



**UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI W KRAKOWIE**

**Wydział Chemii**

**ul. R. Ingardena 3, 30-060 Kraków**

**www.chemia.uj.edu.pl**

**sekretar@chemia.uj.edu.pl**

**tel. +48 (12) 633 63 77**

**fax + 48 (12) 634 05 15**

Kraków, dnia, 16.09. 2016 r.

Dr hab. Krzysztof K. Zborowski  
Wydział Chemii  
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie  
Ul. R. Ingardena 3  
30-060 Kraków  
e-mail: zborowsk @chemia.uj.edu.pl

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Magdaleny Malik**  
**pt. „*Nowe analogi cisplatyny o działaniu przeciwnowotworowym: syntezy, widma oscylacyjne i obliczenia metodami DFT*”**

Pomimo nieustannego rozwoju medycyny i farmacji, choroby nowotworowe stanowią ciągle jedną z głównych przyczyn zgonów. Bardzo ważne miejsce wśród leków przeciwnowotworowych zajmuje cisplatyna. Pomimo jej wiodącej pozycji w terapii nowotworowej widoczna jest jej również wysoka toksyczność dla zdrowych komórek i coraz częściej wrodzona lub nabyta oporność komórek nowotworowych na leki platynowe. Te problemy przyczyniły się do poszukiwań nowych leków zawierających platynę, które będą działały bardziej selektywnie i powodowały mniejsze skutki uboczne w porównaniu do cisplatyny.

Przedłożona mi do recenzji praca doktorska dotyczy właśnie zagadnienia syntezy i badania właściwości nowych związków koordynacyjnych platyny(II) o silnym działaniu przeciwnowotworowym. Zatytułowana jest „*Nowe analogi cisplatyny o działaniu przeciwnowotworowym: syntezy, widma oscylacyjne i obliczenia metodami DFT*”, a jej Autorką jest Pani mgr Magdalena Malik. Praca została wykonana pod opieką naukową Pani profesor Danuty Michalskiej - Fąk. Nic dziwnego więc że wpisuje się ona w nurt badań nad kompleksami metali, w tym również platyny realizowanych od lat przez Zespół profesor Michalskiej – Fąk na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej.

W pracy przeprowadzono syntezy szeregu nowych związków kompleksowych platyny(II), dla których wykonano systematyczne badania doświadczalne (uwzględniające również badania ich aktywności biologicznej, co nie jest częste w pracach chemicznych) jak również teoretyczne obliczenia metodami chemii kwantowej. Na podkreślenie zasługuje ogrom pracy jaki musiała włożyć Doktorantka w otrzymanie i interpretację tak dużego zakresu danych. Tak bogaty materiał doświadczalny i teoretyczny umożliwił sformułowanie wielu bardzo wartościowych wniosków. Do najważniejszych osiągnięć należy niewątpliwie

synteza nowych związków platyny o dużej, często większej niż w dotychczas stosowanych lekach, aktywności przeciwnowotworowej. Bardzo wartościowy jest również dogłębny opis widm oscylacyjnych badanych związków. Efektem przeprowadzonych badań są także dwie publikacje, dotyczące cisplatyny i pikoplatyny w uznanych czasopismach. Prace te w żadnej mierze nie wyczerpują potencjału publikacyjnego danych zawartych w ocenianej pracy doktorskiej. Jednakże najpierw Doktorantka postanowiła przezornie poddać nowo zsyntetyzowane przez siebie związki ochronie patentowej. Mam nadzieję, że doniesienia o syntezie i właściwościach, otrzymanych w tej pracy, nowych związków platyny ukążą się wkrótce w bardzo dobrych czasopismach.

W swojej recenzji chciałbym podkreślić szczególnie dwa aspekty:

- Przeprowadzone w pracy badania robią wrażenie szczegółowo zaplanowanych a potem wykonanych z żelazną konsekwencją. Doktorantka definiuje swoje cele a potem wdraża je w życie, poczynając od syntezy, poprzez badania fizykochemiczne, teoretyczne aż do określenia ich aktywności biologicznej.
- Widoczna jest bardzo duża wszechstronność Doktorantki. Dokonuje ona niełatwych syntez chemicznych, w większości nowych związków. Wykonuje dla nich szereg badań fizykochemicznych. Potrafi przeprowadzić dla otrzymanych związków zaawansowane badania teoretyczne jak również określić ich strukturę krystalograficzną. Interpretuje dane dotyczące ich aktywności biologicznej. W swoich badaniach potrafi współpracować i wykorzystywać wiedzę i doświadczenie innych naukowców. Tak duża wszechstronność pokazuje, że Doktorantka jest bardzo dobrze przygotowana do pracy w praktycznie każdej dziedzinie chemii. Wzbudza to niekłamany podziw jak również i zazdrość recenzenta.

