



Dr hab. Marek Lisowski  
tel.: 71 375 7384  
e-mail: [marek.lisowski@chem.uni.wroc.pl](mailto:marek.lisowski@chem.uni.wroc.pl)

Wrocław, 20.03.2018

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Banaszczyk  
pt. „Kompleksy platyny(II) z ligandami receptorów tachykininowych”

W recenzowanej pracy Autorka przedstawiła wyniki badań nad związkami kompleksowymi tworzonymi przez platynę(II) z receptorami tachykininowymi. Związki kompleksowe platyny pełnią ważną rolę w medycynie jako środki stosowane w terapii, m.in. w leczeniu chorób nowotworowych. Wskazuje to na ich duże znaczenie, gdyż choroby te, oprócz chorób serca, są główną przyczyną zgonów na świecie. W związku z tym na walkę z rakiem są przeznaczane bardzo duże fundusze i wiele ośrodków naukowych w różnych krajach zajmuje się bardzo intensywnie poszukiwaniem nowych sposobów walki z tą chorobą. Dlatego temat recenzowanej rozprawy doktorskiej jest ważny nie tylko z chemicznego, ale także i z medycznego punktu widzenia. Rozprawa ta wpisuje się w tematykę badań prowadzonych z powodzeniem od wielu lat w zespole p. prof. Aleksandry Misickiej, należącym do wiodących ośrodków w Polsce zajmujących się chemią peptydów.

W części literaturowej Autorka opisała leki platynowe stosowane w onkologii - cisplatynę i inne związki kompleksowe platyny. Przedstawiła ich zalety i wady, ograniczenia w ich stosowaniu oraz czynniki transportujące, mogące dostarczać dany lek bezpośrednio do komórek nowotworowych. W dalszej części opisała związki kompleksowe platyny z peptydami, zwracając uwagę na sposób koordynacji platyny przez peptydy, a także wykorzystanie spektrometrii mas i spektroskopii jądrowego rezonansu magnetycznego do badań nad takimi kompleksami. Na końcu przedstawiła peptydy tachykininowe jako nośniki jonów platyny oraz sposoby znakowania peptydów trytem. Ta część rozprawy może stanowić dobre wprowadzenie do omawianych zagadnień dla osób nie zajmujących się bezpośrednio tą tematyką, aczkolwiek styl pewnych fragmentów tej części rozprawy wymaga dosyć dużej koncentracji czytelnika. Literatura została dobrana prawidłowo,

z tym że zdecydowana większość to prace, które ukazały się w pierwszej dekadzie obecnego wieku lub wcześniej. Ale być może wynika to braku bardziej aktualnych doniesień.

W kolejnym rozdziale Autorka przedstawiła założenia i cel swojej pracy, uzasadniając w jasny sposób wybór określonych peptydów, które zamierzała otrzymać, oraz planowane badania z ich wykorzystaniem. Kolejny rozdział rozprawy to opis badań wykonanych przez Autorkę. Zsyntezowała 18 peptydów, a następnie otrzymała ich kompleksy z jodem platyny(II). Jony platyny znajdowały się na N-końcu badanych peptydów, natomiast ich C-końcowe sekwencje wiązały się z receptorami tachykininowymi. Kompleksy platynowe były badane pod kątem ich właściwości przeciwnowotworowych. Wszystkie eksperymenty zostały przeprowadzone prawidłowo, a ich wyniki właściwie zinterpretowane. Pewien niedosyt pozostawiło we mnie zdanie (str. 70, w. 12 od g.) „Szczegółowe wyniki badań przygotowanego przeze mnie radioliganda do wykonania badań receptorowych niestety wskazały, że nie nadaje się on do tych badań.”. Szkoda, że Autorka nie wyjaśniła od razu, dlaczego rzeczony ligand nie nadaje się do zaplanowanych badań. Jednozdaniowe wyjaśnienie tego faktu znajduje się dopiero w następnym rozdziale, Podsumowanie i Wnioski (str. 100), a byłoby lepiej, gdyby nieco szersze wytłumaczenie zostało podane w rozdziale opisującym przeprowadzone badania. Brakuje też wyjaśnienia, co było używane jako kontrola w badaniach właściwości przeciwnowotworowych peptydów otrzymanych przez Autorkę (Rys. 8-12). Związki te, wbrew jej oczekiwaniom, okazały się być aktywne w niewielkim stopniu. Autorka przedstawiła możliwe przyczyny tego faktu, a uzyskane przez nią wyniki mogą być wykorzystane w dalszych poszukiwaniach związków o właściwościach przeciwnowotworowych.

