



**INSTITUTE OF
BIOCHEMISTRY
AND BIOPHYSICS**
POLISH ACADEMY
OF SCIENCES

Warszawa, 22. 08. 2016.

Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa, Poland

Prof. dr hab. Wojciech Bal

Tel: +48-22-5922371 Fax: +48-22-6584636

e-mail: wbal@ibb.waw.pl

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Michała Płotka

Pan mgr Michał Płotek przedstawił do oceny rozprawę doktorską pod tytułem *Synteza i charakterystyka nowej grupy kompleksów rutenu z aminometylofosfinami, o potencjalnej aktywności biologicznej*, wykonaną na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, pod kierunkiem prof. dr hab. Grażyny Stochel jako promotora i dr Agnieszki Kyzioł jako promotora pomocniczego.

Rozprawa została sporządzona w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów w języku angielskim, zaopatrzonych w wyczerpujące omówienie/streszczenie w języku polskim, co zgodne jest z wymogami formalnymi, określonymi w art. 13 § 2 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym. Jednocześnie wymogi ustawowe stanowią, że artykuły te winny być opublikowane lub przyjęte do druku w czasopiśmie naukowych. W tym kontekście muszą stwierdzić, że Doktorant do trzech artykułów opublikowanych dołączył również manuskrypt wysłany do recenzji, ale nie przyjęty jeszcze do druku. Materiał zawarty w tym manuskrypcie, który dotyczy kompleksów zawierających p-cymen, a omówiony został w rozdziale 3.3.2 i częściowo rozdziale 4. omówienia wyników, nie może więc być brany pod uwagę przy sporządzaniu recenzji. Niemniej jednak materiał zawarty w trzech artykułach opublikowanych jest wystarczająco obszerny, by można było poddać pracę ocenie.

Przedmiotem zainteresowania Doktoranta są kompleksy rutenu z ligandami aminometylofosfinowymi. Istotą podjętych przez niego badań, według stwierdzenia zawartego w Celu pracy na str. 20 omówienia wyników, jest: po pierwsze opracowanie nowych metod syntezy takich kompleksów, po drugie uzyskanie charakterystyki fizykochemicznej kompleksów, a po trzecie, „dodatkowo”, według własnych słów Doktoranta, określenie ich potencjału antynowotworowego. Można by rzec, że Doktorant sformułował swoje cele chronologicznie, według oczywistej kolejności prac badawczych, a nie według hierarchii ich ważności. Myślę jednak, że w takim sformułowaniu celów pracy

Doktorant wyraża jedynie swoją skromność i ostrożność badawczą, gdyż o zasadniczej inspiracji opisywanych badań potencjalnymi właściwościami cytotoksycznymi kompleksów rutenu wspomniał już mimochodem już przy opisywaniu celu pierwszego – syntetycznego, a wstęp do omówienia wyników poświęcił w dużej mierze przedstawieniu stanu wiedzy na temat kompleksów rutenu o właściwościach przeciwnowotworowych. Opis ten jest zwięzły, ale przy tym rzetelny i wyczerpujący. Autor zaczyna od krótkiego omówienia kompleksów platynowych wprowadzonych do terapii przeciwnowotworowej jako punktu odniesienia dla kompleksów rutenu, wskazując na kluczowe wady cis-platyny i jej analogów, zwłaszcza dużą toksyczność, skuteczność tylko wobec niektórych nowotworów oraz zjawisko oporności na leki platynowe. Następnie przystępuje do przedstawienia dwóch linii rozwojowych kompleksów rutenu(III), które zawędrowały najdalej w badaniach klinicznych: NAMI-A i KP1019, opisując ich struktury i poznane elementy ich metabolizmu i cytotoksyczności. Mankamentem tego opisu jest brak wzmianki o częściowym niepowodzeniu NAMI-A w badaniach klinicznych drugiej fazy, które pomniejsza znaczenie tego związku jako samodzielnego cytostatyku bądź antymetastatyku i prekursora leków kolejnych generacji.