Oceniana rozprawa jest zawarta na 158 numerowanych stronach, do których dochodzą strony tytułowe, spis treści, spis rysunków oraz 10 stron aneksu. Praca składa się z 7 głównych rozdziałów ilustrowanych 60 rysunkami i zawierających 30 tabel. Pierwszy rozdział („Wstęp”) opowiada o odkryciu i zastosowaniu cisplatyny oraz o jej pochodnych. Uzasadnia potrzebę uzyskania nowych kompleksów platyny o jeszcze silniejszym działaniu przeciwnowotworowym. Rozdział nie jest długi, ale zawiera podane „w pigułce” wszystkie potrzebne dla czytelnika, również nie będącego specjalistą w tej dziedzinie, informacje. W drugim rozdziale Autorka omawia metody teoretyczne, których użyła w swoich badaniach. W rozdziale trzecim na 4 stronach opisano przyświecające Autorce w jej badaniach cele jak również argumentacje przedstawiające zasadność i doniosłość podjętego problemu badawczego. Rozdziały 4 i 5 poświęcone są szczegółowej preparatyce badanych w pracy kompleksów platyny(II) (14 stron) i szczegółom pomiarów eksperymentalnych (2 strony).

Zasadnicza część pracy, zatytułowana „Wyniki i dyskusja” (rozdział 6), składa się z 5 podrozdziałów i obejmuje 106 stron. Zawierają one kolejno: badania teoretyczne nad cisplatyną celem wyboru jak najlepszej metody teoretycznej do opisu badanych kompleksów platyny(II), sprawdzenie poprawności tego wyboru na przykładzie pikoplatyny, badania spektroskopowe i teoretyczne nad orotanowymi kompleksami platyny(II), badania spektroskopowe i teoretyczne nad imidazolowymi kompleksami platyny(II) oraz badania nad aktywnością przeciwnowotworową badanych w pracy kompleksów. Następnie w rozdziale 7 Autorka wypunktowała najistotniejsze wnioski (4 strony, 10 najważniejszych wniosków), a całość kończy „Streszczenie” i zawierająca 121 odnośników do pozycji literaturowych „Bibliografia”.

Jeżeli chodzi o rozplanowanie manuskryptu, to chyba umieściłbym rozdział „Cele pracy” jako rozdział drugi, przed rozdziałem „Badania teoretyczne”. Czyli najpierw zdefiniował cele a następnie dopiero przedstawiał metody, które posłużą do ich realizacji.

Pozostała organizacja manuskryptu nie budzi moich zastrzeżeń. Praca napisana jest poprawnie, z małą ilością błędów językowych, przedstawione rysunki są poprawnie wykonane a tabele pomagają czytelnikowi w zapoznaniu się ze zgromadzonym materiałem. Nie jest to najważniejsze, ale chciałem również wspomnieć, że praca jest bardzo ładnie wydana w formie książkowej. Nieliczne wyjątki od powyższej całościowej, bardzo pozytywnej, oceny pracy zostaną przedstawione w dalszej części oceny.

Z obowiązku recenzenta chciałbym zwrócić uwagę na następujące, moim zdaniem, niedoskonałości niniejszej rozprawy doktorskiej:

