywności biologicznej pomiędzy poszczególnymi kompleksami, jednak zabrakło bardziej szczegółowej analizy, czy zmiany aktywności korelują bezpośrednio ze zmianami lipofilowości, czy też wynikają dodatkowo z innych czynników, takich jak: geometria kompleksu, labilność ligandów, stabilność w środowisku biologicznym, czy zdolność generowania ROS. W mojej ocenie szczególnie interesujące byłoby odniesienie uzyskanych wartości lipofilowości do efektywności transportu przez błony komórkowe oraz do obserwowanych różnic cytotoxyczości względem komórek nowotworowych i prawidłowych. Pozwoliłoby to lepiej wyjaśnić mechanizm działania badanych układów oraz wskazać, które cechy strukturalne w największym stopniu odpowiadają za ich aktywność biologiczną.

2. Interesujące byłoby również bardziej szczegółowe odniesienie uzyskanych wyników do aktualnych badań klinicznych nad kompleksami rutenu. Brakuje również bezpośredniego zestawienia aktywności tych układów z ich analogami znanymi w literaturze.

3. Lektura dysertacji wskazuje, że w Doktorantka zastosowała metodę spektroskopii NMR do analizy struktury otrzymanych związków w roztworze. Czy trwałość otrzymanych układów w roztworze była potwierdzana również innymi metodami?

4. W kilku miejscach pracy można byłoby nieco ograniczyć część opisową na rzecz bardziej syntetycznej dyskusji wyników.

5. Pomimo szeroko zakrojonych badań biologicznych obejmujących ocenę cytotoxyczości, oddziaływań z DNA, generowania reaktywnych form tlenu (ROS) oraz wpływu na cykl komórkowy, dyskusja mechanizmu działania badanych kompleksów pozostaje częściowo opisowa i mogłaby zostać bardziej pogłębiona. W szczególności zabrakło próby jednoznacznego powiązania obserwowanych efektów biologicznych z określonym mechanizmem molekularnym odpowiedzialnym za aktywność przeciwnowotworową badanych układów. Uzyskane wyniki sugerują możliwość współistnienia kilku ścieżek działania, takich jak: indukcja stresu oksydacyjnego, oddziaływanie z DNA, zaburzenia funkcji mitochondriów, czy aktywacja szlaków apoptotycznych, jednak zależności pomiędzy tymi procesami nie zostały szerzej przedyskutowane. Interesujące byłoby również bardziej krytyczne odniesienie uzyskanych wyników do mechanizmów działania klasycznych leków platynowych oraz współczesnych kompleksów rutenu opisywanych w literaturze. Pozwoliłoby to lepiej określić, czy badane związki działają analogicznie do znanych cytostatyków, czy też reprezentują potencjalnie odmienny mechanizm aktywności biologicznej.

***Chciałabym jednak podkreślić, że przedstawione uwagi czy spostrzeżenia nie umniejszają wartości przeprowadzonych badań eksperymentalnych, lecz wynikają z ciekawości naukowej i***

mogą wskazywać możliwy kierunek dalszego rozwinięcia bardzo interesujących wyników przedstawionych w rozprawie. Mogą również stanowić przyczynek do dyskusji w czasie obrony.

Poziom edytorski pracy jest dobry, w szczególności imponują starannie wykonane rysunki, które są na ogół bardzo przejrzyste, pomimo prezentacji dużej ilości danych. Dobrze opracowane wyniki, czytelne tabele świadczą o dużym zaangażowaniu Autorki w swoją pracę badawczą oraz o Jej dojrzałości naukowej, która przejawia się umiejętnościami zaprezentowania rezultatów swoich poszukiwań naukowych w sposób interesujący i przekonywujący.

Dojrzałość naukową Doktorantki potwierdza również Jej dorobek naukowy. Wyniki prezentowane w rozprawie doktorskiej zostały wcześniej pozytywnie ocenione w skali międzynarodowej i opublikowane z udziałem Doktorantki w 3 artykułach w czasopismach z bazy JCR z dużym lub średnim współczynnikiem wpływu (ImF): Dalton Trans, Int. J. Mol. Sci., Polyhedron. Kolejna praca, jak deklaruje Autorka jest w trakcie recenzji. Ponadto, Doktorantka jest współautorką jednego patentu. Należy podkreślić, że publikacje te mają charakter interdyscyplinarny i obejmują zagadnienia związane z syntezą nowych związków koordynacyjnych, ich charakterystyką strukturalną oraz oceną aktywności biologicznej. Na uznanie zasługuje również aktywność Pani mgr Kaszuby na różnego rodzaju międzynarodowych i krajowych konferencjach i zjazdach, na których prezentowała referaty obejmujące szeroki zakres zagadnień chemicznych.

Przedstawiona do recenzji praca jest spójna, napisana w sposób przejrzysty, zrozumiałym językiem, a poszczególne jej części są ze sobą właściwie powiązane. Autorka nie ustrzegła się jednak błędów redakcyjnych (różne odstępki przed jednostkami, nierówne marginesy tabel, brak kursywy dla symboli fizycznych, niespójny zapis: IC<sub>50</sub>, IC<sub>50</sub>, zarejestrowanych zamiast zarejestrowanych) niewłaściwych sformułowań czy niekonsekwencji stosowanej terminologii, np.: określenia „aktywność przeciwnowotworowa”, „aktywność antyproliferacyjna” czasem używane są zamiennie bez rozróżnienia, które jednakże nie rzutują znacząco na wartość poznawczą pracy.

Podsumowując pragnę podkreślić, że Doktorantka podjęła ważny i oryginalny problem badawczy, a rozprawa przedstawia wysoki poziom naukowy, zawiera nowy i wartościowy materiał eksperymentalny oraz wnosi istotny wkład do badań nad przeciwnowotworowymi związkami koordynacyjnymi platyny(II) i rutenu(II). Doktorantka wykazała się umiejętnością samodzielnego prowadzenia badań naukowych, właściwego doboru metod badawczych oraz krytycznej analizy uzyskanych wyników. W związku z powyższym stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Adriany Kaszuby pt: „Nowe azolowe związki koordynacyjne platyny(II) i rutenu(II): synteza, charakterystyka strukturalna i ocena potencjału przeciwnowotworowego” spełnia wymogi określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce”, tekst ujednolicony ogłoszony w Dzienniku Ustaw: Dz.U. 2023 poz. 742 z późn.

zm. i wnioskuję do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr Adriany Kaszuby do publicznej obrony pracy doktorskiej.

*Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoki poziom merytoryczny rozprawy, trudność i aktualność tematu, oryginalność uzyskanych wyników, szeroki zakres zastosowanych metod badawczych oraz znaczący wkład Doktorantki w rozwój chemii bionieorganicznej i medycznej wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o wyróżnienie recenzowanej przeze mnie rozprawy. Wyniki badań stanowiące podstawę dysertacji zostały opublikowane lub skierowane do publikacji w uznanych międzynarodowych czasopismach naukowych z zakresu chemii koordynacyjnej, bionieorganicznej oraz chemii medycznej, co potwierdza zarówno wysoki poziom naukowy prowadzonych badań, jak i ich znaczenie dla rozwoju dyscypliny. W szczególności należy również podkreślić znakomite planowanie eksperymentów i dojrzałą analizę wyników, umiejętność rozwiązywania napotkanych problemów oraz, co oczywiście najważniejsze, istotne i liczne elementy nowości naukowej uzyskanych rezultatów.*

Alina Bieńko

Alina Bieńko