W rozdziale Podsumowanie i Wnioski Autorka opisała w zwięzły sposób przeprowadzone przez siebie badania i wypływające z nich konkluzje. Ostatni rozdział rozprawy stanowi Część Eksperymentalna, w której znajdują się opisy syntez przeprowadzonych przez Autorkę i charakterystyki otrzymanych produktów. W tym fragmencie pracy zabrakło mi chociaż krótkich opisów, w jaki sposób były badane wiązanie się dwóch peptydów (**1** i **2**) z receptorem oraz aktywność przeciwnowotworowa otrzymanych kompleksów platynowych. Syntezy przeprowadzone przez Autorkę są opisane w wyczerpujący sposób. Otrzymane związki były charakteryzowane za pomocą spektrometrii mas i w tym miejscu moje wątpliwości wzbudził sposób określania ich mas cząsteczkowych. Na przykład, dla peptydu His[N,N']PtCl<sub>2</sub>-D-Ser-D-Phe-Phe-D-Phe-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (str. 114), masa molekularna wynosi 1175.0, *m/z* obliczone 1173.4, znalezione 1174.3. Podobne różnice występują w kilku innych peptydach. Czy różnica między masą molekularną a *m/z* obliczonym wynika z tego, że wartość *m/z* jest masą monoizotopową? Autorka powinna była wyjaśnić w jaki sposób były obliczane wartości *m/z*.

Inne uwagi to:

- a) podpis pod Rys. 2. - „Płaskokwadratowe kompleksy cisplatyny - izomery *cis* i *trans*.” Cisplatyna jest kompleksem, słowo „kompleksy” powinno być zastąpione np. przez „struktury”;
- b) str. 11, w. 10 od dołu - „Aktywne, uwodnione formy cisplatyny zanim dotrą do jądra komórkowego, mogą ulegać wielu reakcjom ze związkami zawierającymi preferowane heteroatomy.” Co Autorka rozumie przez preferowane?;
- c) str. 11, w. 5 od dołu - „...utworzenie wiązań koordynacyjnych z azotem i resztą kwasu karboksylowego seryny.” Można się domyślać, że powinno być „z azotem i grupą karboksylową reszty serynowej.”;
- d) str. 15, w. 6 od dołu - „...a stabilizacja genomiki komórkowej ulega zachwianiu.” Co Autorka rozumie przez „genomikę komórkową”?
- e) str. 34, w. 9 od góry - „Ruten(III) jako metal, którego związki są najmniej toksyczne dzięki zdolności do interkalacji białka wiążącego żelazo może zmniejszać stężenie wolnego rutenu w plazmie komórkowej...”. Jest to niezbyt zrozumiałe.
- f) str. 37, w. 9 od góry - „Natura każdej interakcji Pt(II)-peptyd zależy od pH i od ułożenia cząsteczek rozpuszczalnika wokół struktury białka.” Chyba powinno być „cząsteczki peptydu” zamiast „struktury białka”;
- g) str. 39, w. 6 od góry - „Badania mające na celu poznanie natury zachodzących reakcji kompetycyjnych zarówno wewnątrz- i zewnątrzcząsteczkowych...”. O ile dobrze domyślam się, co Autorka miała na myśli, to sądzę, że zamiast „zewnątrzcząsteczkowych” lepszym określeniem jest „międzycząsteczkowych”.
- h) str. 40, w. 6 od góry - „Wewnątrzcząsteczkowe reakcje kompetycyjne pomiędzy związkami zawierającymi donory siarkowe i azotowe...”. Tu z kolei powinno być raczej „Wewnątrzcząsteczkowe reakcje kompetycyjne w związkach zawierających donory siarkowe i azotowe...”.
- i) str. 41, w. 4 od dołu - „Zgodnie z obserwacjami wyodrębnienia struktur krystalicznych kompleksów Pt(II)-peptyd lub aminokwas zachowuje się jako ligand jednokleszczowy i niezmiennie wiąże się z atomem azotu.” Zdanie nie jest zrozumiałe.
- j) str. 47, w. 5 od dołu - „Wartości przesunięć chemicznych mogą również wynikać z zaburzeń konformacji struktury peptydu...”. Powinno być albo „konformacji”, albo „struktury”.
- k) str. 48, w. 7 od góry - sekwencja aminokwasowa substancji P różni się od sekwencji tego samego związku u góry Tabeli 6, ponadto w obu przypadkach jest o jedną resztę aminokwasowi za mało;
- l) str. 51, w. 6 od góry - „Spośród trzech opisanych typów receptorów NK1, NK2, NK3 preferencje wykazują odpowiednio SP, NKA i NKB”. Zdanie nie jest zrozumiałe.
- m) str. 53, w. 1 od dołu - „...[D-Pro, D-Trp]SP.” Brak oznaczeń wskazujących położenie reszt D-Pro i D-Trp w sekwencji;