1. Pierwszą i najważniejszą zarazem niedoskonałością recenzowanej pracy jest moim zdaniem przyjęcie przez Autorkę przybliżenia efektywnych potencjałów rdzenia (ang. ECP – Electron Core Potentials), jako jedynego możliwego sposobu wykonania obliczeń dla atomu platyny. Przybliżenie ECP jest stosowane bardzo często dla atomów metali ciężkich. Było to spowodowane kiedyś koniecznością (z powodu mocy dostępnych wtedy komputerów) lub dzisiaj ograniczeniem (wykonanie obliczeń uwzględniających elektrony rdzenia jest dziś często możliwe) potrzebnych do wykonania obliczeń zasobów komputerowych. Ze względu na znaczenie kompleksów platyny, cisplatyna była częstym obiektem badań chemii obliczeniowej. W badaniach nad cisplatyną testowano również bazy, w których przybliżenie ECP nie jest uwzględniane. Na przykład w pracy Paschoal et al, *Journal of Computational Chemistry*, **2012**, *33*, 2292, Autorzy konkludują, że bazy bez przybliżenia ECP są lepsze w opisie struktury i reaktywności (wymiana chloru na wodę) cisplatyny od baz z efektywnymi potencjałami rdzenia. Przy czym preferowane we wspomnianej pracy bazy uwzględniające wszystkie elektrony nie są bardzo obciążające dla dzisiejszych komputerów. Powyższa praca nie obejmowała analizy danych spektroskopowych. Doktorantka uzyskała w swoich obliczeniach bardzo dobrą zgodność pomiędzy danymi teoretycznymi i doświadczalnymi. Gdyby jednak uwzględniła w swoich obliczeniach również proste bazy nie stosujące przybliżenia ECP można by uzyskać wgląd w problem, które bazy, z ECP czy bez ECP, są lepsze w opisie widm oscylacyjnych kompleksów platyny.
2. Pojawia się pewna nieścisłość przy syntezie orotanowych pochodnych pikoplatyny, kompleksy (2) i (3). Na początku czytelnik jest informowany, że procedura syntezy jest taka sama dla obu z nich, tylko do syntezy kompleksu (2) użyta została sól sodowa kwasu orotowego a do syntezy kompleksu (3) kwas 5-fluoroorotowy. Następnie dostajemy informację, że (metoda 1) „dodano roztwór kwasu orotowego”, a więc nie soli tego kwasu. Ponadto w podpisach pod Rysunkami 16 i 17 widnieje, że w grupie karboksylowej kwasu orotowego „R1 = wodór, sól, potas, grupa amonowa”. Wydaje się, że do syntezy kompleksu (2) można użyć dowolnej (sodowej, potasowej, amonowej) soli kwasu orotowego, a może nawet sam kwas, ale nie można być tego pewnym.
3. Pewne wątpliwości budzi również opis syntezy kompleksu (5). 0.75 mmola imidazo[1,2-a]pirydiny nie wydaje się ilością „stechiometryczną” do żadnego innego substratu opisywanej reakcji.
4. Dlaczego w Tabeli 4 i na Rysunku 26 nie uwzględniono wyników obliczeń dla kombinacji funkcjonału LC- $\omega$ PBE i bazy funkcyjnej III. Jest duża szansa, że taka kombinacja prowadziłaby do najlepszej zgodności teorii z danymi doświadczalnymi. Podobnie nie wiem czemu dla obliczenia widm oscylacyjnych cisplatyny wykorzystano tylko bazę II (Tabela 5, Rysunek 27). Wydaje się, że baza III mogłaby dać jeszcze lepsze efekty. Baza III jest stosowana później dla cisplatyny tylko w ograniczonym zakresie. Aczkolwiek, baza III jest na końcu wybrana, w kombinacji z

- funkcjonałem PBE0, jako najlepsza metoda obliczeniowa.
5. Dla porządku, powinno być wspomniane z jakiego poziomu obliczeń pochodzą dane teoretyczne zamieszczone w Tabeli 21.
  6. Doktorantka w kilku przypadkach wykonuje obliczenia tylko dla izomerów *cis*, pomijając teoretycznie możliwe izomery *trans*. Doświadczalnie mamy do czynienia z izomerami *cis*, aczkolwiek obliczenia dla kompleksów zawierających kwas orotowy wskazują, że inny izomer występuje doświadczalnie a inny jest charakteryzowany niższą obliczoną energią. Byłoby ciekawe zbadać czy taka zależność występuje tylko dla kompleksów zawierających kwas orotowy czy również dla kompleksów „imidazolowych”.
  7. Odnośnikiem w badaniach aktywności przeciwnowotworowej nowych kompleksów jest, co w pełni rozumiałe, cisplatyna. Jednakże widać, że wartości  $IC_{50}$  dla cisplatyny, pomimo deklarowanej takiej samej procedury przygotowania próbek, są różne przy badaniach serii „orotanów” i „imidazoli”. Czasami znacznie, na przykład dla linii komórkowej BALB/3T3 są to odpowiednio wartości 6.20 i 2.63. Czy i w jaki sposób można z tych danych porównać względną siłę aktywności przeciwnowotworowej kompleksów zawierających układ orotanowy i imidazolowy?

Powyższe uwagi nie zmieniają mojej, bardzo pozytywnej oceny przedstawionej mi do oceny pracy doktorskiej. Mgr Magdalena Malik udowodniła, że posiada duże doświadczenie w pracy badawczej i potrafi samodzielnie prowadzić badania naukowe, publikować prace naukowe, składać wnioski patentowe, etc. W moim przekonaniu, przedłożona mi do oceny praca spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim w myśl art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. z późniejszymi zmianami o stopniach naukowych i tytule naukowym. Wnoszę więc o dopuszczenie mgr Magdaleny Malik do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, ze względu na wysoki poziom naukowy tej dysertacji i ogrom pracy włożonej przez Doktorantkę w rozwiązanie postawionych sobie problemów badawczych, mających potencjalnie bardzo istotne znaczenie praktyczne, proponuję Radzie Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej wyróżnienie niniejszej pracy.



Dr hab.  
Krzysztof K. Zborowski