



dr hab. Iwona Łakomska, prof. UMK
Wydział Chemii UMK
Zespół naukowy Chemia Bionieorganiczna
ul. Gagarina 7
87-100 Toruń
email: iwolak@chem.umk.pl

Toruń, 10.12.2017 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr Patrycji Moniki Rogala pt:**

***„Synteza kompleksów rutenu na różnych stopniach utlenienia,
ich charakterystyka fizyko-chemiczna i możliwości zastosowań”***

Recenzowana interdyscyplinarna rozprawa doktorska mgr Patrycji Moniki Rogala wykonana w Zakładzie Chemii Nieorganicznej Instytutu Chemii Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach pod kierunkiem dr hab. Barbary Barszcz, prof. UJK nierozzerwalnie związana z poszukiwaniem nowych rozwiązań farmakologicznych w zwalczaniu patogennych bakterii tworzących biofilm, świetnie wpisuje się swoją tematyką w nurt najbardziej aktualnych badań prowadzonych przez wiodące ośrodki naukowe. Aktualność tej tematyki badawczej wynika przede wszystkim z niezadowalającej skuteczności stosowanych farmaceutyków, która jest konsekwencją dynamicznego wzrostu oporności drobnoustrojów na stosowane antybiotyki. Dlatego też, przy wzrastającej antybiotykooporności, wyzwaniem XXI wieku jest poznanie mechanizmu patogenności drobnoustrojów i opracowanie skutecznych leków nowej generacji w procesie inhibicji wzrostu biofilmu bakteryjnego. W tym zakresie szczególne zainteresowanie badaczy budzą kompleksy rutenu, które oferują szeroki zakres dostępnych stopni utleniania w warunkach fizjologicznych, a także posiadają stwierdzoną aktywność przeciwpasożytnicza m.in. w chorobie Chagasa.

Zgłębienie właśnie tej wiedzy zainspirowało Doktorantkę do podjęcia badań, których podstawowym celem była synteza, charakterystyka strukturalna i fizyko-chemiczna kompleksów rutenu na różnych stopniach utlenienia z ligandami heteroaromatycznymi oraz zbadanie ich potencjału mikrobiologicznego. Realizacja powyższego celu wymagała przede



wszystkim właściwego doboru ligandów organicznych, a następnie przeprowadzenia skutecznej reakcji ich kompleksowania z jonami rutenu. Wśród szczegółowych celów pozwalających Doktorantce rozwiązać nadrzędny problem naukowy wymienić należy: **i)** opracowanie metod reakcji syntezy kompleksów rutenu na różnych stopniach utlenienia z wybranymi N,N- i N,O-donorowymi ligandami; **ii)** określenie struktury kompleksów i zaproponowanie sposobu wiązania ligandów z atomem centralnym; **iii)** określenie zahamowania tworzenia biofilmów wybranych szczepów bakteryjnych w obecności kompleksów rutenu i ligandów; **iv)** ustalenie wstępnej korelacji pomiędzy typem chromoforu badanych kompleksów rutenu a właściwościami mikrobiologicznymi.

Realizację tych ambitnych celów Doktorantka dokonała prowadząc badania eksperymentalne z wykorzystaniem szerokiego wachlarza metod takich jak: analiza elementarna, spektroskopia ^1H , ^{13}C NMR, spektroskopia UV-Vis, badania podatności magnetycznej, rentgenowska analiza strukturalna monokryształów, spektroskopia IR, woltamperometria cykliczna, metoda seryjnych rozcieńczeń do wyznaczania minimalnego stężenia hamującego i metoda barwieniem fioletem krystalicznym do badania procesu tworzenia biofilmu.

Z formalnego punktu widzenia oceniana rozprawa doktorska zawarta jest na 222 stronach maszynopisu i ma postać książki, której estetyczna szaty graficznej zasługuje na wyróżnienie, gdyż jest na poziomie pozycji wydawanych przez profesjonalne wydawnictwa naukowe. Opracowanie obejmuje 9 podstawowych części, typowych dla rozpraw doktorskich opartych na eksperymencie: wstęp i cele pracy, część teoretyczną, część doświadczalną, wyniki badań i dyskusja, podsumowanie i wnioski, perspektywy badawcze, bibliografia, abstrakt of the PhD thesis, aneks. Dodatkowo do rozprawy doktorskiej dołączony jest płyta CD z elektroniczną wersją rozprawy doktorskiej.