n) str. 76, Tabela 5 - dla peptydu **4** znalezione wartości  $m/z$  dla jonów  $[M+H]^+$  i  $[M-Cl]^+$  wynoszą odpowiednio 1174.35 i 1157.40. Gdyby drugi jon był rzeczywiście jonem  $[M-Cl]^+$ , to jego wartość  $m/z$  powinna wynosić ~1139. Z kolei w podpisie do Rys. 3 (str. 77), przedstawiającego rozkłady izotopowe dla tego samego peptydu, wartość  $m/z$  wynosząca 1157.55, a więc niemalże taka sama jak ta przypisana jonowi  $[M-Cl]^+$  w Tabeli 5, odpowiada jonowi  $[M+H-H_2O]^+$ . Musiał się tu wkraść jakiś błąd.

o) str. 76, w. 6 od góry – „Niewielkie różnice w wartościach mas molekularnych dla wartości otrzymanych a wartości wynikających z eksperymentu symulacji mogą być spowodowane nieuwzględnieniem występowania wiązań koordynacyjnych powstałych w procesie kompleksowania w przypadku eksperymentów symulacji (rys. 3 i 4).” Wiązania nie odgrywają tutaj roli, liczy się skład związku. Powód tych różnic musi być inny.

p) str. 79, w. 3 od góry - „Wybór związków uzależniłam od stopnia czystości otrzymanych kompleksów - eksperymentom poddano tylko te peptydy i kompleksy otrzymane w wysokiej czystości potrzebnej do prawidłowego przeprowadzenia eksperymentów fragmentacji MS.” To prawda, że lepiej badać czyste związki niż zanieczyszczone, aczkolwiek w przypadku fragmentacji MS „wysoka czystość” nie jest konieczna.

r) str. 85, w. 9 od dołu - „Na podstawie otrzymanych widm platynowego jądrowego rezonansu magnetycznego  $^{195}\text{Pt}$  NMR określono ilość atomów platyny występujących w cząsteczkach kompleksów.” Ilości atomów platyny nie da się określić w taki sposób, a tylko ilość jąder nierównocennych magnetycznie.

s) podpisy do Rys. 5 (str. 87) i 6 (str. 88) - zamiast „2D TOCSY” powinno być „2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  TOCSY”;

t) takie skróty jak COSY, TOCSY, ROESY i HSQC powinny być wyjaśnione w Wykazie stosowanych skrótów.

W recenzowanej rozprawie trafiają się także drobne błędy gramatyczne, oraz często występuje w niej błąd edytorski polegający na zostawianiu pojedynczych liter (w, i, z) na końcu wiersza, co może razić co bardziej wyczulonych na nienaganną edycję czytelników. Ponadto zachęcałbym Autorkę do znacznie częstszego stosowania przecinków, ponieważ umieszczone we właściwych miejscach znacznie ułatwiają lekturę. Z drugiej strony wiem z własnego doświadczenia, jak trudno czasem uniknąć błędów tego typu, nawet mimo wielokrotnego sprawdzania.

Wszystkie powyższe krytyczne uwagi odnoszą się głównie do sposobu napisania pracy, a nie jej merytorycznej wartości, która w mojej opinii zasługuje na pozytywną ocenę. Uważam, że Autorka zrealizowała planowane zadania, a jej rozprawa doktorska wnosi informacje przydatne do dalszych badań nad lekami przeciwnowotworowymi. Spełnia ona wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim określone przez Ustawę o Stopniach i Tytule Naukowym z dnia 18 marca 2011 r., jak

również wymogi zwyczajowe. Dlatego stawiam wniosek do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o przyjęcie recenzowanej rozprawy oraz dopuszczenie mgr Aleksandry Banaszczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Marek Lisowski