

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



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Kraków, 1 czerwca 2020 roku

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr Mateusza Jakubowskiego
zatytułowanej**

***„Projektowanie, charakterystyka spektroskopowa i cytotoksyczność nowych,
mieszanych kompleksów platyny(II) z ligandami N-, O- i S-donorowymi”***

Praca doktorska Pana mgr Mateusza Jakubowskiego 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 wyzwań współczesnej medycyny jest zwiększenie skuteczności leczenia nowotworów, które są jedną z głównych przyczyn zachorowalności i umieralności ludzi na całym świecie. Pomimo ogromnego nakładu pracy naukowców pokonanie choroby nowotworowej wciąż wydaje się odległe. Na przeszkodzie stoi nie tylko brak skutecznych związków, ale nawet te, które wykazują obiecujące właściwości przeciwnowotworowe na etapie badań, nie są wprowadzone do użycia ze względu na bardzo trudny i kosztowny proces przeprowadzania związku przez badania kliniczne. Jedną ze strategii w projektowaniu leków jest modyfikowanie związków, które są już wykorzystywane jako leki. Takim lekiem jest m.in. cisplatyna, używana w leczeniu już ponad 40 lat i mimo wielu niekorzystnych efektów ubocznych wciąż często wykorzystywana przez onkologów. W użyciu są również jej analogii m.in. karboplatyna i oksaliplatyna, w których poprzez wprowadzenie O,O-donorowych dikarboksylanów uzyskano obniżenie toksyczności, jednak ich aktywność nie poprawiła się znacząco. Tematyka przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej p. mgr Mateusza Jakubowskiego doskonale wpisuje się w ten obszar badawczy bazujący na poszukiwaniu związków platyny o lepszym profilu działania tj. zmniejszeniu toksyczności z równoczesnym zwiększeniem skuteczności. Jest to kontynuacja badań realizowanych przez zespół Pani Profesor Iwony Łakomskiej, która od lat zajmuje się tą tematyką badawczą. Należy podkreślić, iż mimo wielu prac naukowych nad modyfikacją kompleksów platyny

Wydział Chemii

Zakład Chemii
Nieorganicznej

Gronostajowa 2
30-387 Kraków, Polana
tel. +48(12) 686 2770
fax +48(12) 686 2750
sekretar@chemia.uj.edu.pl
www.chemia.uj.edu.pl

związki otrzymane przez Doktoranta można uznać za oryginalny wkład w rozwój tych badań.

Główny celem recenzowanej pracy była synteza a następnie charakterystyka spektroskopowa oraz fizykochemiczna biblioteki kompleksów platyny(II) posiadających w sferze koordynacyjnej jednocześnie ligandy O-, N- i S-donorowe. Dodatkowym celem recenzowanej rozprawy była ocena cytotoksyczności otrzymanych związków oraz wyselekcjonowanie najbardziej obiecujących z nich do szerszych badań biologicznych.

Przedstawiona do oceny rozprawa rozpoczyna się krótkim ogólnym wprowadzeniem uzasadniającym potrzebę podjętych przez Doktoranta prac badawczych. Następnie Doktorant w rozdziale „*Część teoretyczna*” scharakteryzował wybrane ligandy O-, N- i S-donorowe oraz ich połączenia z jonami metali, wskazał też ich potencjał biologiczny. Dalej w tej części omówił właściwości fizykochemiczne, biologiczne oraz efekty kliniczne obecnie stosowanych kompleksów platyny(II) z ligandami O,O donorowymi. Najcenniejszą częścią tego opracowania jest rozdział ostatni dotyczący opracowania prezentowanych w literaturze kierunków poszukiwań nowych dikarboksylowych kompleksów platyny(II). Może on stanowić doskonałe kompendium wiedzy o obecnie panujących trendach a licznie przytoczone dane wskazują na dogłębną analizę tej tematyki przez Autora. „*Część teoretyczna*” obejmuje 37 stron i jest oparta na 129 pozycjach literaturowych, w dużej mierze pochodzących z ostatnich 10 lat, co świadczy o aktualności podjętej przez Doktoranta tematyki badawczej.

W rozdziale „*Cel pracy*” Autor pokreślił, iż przeprowadzone studia literaturowe wyraźnie wykazały, że kompleksy platyny(II) typu PtO₂NS nie były szerzej badane, udało się odnaleźć jedynie dwa takie kompleksy, i skłoniło go to do podjęcia się syntezy i charakterystyki tego typu kompleksów. W tej części oprócz omówienia celu głównego pracy, który opisałam powyżej, podaje cele szczegółowe, stanowiące swoisty plan badawczy. Przegląd literatury oraz podsumowanie wyników badań uzyskanych przez innych naukowców jednoznacznie wskazują na celowość podjętego przez Doktoranta tematu badawczego.

