

UNIwersytet MIKOŁAJA KOPERNIKA

WYDZIAŁ CHEMII



ul. Gagarina 7
87-100 Toruń
tel: +4856 6114510
fax: +4856 6542477

Dr hab. Iwona Łakomska, prof. UMK
Wydział Chemii UMK
Katedra Chemii Analitycznej
i Spektroskopii Stosowanej
Zespół naukowy Chemia Bionieorganiczna
ul. Gagarina 7
87-100 Toruń

Toruń, 26.08.2015 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr Olgi Mazuryk pt:

„Polypyrydył ruthenium complexes for cancer treatment and visualisation”

Recenzowana, interdyscyplinarna rozprawa doktorska mgr Olgi Mazuryk, wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Grażyny Stochel, prof. dr hab. Tomasza Brzozowskiego i dr Małgorzaty Brindell, w Zakładzie Chemii Nieorganicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, ukierunkowana na medyczne zastosowanie kompleksów rutenu, wpisuje się swoją tematyką w nurt najbardziej aktualnych badań prowadzonych zarówno przez ośrodki naukowe w kraju, jak i za granicą. Problem poszukiwania nowych nieorganicznych chemioterapeutyków jest wciąż aktualny, pomimo, że od wprowadzenia cisplatyny do powszechnej praktyki medycznej minęło prawie 40 lat. Aktualność tej tematyki badawczej wynika przede wszystkim z niezadowalającej cytotoksyczności i szeregu niepożądanych efektów ubocznych tego pierwszego onkologicznego leku. W poszukiwaniach nowych rozwiązań farmakologicznych szczególną uwagę zwrócono na połączenia rutenu(II/III), które oferują nowe perspektywy w leczeniu nowotworów niewrażliwych na cisplatynę, a szczególnie w leczeniu przerzutów. Zainteresowanie badawcze kompleksami rutenu, jako potencjalnymi lekami z możliwością ich terapeutycznych zastosowań, wynika głównie z ich trzech właściwości: i) szybkości wymiany ligandów porównywalnej do związków platyny(II); ii) szerokiego zakresu dostępnych stopni utleniania w warunkach fizjologicznych; iii) zdolności jonu rutenu do naśladowania żelaza w sposobie wiązania niektórych molekuł biologicznych takich jak np. transferyna. Ponadto oktaedryczna struktura

kompleksów(II/III) stwarza inny mechanizm aktywności, co daje nowe możliwości w terapii antynowotworowej.

Zgłębienie właśnie tej wiedzy zainspirowało mgr O. Mazuryk do podjęcia badań, których podstawowym celem było otrzymanie nowych polipirydylowych związków koordynacyjnych rutenu(II) oraz zbadanie ich właściwości fizykochemicznych, fotofizycznych, jak również biologicznych w kontekście ich potencjalnego wykorzystania w obrazowaniu zmian nowotworowych lub terapii przeciwnowotworowej. Realizacja powyższego celu wymagała przede wszystkim właściwego wyboru ligandów organicznych, a następnie przeprowadzenia skutecznej reakcji kompleksowania z jonami rutenu(II). Uważam, że to był najważniejszy, pomyślnie zrealizowany, etap pracy Doktorantki, gdyż oczekiwane właściwości biologiczne kompleksów metali, a więc również kompleksów z jonami rutenu są modulowane przez ligandy (ich właściwości donorowe, budowę strukturalną, podobieństwo do molekuł biogennych, polarność itp.). Wśród szczegółowych celów pozwalających Doktorantce rozwiązać postawiony problem naukowy wymienić należy: **i)** dokonanie rzetelnej i dogłębnej analizy doniesień literaturowych, pozwalających na ustalenie czynników determinujących cytotoksyczność *in vitro*; **ii)** poznanie mechanizmu oddziaływania kompleksów Ru(II) z biomolekułami (m.in. ct-DNA, ludzką albuminą); **iii)** ocenę ich potencjalnych właściwości przeciwrzutowych; **iv)** określenie potencjału kompleksów w diagnostyce nowotworów.

Z formalnego punktu widzenia oceniana rozprawa doktorska zawarta jest na 170 stronach maszynopisu i obejmuje 10 podstawowych części, typowych dla rozpraw doktorskich opartych na eksperymencie: streszczenie, wstęp, cel pracy, materiały i metody, dyskusję wyników, wnioski, bibliografia, spis skrótów, spis własnych publikacji i komunikatów, aneks.

Ocena merytoryczna pracy

Część literaturowa obejmuje 25 stron, na których Doktorantka zwięźle przedstawiła wybrany z przeglądu literaturowego materiał potrzebny do: **i)** uzasadnienia celowości prowadzonych badań zawartych w temacie rozprawy doktorskiej, **ii)** przedstawienia dotychczasowych osiągnięć nauki w interesującym ją temacie. W kontekście realizacji w dysertacji badań biologicznych wynikających z głównego celu pracy na szczególną uwagę zasługuje materiał zawarty w podrozdziale kończącym część teoretyczną, a poświęcony dotychczasowym badaniom biologicznym polipirydylowych kompleksów rutenu. Wartościową częścią rozprawy doktorskiej jest również zwięzła charakterystyka metod badawczych (18 stron), która stanowi dobrą podstawę do analizy wyników eksperymentalnych.