Kolejnym elementem opisu jest przedstawienie koncepcji aktywacji przez redukcję kompleksów Ru(III) do Ru(II) i w tym kontekście badań kompleksów Ru(II) jako ewentualnych leków przeciwnowotworowych w laboratoriach P.J. Sadlera i P. Dysona. Doktorant poświęca szczególną uwagę związkom typu „toboretowego”, w których jednym z ligandów jest pierścień aromatyczny, stanowiący donor typu η^n . Doktorant rozważa tu szereg postulowanych w literaturze sposobów działania tych kompleksów, dając świadectwo bardzo dobrej orientacji w bieżącej literaturze tematu, pełnej postulatów raczej niż potwierdzonych mechanizmów molekularnych i komórkowych.

W ostatniej części wstępu Autor pokrótce omawia tris(aminometylo)fosfiny jako obiecujące i zyskujące na popularności ligandy dla tworzenia kompleksów o potencjalnych właściwościach farmakologicznych, szczególną uwagę poświęcając wykorzystanym przez siebie ligandom zsyntezowanym w laboratorium dr hab. R. Starosty i ich kompleksom z miedzią jednowartościową. Nota bene, Doktorant uczestniczył w części omawianych badań (odnośnik 71).

Omówiona powyżej część rozprawy doktorskiej jest napisana w sposób żywy i klarowny. Jedynym jej ewentualnym brakiem jest nieobecność krótkiego choćby przedstawienia podstawowych właściwości chemicznych rutenu, co ułatwiłoby skorzystanie z rozprawy młodym badaczom, rozpoczynającym swoją przygodę z tym pierwiastkiem. Przypuszczam, że Doktorant, zanurzony w środowisku badawczym, w którym chemia rutenu

jest chlebem powszednim, uznał, że „koń jaki jest, każdy widzi”, mimowolnie podążając za znanym galicyjskim encyklopedystą.

Po przedstawieniu celu pracy, który omówiłem powyżej, Doktorant prezentuje metodykę wykonanych przez siebie badań, uzasadniając wybór technik eksperymentalnych z obszaru chemii i biochemii, a także dobór linii komórkowych dla testów cytotoksyczności. Wskazuje również, które z prac eksperymentalnych i teoretycznych zostały wykonane we współpracy z innymi badaczami. Opis ten jest zgodny z oświadczeniami współautorów publikacji, dołączonymi do rozprawy.

Osobny podrozdział, zatytułowany „Dobór ligandów” poświęcony jest czterem spokrewnionym ligandom aminometylofosfinowym, badanym w rozprawie. Podrozdział ten stanowi zręczne przejście do głównej części omówienia, poświęconej wynikom badań. Autor przedstawia w nim dwa ligandy symetryczne, znane już w literaturze, a oznaczone jako PM_3 i PP_3 i dwa ligandy asymetryczne. Dla pierwszego z nich, opublikowanego kilkanaście lat temu PM_1 , Doktorant opracował nową, lepszą metodę syntezy. Drugi ligand asymetryczny, PP_1 , jest nowy.