Kolejny rozdział rozprawy zatytułowany „*Część eksperymentalna*” obejmujący 33 strony zawiera szczegółowe opisy syntez ligandów i kompleksów z platyną(II), metodykę badań dotyczącą potwierdzenia 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 (¹H, ¹³C, ¹⁵N oraz ¹⁹⁵Pt NMR) oraz widm w zakresie podczerwieni (ATR-FTIR). Czystość kompleksów platyny(II) oraz ich skład stechiometryczny potwierdzono za pomocą analizy elementarnej



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Chemii

Zakład Chemii
Nieorganicznej

Gronostajowa 2
30-387 Kraków, Polanc
tel. +48(12) 686 2770
fax +48(12) 686 2750
sekretar@chemia.uj.edu.pl
www.chemia.uj.edu.pl



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

oraz spektrometrii mas. Kolejno opisano metodykę badań lipofilowości związków, ich stabilności w roztworze wodnym w zależności od pH oraz reaktywności w stosunku do glutationu i albuminy. Wymienione typy badań nie nazwałabym badaniami biologicznymi, a raczej określeniem właściwości fizykochemicznych kompleksów oraz ich reaktywności. Dalej opisano procedury związane z badaniami *in vitro* cytotoksyczności, mechanizmu śmierci komórkowej, wpływu na cykl komórkowy, generowania reaktywnych form tlenu oraz badania toksyczności *in vivo*.

Kolejny rozdział zatytułowany „Dyskusja wyników” jest najobszerniejszy (38 stron) i zawiera wyniki badań oraz ich analizę i dyskusję. W pierwszej części zostały przedstawione dane eksperymentalne dotyczące otrzymanych kompleksów platyny(II). Każdy z kompleksów zidentyfikowano i scharakteryzowano wykorzystując techniki spektroskopowe (spektroskopia w podczerwieni oraz spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego), a dla niektórych związków również otrzymano kryształy, co pozwoliło na rentgenowską analizę strukturalną monokryształów. Otrzymane dane eksperymentalne są starannie opracowane i opatrzone odpowiednim komentarzem. Szczególnie pomocne w analizie danych otrzymanych przez Doktoranta jest ich zestawienie w tabelach. Pozwala na ich szybką analizę i porównanie. Wyraźnie widać dużą biegłość Autora w posługiwaniu się techniką NMR, również dwuwymiarową. W drugiej części tego rozdziału Doktorant przedstawił badania dotyczące lipofilowości, reaktywności i aktywności biologicznej wybranych związków. Badania cytotoksyczności zostały przeprowadzone dla grupy 4 kompleksów typu $PtO_2(N\text{-zasada})(dmsO)$ oraz kompleksów platyny posiadających jako ligandy rybozyd kinetyny lub PTR (1- β -D-rybofuranozylo-4-(2-pirydylo)-1,2,3-triazol) a jako związki referencyjne użyto cisplatynę i karboplatynę. Badania te były wykonane w ramach współpracy z Instytutem Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu oraz Zakładem Medycyny Regeneracyjnej, Banku Komórek i Tkanek CM UMK w Toruniu. Wykonano dla nich również pomiar lipofilowości określając parametr $\log P_{o/w}$. Dla kompleksów typu $PtO_2(N\text{-zasada})(dmsO)$ przeprowadzono badania kinetyki hydrolizy zasadowej pokazując, iż jedynym obserwowanym procesem było otwieranie sześciocząłowego pierścienia utworzonego przez dikarboksylan, natomiast nie zarejestrowano dysocjacji liganda dmsO. Doktorant wykazał również, iż te kompleksy wykazują mniejszą reaktywność w stosunku do GSH niż cisplatyna czy karboplatyna, co jest efektem pożądanym, gdyż wykazano m.in. dla oksaliplatyny, iż wiązanie z GSH prowadzi do jej dezaktywacji. Dalsze badania były przeprowadzone już tylko dla związku oznaczonego w pracy numerem 15 ($Pt(mal)(dmsO)(dptp)$). Doktorant pokazał, iż jego oddziaływanie z albuminą jest rzędu $10^{-6}M^{-1}$ co wskazuje na możliwość jego transportu przez albuminę. Wykazał, iż związek ten generuje reaktywne formy tlenu w komórkach, wpływa na cykl

Wydział Chemii

Zakład Chemii
Nieorganicznej

Gronostajowa 2
30-387 Kraków, Polanc
tel. +48(12) 686 2770
fax +48(12) 686 2750
sekretar@chemia.uj.ec
www.chemia.uj.edu.pl



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

komórkowy a przy dłuższej ekspozycji indukuje apoptozę. W ostatnim rozdziale tej pracy opisano toksyczność tego związku oraz jego enkapsulowanej formy z wykorzystaniem kopolimeru Pluronic®P123 w warunkach *in vivo*. Badania te wykonano we współpracy z dr. hab. Januszem Dąbrowskim, prof. UJ (Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego) i z Małopolskim Centrum Biotechnologii UJ a otrzymane wyniki były obiecujące i predysponują ten związek do dalszych badań. Podsumowując tę część pracy należy podkreślić, iż warsztat badawczy Doktoranta jest bardzo bogaty, obejmuje on różnorodne techniki badawcze wymienione już pokrótce powyżej. Olbrzymi nakład pracy jaki Doktorant włożył w realizację założonych celów ma swoje odzwierciedlenie w kolejnym rozdziale pt. „Wnioski i uogólnienia”, gdzie zostały przedstawione najważniejsze wnioski, które w sposób pełny i zwięzły przedstawiają wyniki pracy Doktoranta.