Reasumując pragnę podkreślić, że mgr Olga Mazuryk w części teoretycznej bardzo wnikliwie przedstawiła najbardziej istotne zagadnienia, stanowiące tło problemów poruszanych bezpośrednio już w badaniach objętych rozprawą doktorską. Zrobiła to w bardzo dobrym stylu językowym w oparciu o najnowsze piśmiennictwo naukowe (103 pozycje literaturowe). Ponadto, to bardzo staranne przygotowanie teoretyczne do wykonania badań własnych pozwoliło na jednoznaczne sformułowanie celów pracy.

Część oryginalna pracy

Przedstawia szeroki materiał badawczy, który stanowi bazę do dyskusji, wniosków końcowych, a także do zarysowania przez Doktorantkę perspektyw badawczych w ramach dopełnienia w przyszłości prezentowanej problematyki. Realizację celów badawczych Doktorantka rozpoczęła od zsyntezowania 5 polipirydylowych kompleksów Ru(II) ze zmodyfikowanym ligandem bpy (2,2'-bipirydyna). Czystość uzyskanych związków koordynacyjnych rutenu określała z wykorzystaniem HPLC i HRMS. Następnie przystąpiła do wszechstronnej charakterystyki fotofizycznej i biologicznej uzyskanych połączeń. Badania otrzymanych zostały dobrane odpowiednio do zaplanowanych badań i do realizacji zamierzonych celów tych badań.

Zebrany materiał eksperymentalny zaprezentowała w sposób przejrzysty z wykorzystaniem tabel, schematów i widm, co świadczy o profesjonalnym i rzetelnym wykonaniu eksperymentów. Natomiast wnikliwa i logiczna dyskusja wyników potwierdza dużą dojrzałość naukową Doktorantki.

Do niewątpliwych osiągnięć bogatego materiału doświadczalnego prezentowanego w tej części pracy na poziomie badań międzynarodowych zaliczyć należy:

- i) przedstawienie szerokiej i bardzo merytorycznej dyskusji nad czynnikami warunkującymi aktywność antynowotworową kompleksów rutenu uwzględniającą strukturę kompleksu i jego lipofilowość itp.,
- ii) przeprowadzenie licznych, interdyscyplinarnych badań, zakończonych sukcesem, zmierzających do określenia mechanizmu odpowiedzialnego za działanie cytotoksyczne kompleksów Ru(II),
- iii) znalezienie selektywnego znacznika do obrazowania obszarów niedotlenionych (nitroimidazolowa pochodna kompleksów Ru(II)),
- iv) wnikliwa analiza wyników eksperymentalnych, która nie tylko wzbogaca chemię bionieorganiczną o nową wiedzę, ale pozwoliła odsłonić interesujące i bardzo przyszłościowe perspektywy badawcze (m.in. wykorzystaniem cytotoksycznego bipirydylowego kompleksu w terapii fotodynamicznej).

Rozprawa jest napisana bardzo starannie, precyzyjnym językiem, a mimo to Autorka nie uniknęła w pracy pewnych drobnych błędów edytorskich, o których z powinności recenzenta wspominam, ale jako nieistotne dla meritum pracy pozwolę sobie pominąć. W trakcie lektury tej rozprawy doktorskiej nasunęły mi się pewne problemy do dyskusji o wyjaśnienie, których poproszę Autorkę dysertacji:

- str. 31 (12 linia od dołu; „*ruthenium complexes seem not to be able to cross the cell nucleus membrane of live cell to reach polynucleotide chain to interact with.*”) doprecyzować na jakie właściwości kompleksów rutenu Autorka chciała zwrócić naszą uwagę.

- str. 139 (ostatni akapit) zbyt ogólne wydaje mi się również sformułowanie wniosku, dotyczącego walorów związku $[\text{Ru}(\text{dip})_2(\text{bpy-NitroIm})]^{2+}$ jako optycznego znacznika do obrazowania komórek niedotlenionych i skutecznego cytostatyka.

Podsumowując swoją recenzję stwierdzam, że cel pracy został w pełni zrealizowany, a otrzymane wyniki są pozytywne i naukowo bardzo ważne, a ich poziom naukowy może konkurować z doniesieniami nauki światowej w tej dziedzinie i w istotny sposób przyczynił się do opracowania na poziomie *in vitro* nowych rozwiązań farmakologicznych do zwalczania i diagnostyki chorób nowotworowych. O wspomnianej, znaczącej wartości naukowej uzyskanych wyników eksperymentalnych najlepiej świadczy opublikowanie już przez mgr Olgę Mazuryk 5 współautorskich **artykułów** w renomowanych czasopismach międzynarodowych ($\Sigma \text{IF} > 15$) oraz 11 wystąpień na konferencjach międzynarodowych i krajowych. Warto wspomnieć, że Pani Olga Mazuryk była beneficjentem konkursu naukowego na prowadzenie badań w wyniku czego kierowała projektem badawczym Preludium uzyskanym w ramach grantów Narodowego Centrum Nauki.

Reasumując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska w pełni spełnia kryteria stawiane rozprawom doktorskim zawarte w art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 r. (Dz.U. 2003 r. numer 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) o tytułach i stopniach naukowych i z całym przekonaniem stawiam wniosek Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr Olgi Mazuryk do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, mając na uwadze szeroki zakres tematyczny, wysoką wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej wnoszącą znaczący wkład do rozwoju chemii bionieorganicznej potencjalnie wysoki wpływ na rozwój chemioterapii i diagnostyki nowotworowej, **wnioskuje do Wysokiej Rady Wydziału Chemii UJ o jej wyróżnienie.**

Balio mika