Część rozprawy poświęcona wynikom eksperymentalnym jest podzielona zgodnie z materiałem poszczególnych artykułów i ułożona według kolejności ich publikowania. Jest to podejście prawidłowe dla zastosowanej przez Doktoranta formy rozprawy. Opisując materiał z artykułu I, Autor omawia syntezę wspomnianych powyżej ligandów asymetrycznych, następnie rozważając możliwe ścieżki syntezy oktaedrycznych kompleksów Ru(II) z ligandami symetrycznymi i asymetrycznymi. Jedno z rozważanych podejść, polegające na wyjściu od Ru(III) i redukcji do Ru(II) za pomocą nadmiaru liganda fosfinowego równoległe z procesem koordynacji, zakończyło się sukcesem. Otrzymano w sumie trzy kompleksy oktaedryczne, z ligandami PM_3 , PM_1 i PP_1 , które zostały bardzo dokładnie scharakteryzowane w cieple stałym, dzięki udanej krystalizacji i rozwiązaniu odnośnych struktur, a także w roztworze, głównie za pomocą wielojądrowej spektroskopii NMR. Wyniki te, nie pozostawiające żadnych wątpliwości pod względem technicznym, ujawniły niecodzienny sposób koordynacji ligandów, z utworzeniem silnie zdeformowanych czteroczłonowych pierścieni chelatowych Ru-P-C-N. Koordynacja tego typu jest bardzo rzadka w chemii w ogóle i odkrycie jej jako pewnego rodzaju normy dla badanych ligandów jest bardzo ciekawym osiągnięciem Autora. W tym kontekście nie zaskakuje labilność tego ugrupowania, które przegrupowuje się w obecności rozpuszczalnika koordynującego, takiego jak acetonitryl, do układu monodentatnego z koordynacją przez atom fosforu. Przegrupowanie to nie zachodzi dla kompleksu liganda PM_3 , co Autor przypisuje większej zawadzie sterycznej w

tym kompleksie. W tej części badań sprawdzono również oddziaływania otrzymanych kompleksów z albuminą i transferyną – białkami osocza krwi, stanowiącymi potencjalne przenośniki badanych kompleksów we krwi. Wykonano także wstępne badania cytotoksyczności badanych kompleksów wobec linii komórkowej A549 za pomocą testu MTT, potwierdzając ich aktywność na poziomie zbliżonym do cisplatyny.

W następnej części badań, opublikowanej w artykułach II i III i omawianej w rozprawie łącznie, Doktorant skupił się na kompleksach zawierających ligand koordynujący przez układ aromatyczny, w tym wypadku cyklopentadien oraz ligand aminometylofosfinowy. Inspiracją dla tego podejścia były wyniki badań biologicznych, opisane w literaturze dla kompleksów Ru(II) zawierających ligandy typu η^n . Również w tych pracach Doktorant uzyskał nieoczekiwany wynik, mianowicie towarzyszącą procesowi koordynacji badanych przez siebie ligandów symetrycznych redukcję fosfiny trzeciorzędowej do drugorzędowej, z utratą jednego z podstawników. Produkty reakcji zostały drobiazgowo scharakteryzowane, a odpowiednie kompleksy wykrystalizowane. Obliczenia teoretyczne, wykonane z udziałem Doktoranta potwierdziły, że otrzymane kompleksy, zawierające zredukowane fosfiny PM_2 i PP_2 , stanowią układy o niższej energii, niż ich teoretyczne prekursory z ligandami PM_3 i PP_3 .

W tym miejscu z żalem muszę stwierdzić, że zapisy ustawy nie pozwalają mi na włączenie do recenzji analizy wyników nieopublikowanych, które autor uzyskał dla analogicznych kompleksów *p*-cymenu, zwłaszcza szeregu testów wykonanych przez Doktoranta w celu ustalenia mechanizmu cytotoksyczności badanej klasy kompleksów.

Podsumowując, pragnę podkreślić, że rozprawa została przygotowana w sposób bardzo staranny od strony merytorycznej i edytorskiej. Zawiera pełną dokumentację diskutowanych wyników w postaci publikacji i bardzo bogatych suplementów, zawierających komplet danych eksperymentalnych. Rozprawa jest napisana bardzo dobrym, klarownym językiem i bardzo rzetelnie zilustrowana. Styl narracji jasno wykazuje pełną orientację Doktoranta w przedmiocie badań, za równo pod względem wiedzy teoretycznej, jak i biegłości eksperymentalnej. Bardzo nieliczne usterki edytorskie są niewarte wymieniania. Materiał badawczy, zawarty w trzech publikacjach, w których Doktorant pełnił rolę wiodącą, jest wystarczający, bym mógł stwierdzić, że przedłożona do oceny praca p. mgr Michała Płatka spełnia wymogi stawiane przed rozprawami doktorskimi i wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie go do dalszych etapów przewodu doktorskiego.