W dalszej części rozprawy zostały umieszczone straszenia pracy w języku polskim i angielskim oraz spisy tabeli i rysunków. Na końcu znajduje się wykaz pozycji literaturowych cytowanych w pracy oraz dorobek naukowy Doktoranta.

Do najważniejszych osiągnięć Doktoranta uzyskanych w trakcie realizacji zarysowanych powyżej zadań badawczych składających się na recenzowaną Dysertację należą:

1. Uzyskanie i scharakteryzowanie aż 24 nowych kompleksów platyny(II).
2. Wyselekcjonowanie związku o obiecujących parametrach biologicznych.

Część wyników umieszczonych w pracy została już opublikowana, a więc poddana wnikliwej ocenie przez specjalistów, natomiast duża część pracy stanowi świetny materiał publikacyjny. Z obowiązków recenzenta wymienię kilka punktów do przedyskutowania podczas obrony pracy doktorskiej.

1. W „Części teoretycznej” zabrakło charakterystyki i omówienia kompleksów platyny z pozostałymi dwoma ligandami S-donorowymi tj. difenylosulfotlenkiem oraz tlenkiem 1-tetrahydrotiofenu – proszę, aby Doktorant wypowiedział się w tej kwestii.
2. Rys. 15 –przedstawia m.in. kompleksy Pt(II) z GSH, Met, Cys, które są proponowane jako nieaktywne metabolity. Czy coś wiadomo w jaki sposób te aminokwasy czy peptyd są koordynowane do jonów platyny(II)?
3. Czy badania *in vitro* były prowadzone samodzielnie przez Doktoranta?
4. Czy udało się znaleźć korelację pomiędzy lipofilowością badanych związków a ich cytotoksycznością?
5. Czy Doktorant mógłby przedstawić kierunki dalszych badań, które mogłyby stanowić kontynuację prac badawczych ujętych w pracy doktorskiej, czy też

Wydział Chemii

Zakład Chemii
Nieorganicznej

Gronostajowa 2
30-387 Kraków, Polana
tel. +48(12) 686 2770
fax +48(12) 686 2750
sekretar@chemia.uj.edu.pl
www.chemia.uj.edu.pl

propozycję innych tematów badawczych, które warte byłyby zainteresowania.

Podsumowując moją ocenę rozprawy doktorskiej pana mgr Mateusza Jakubowskiego chciałabym podkreślić wysoki poziom merytoryczny przeprowadzonych badań. Wskazują one na kompetencje Doktoranta w zakresie chemii koordynacyjnej, metod spektroskopowych oraz krystalograficznych, jak i na otwartość w kierunku wiedzy o biologicznych aspektach swojej pracy. Wyniki badań recenzowanej pracy doktorskiej zostały już częściowo opublikowane w dwóch artykułach oryginalnych w czasopiśmie z bazy JCR: *Polyhedron* i *New Journal of Chemistry* (gdzie Doktorant jest pierwszym współautorem). Jest on również współautorem dwóch innych prac opublikowanych w *Polyhedron* i *Journal of Inorganic Biochemistry*, które również dotyczą syntezy i badań biologicznych kompleksów platyny. Na szczególną uwagę zasługuje jego współautorstwo w 2 zgłoszeniach patentowych oraz udział w licznych konferencjach naukowych krajowych i międzynarodowych. Duża liczba komunikatów na tych konferencjach potwierdza dojrzałość naukową Doktoranta.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdzając wiedzę oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych przez Doktoranta, zatem spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określone w art.13 *Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 14 marca 2003 r.* (wraz z późniejszymi poprawkami). Wnoszę więc do Rady Dyscypliny Wydziału Chemii UMK w Toruniu o dopuszczenie Pana mgr Mateusza Jakubowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego i do publicznej dyskusji nad rozprawą. Ponadto, z uwagi na wysoką wartość merytoryczną uzyskanych wyników, omówioną przeze mnie we wcześniejszej części rozprawy oraz ich opublikowanie w uznanych czasopiśmie, stawiam wniosek do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy.

Marta Borek



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Chemii

Zakład Chemii
Nieorganicznej

Gronostajowa 2
30-387 Kraków, Polanc
tel. +48(12) 686 2770
fax +48(12) 686 2750
sekretar@chemia.uj.edu.pl
www.chemia.uj.edu.pl