

dr hab. Małgorzata Brindell
Zakład Chemii Nieorganicznej
Wydział Chemii UJ



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Kraków, 11 grudnia 2017 roku

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Patrycji Rogali zatytułowanej
„Synteza kompleksów rutenu na różnych stopniach utlenienia, ich
charakterystyka fizyko-chemiczna i możliwości zastosowań”**

Praca doktorska Pani mgr Patrycji Rogali została przygotowana pod kierunkiem Pani dr hab. Barbary Barszcz profesora Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach, a promotorem pomocniczym tej rozprawy była dr Agnieszka Jabłońska-Wawrzycka. Badania zostały wykonane w Zakładzie Chemii Nieorganicznej Instytutu Chemii Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach oraz w ramach współpracy naukowej z dr Grzegorzem Czerwinką w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Biologii Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach.

Jednym z wyzwań współczesnej medycyny jest pokonanie ciągle wzrastającej oporności drobnoustrojów na stosowane antybiotyki, co prowadzi do coraz mniejszej skuteczności stosowanych leków. Antybiotykooporność staje się coraz większym problemem ogólnoswiatowym, ponieważ tempo, w jakim odkrywamy nowe leki, gwałtownie się spowolniło, podczas gdy ich stosowanie stale rośnie. Odkrywanie i rozwój leków przeciwbakteryjnych jest blokowane przez dynamiczny rozwój ewolucyjny drobnoustrojów, który prowadzi do doskonalenia ich naturalnych mechanizmów oporności. Jedną z nowych strategii w poszukiwaniu związków służących zwalczaniu oporności na obecnie stosowane środki przeciwdrobnoustrojowe jest projektowanie układów, które łączą w sobie różne mechanizmy działania. Takie działanie na różne cele ma zapobiec szybkiemu rozwojowi oporności u drobnoustrojów. Jedną ze ścieżek badawczych jest wykorzystanie związków kompleksowych różnych metali, w których ligandy są tak dobierane, aby wykazywały odpowiednią aktywność biologiczną. Połączenie aktywnego biologicznie jonu metalu z odpowiednimi ligandami może prowadzić nie tylko do efektu synergicznego, ale również do rozszerzenia spektrum działania (np. inne szczepy bakteryjne, inhibicja wzrostu biofilmu). Tematyka przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej p. mgr Patrycji Rogali doskonale wpisuje się w ten obszar badawczy. Jest kontynuacją

Wydział Chemii

Zakład Chemii
Nieorganicznej

Gronostajowa 2
30-387 Kraków, Poland
tel. +48(12) 686 2770
fax +48(12) 686 2750
sekretar@chemia.uj.edu.pl
www.chemia.uj.edu.pl



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

badań realizowanych przez zespół Pani Profesor Barbary Barszcz. Należy podkreślić, iż mimo wielu prac naukowych nad możliwością wykorzystania związków kompleksowych rutenu w zwalczaniu infekcji bakteryjnych, badania nad ich aktywnością antybiofilmową należą do rzadkości, co plasuje pracę Doktorantki wśród prac pionierskich.

Główny celem recenzowanej pracy była synteza a następnie charakterystyka fizykochemiczna i strukturalna biblioteki kompleksów rutenu na różnych stopniach utlenienia z wybranymi ligandami heteroaromatycznymi. Dodatkowym celem recenzowanej rozprawy była ocena aktywności bakteriostatycznej i antybiofilmowej otrzymanych związków.

Przedstawiona do oceny praca składa się z sześciu głównych rozdziałów. Rozdział pierwszy, zawiera zwięzły wstęp dotyczący wykorzystania związków rutenu na różnych stopniach utlenienia w przemyśle i medycynie oparty aż na 43 pozycjach literaturowych. Może on stanowić doskonałe kompendium wiedzy o zastosowaniach związków rutenu. Autorka uzasadnia również istotę i znaczenie podjętych badań. Dalej Doktorantka omawia główny cel pracy, który opisałam powyżej oraz podaje cele szczegółowe, stanowiące swoisty plan badawczy. Uzasadnia też wybór ligandów.