Ocena merytoryczna pracy

Część teoretyczna

Obejmuje 69 stron, na których Doktorantka wyczerpująco przedstawiła precyzyjnie wyselekcjonowany z przeglądu literaturowego materiał potrzebny do: **i)** wyjaśnienia



mechanizmów oporności bakterii w biofilmie, **ii)** uzasadnienia celowości zwalczania biofilmu, **iii)** wykazania wpływu wybranych jonów metali na przeżywalność bakterii.

W kontekście realizacji w dysertacji badań biologicznych wynikających z celu pracy na szczególną uwagę zasługuje materiał poświęcony dotychczasowym osiągnięciom nauki w zakresie zwalczania biofilmu z wykorzystaniem związków kompleksowych manganu, uranu, złota, srebra, miedzi i rutenu. Dopełnieniem tego opracowania jest zwięzły opis struktur kompleksów oraz porównanie ich aktywności bakteriostatycznej i antybiofilmowej. Wartościową częścią rozprawy doktorskiej jest również zwięzła charakterystyka metod badawczych zastosowanych do opisu struktury i właściwości związków kompleksowych rutenu, która stanowi dobrą podstawę do analizy wyników eksperymentalnych.

Reasumując pragnę podkreślić, że mgr Patrycja M. Rogala 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 precyzyjne sformułowanie celów pracy.

Część doświadczalna rozprawy

Zawiera szczegółowy opis syntez kompleksów rutenu na różnych stopniach utlenienia.

Wyniki badań i dyskusja

Przedstawia szeroki i solidny materiał badawczy, który stanowi bazę do dyskusji i formułowania wniosków końcowych. Zgodnie z tematem rozprawy doktorskiej, Autorka do badań zastosowała 5 ligandów, tj: 2-(2'-pirydylo)benzimidazol, 2-hydroksymetylobenzimidazol, kwas benzimidazolo-2-karboksylowy, kwas pirydino-2,3-dikarboksylowy i kwas 3-hydroksy-2-chinoksalinokarboksylowy, które z chemicznego punktu widzenia są bardzo interesujące, gdyż posiadając odpowiedni zestaw atomów donorowych zdolne są do silnego i efektywnego kompleksowania jonów rutenu, ponadto ich lokalizacja w cząsteczce liganda umożliwia im różnorodny sposób koordynacji. W wyniku żmudnych reakcji kompleksowania Autorka uzyskała 9 nowych połączeń koordynacyjnych rutenu na różnych stopniach utlenienia. Geometrię nowych związków koordynacyjnych określiła



stosując różnorodne techniki eksperymentalne (^1H , ^{13}C NMR, IR, UV-Vis, X-ray). Warto odnotować, że dla wszystkich kompleksów rutenu Autorka otrzymała monokryształy pozwalające na jednoznaczny opis struktury krystalicznej. Charakterystyka strukturalna, fizykochemiczna i biologiczna kompleksów rutenu jest wyczerpująca. Bogaty materiał eksperymentalny zaprezentowany jest w sposób przejrzysty z wykorzystaniem tabel, schematów i widm, natomiast wnikliwa i logiczna dyskusja wyników świadczy o dużej dojrzałości naukowej Doktorantki.

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

- i) opracowanie syntezy i przedstawienie pełnej charakterystyki strukturalnej 9 oktaedrycznych kompleksów rutenu na różnych stopniach utlenienia (3 Ru(II), 3 Ru(III) i 3 Ru(IV));
- ii) wykazanie udziału licznych klasycznych wiązań wodorowych (N-H \cdots O, N-H \cdots Cl, O-H \cdots O, O-H \cdots Cl) i oddziaływań supramolekularnych (C-H \cdots O, C-H \cdots Cl, C-H \cdots π , anion \cdots π , $\pi\cdots\pi$ stacking) w trwałości sieci krystalicznej badanych kompleksów;
- iii) określenie wpływu rodzaju liganda heteroaromatycznego na modulowanie właściwości biologicznych kompleksów rutenu;
- iv) znalezienie 4 skutecznych inhibitorów wzrostu biofilmu *Pseudomonas aeruginosa* PAO1;
- v) zaprezentowanie wnikliwej analizy wyników eksperymentalnych, która nie tylko wzbogaciła chemię bionieorganiczną o nową wiedzę, ale także pozwoliła odsłonić interesujące i bardzo przyszłościowe perspektywy badawcze wspomagające medycynę w walce z biofilmem;
- vi) przedstawienie ciekawych perspektyw badawczych otrzymanych kompleksów rutenu w zakresie poznania mechanizmu działania kompleksów na biofilm i badania toksyczności wobec komórek prawidłowych.

Recenzowana rozprawa doktorska mgr Patrycji Rogala należała do prac wymagających dobrego warsztatu naukowego. Doktorantka musiała wykazać się nie tylko bardzo dobrym przygotowaniem teoretycznym, ale również doświadczeniem w pracach syntetycznych, analitycznych i biologicznych. Osoby, które zajmują się syntezą, analizą spektroskopową oraz innymi badaniami fizyko-chemicznymi nowych związków rutenu, bardzo wymagającego i często „niewdzięcznego” atomu centralnego, wiedzą, że otrzymanie wiarygodnych danych w tym zakresie wymaga opanowania bardzo dobrego warsztatu pracy, wielokrotnych powtórzeń eksperymentów oraz umiejętności wyciągania prawidłowych wniosków z eksperymentów.



Na podkreślenie zasługuje również fakt, że mgr Patrycja Rogala pod kierunkiem dr hab. Barbary Barszcz, prof. UJK sprostała temu wielkiemu wyzwaniu.

Podsumowując swoją recenzję stwierdzam, że Autorka wykazała się bardzo dobrą znajomością tematyki i umiejętnością posługiwania się współczesnymi technikami spektroskopowymi, analitycznymi i eksperymentami biologicznymi. W pełni zrealizowała cel pracy uzyskując bardzo ważne wyniki naukowe, które przyczyniły się do opracowania skutecznego w warunkach *in vitro* inhibitora tworzenia biofilmu *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Wyniki prezentowane w rozprawie doktorskiej zostały wcześniej częściowo opublikowane z udziałem Doktorantki w 3 wieloautorskich artykułach w czasopismach z bazy JCR o zasięgu światowym: *Coord. Chem. Rev.*, *Dalton Trans.*, i *J. Mol. Struct.*, (sumaryczny IF > 18). Dorobek publikacyjny uzupełniony jest osiągnięciami w zakresie prawa własności intelektualnej, na które składa się współautorstwo w 2 zgłoszeniach patentowych RP dotyczących sposobów wytwarzania nowych kompleksów Ru(IV) i Ru(VI) jako inhibitorów procesu tworzenia biofilmu bakteryjnego. Warto podkreślić, iż zainteresowania naukowe Doktorantki nie ograniczył się tylko do tematyki rozprawy doktorskiej o czym najdobitniej przekonują kolejne 4 wieloautorskie publikacje naukowe (IF > 7,4).

Reasumując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji interdyscyplinarna praca, spełnia w nadmiarze 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 Matematyczno-Przyrodniczego Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach o dopuszczenie Pani mgr Patrycji M. Rogala do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie z uwagi na innowacyjność i wysoką wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej wnoszącej znaczący wkład nie tylko do rozwoju chemii koordynacyjnej i bionieorganicznej, ale również w rozwiązywaniu problemów farmakologicznych w leczeniu chorób o podłożu bakteryjnym **wnioskuję** do Wysokiej Rady Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego Uniwersytetu Jana Kochanowskiego o jej wyróżnienie.