Kolejny rozdział pracy zatytułowany „Część teoretyczna” rozpoczyna się wprowadzeniem pojęcia biofilmu, opisany jest mechanizm jego tworzenia oraz negatywne i pozytywne skutki jego występowania. Kolejno Doktorantka przedstawia hipotezy dotyczące zwiększonej oporności lekowej komórek bakteryjnych w biofilmie, a następnie dyskutuje problemy i ograniczenia współczesnej terapii w skutecznym zwalczaniu biofilmu. Przedstawia też wybrane przykłady nowych strategii wykorzystywanych w zwiększeniu skuteczności zwalczania biofilmu. Mimo dużej liczby badań w kierunku inhibicji wzrostu lub eradykacji biofilmu bakteryjnego wciąż nie zaproponowano wystarczająco skutecznych i uniwersalnych rozwiązań, dlatego badania w tym zakresie są w pełni uzasadnione. W dalszej części Autorka w ciekawy graficznie sposób dokonała przeglądu najnowszych doniesień literaturowych dotyczących aktywności bakteriostatycznej i antybiofilmowej jonów metali i ich kompleksów. Dla każdego z kompleksów metali zostały przedstawione i pokrótce omówione dane krystalograficzne, a na ich podstawie zostały narysowane wzory strukturalne tych związków. Opisując właściwości mikrobiologiczne Autorka zwróciła uwagę również na metodykę wykorzystywaną w oznaczaniu aktywności bakteriostatycznej i antybiofilmowej. Dane dla aktywności antybiofilmowej zostały przedstawione w postaci wykresów słupkowych, co pozwala czytelnikowi na szybką ocenę

Wydział Chemii

Zakład Chemii
Nieorganicznej

Gronostajowa 2
30-387 Kraków, Poland
tel. +48(12) 686 2770
fax +48(12) 686 2750
sekretar@chemia.uj.edu.pl
www.chemia.uj.edu.pl



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

skuteczności poszczególnych kompleksów metali. Doktorantka nie ograniczyła się tylko do opisu poszczególnych kompleksów metali, ale również podjęła próbę powiązania najważniejszych parametrów strukturalnych z ich obserwowaną aktywnością mikrobiologiczną. Przegląd literatury oraz podsumowanie wyników badań uzyskanych przez innych naukowców jednoznacznie wskazują na celowość podjętego przez Doktorantkę tematu badawczego. W dalszej części tego rozdziału Autorka opisała teoretyczne podstawy metod eksperymentalnych wykorzystywanych w pracy. Znalazły się tam również opisy warunków pomiarów, nazwy aparatury, miejsce wykonania pomiarów i współpraca naukowa, które powinny raczej znaleźć się w „Części doświadczalnej”.

W rozdziale „Część doświadczalna” zostały zamieszczone jedynie dane dotyczące stosowanych odczynników chemicznych i wykorzystywanych szczepów bakteryjnych oraz została opisana preparatyka związków koordynacyjnych.

Rozdział czwarty zatytułowany „Wyniki badań i dyskusja” jest najobszerniejszy i zawiera wyniki badań oraz ich analizę. W trzech pierwszych częściach zostały przedstawione dane eksperymentalne dotyczące otrzymanych kompleksów rutenu odpowiednio na II, III i IV stopniu utlenienia. Każdy z kompleksów zidentyfikowano i scharakteryzowano wykorzystując techniki spektroskopowe (spektroskopia UV-Vis, spektroskopia w podczerwieni a dla kompleksów Ru(II) również spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego), elektrochemiczne (woltamperometria cykliczna i woltamperometria pulsowa różnicowa) i krystalograficzne (rentgenowska analiza strukturalna monokryształów), natomiast czystość związków potwierdzono analizą elementarną. Dla kompleksów Ru(III) i Ru(IV) wykonano również badania podatności magnetycznej. Otrzymane dane eksperymentalne są starannie opracowane i opatrzone odpowiednim komentarzem. W czwartej części tego rozdziału Doktorantka przedstawiła badania dotyczące aktywności bakteriostatycznej i antybiofilmowej otrzymanych kompleksów rutenu. Badania te były wykonane we współpracy z Zakładem Mikrobiologii UJK. Aktywność mikrobiologiczna wszystkich otrzymanych kompleksów rutenu oraz ligandów wykorzystywanych do ich tworzenia była testowana na trzech laboratoryjnych szczepach bakteryjnych (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* PAO1) i jednym szczepie klinicznym (*Pseudomonas aeruginosa* LES B58). Otrzymane dane biologiczne są bardzo interesujące, co potwierdza słuszność doboru ligandów dla jonów rutenu i wydaje się, iż badania nad niektórymi z otrzymanych kompleksów mogą być dalej

Wydział Chemii

Zakład Chemii
Nieorganicznej

Gronostajowa 2
30-387 Kraków, Poland
tel. +48(12) 686 2770
fax +48(12) 686 2750
sekretar@chemia.uj.edu.pl
www.chemia.uj.edu.pl



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

kontynuowane. Podsumowując tą część pracy należy podkreślić, iż warsztat badawczy Doktorantki jest bardzo bogaty, obejmuje on różnorodne techniki badawcze wymienione już pokrótce powyżej. Olbrzymi nakład pracy jaki Doktorantka włożyła w realizację założonych celów ma swoje odzwierciedlenie w rozdziale piątym, *Podsumowanie i wnioski*, gdzie zostały przedstawione najważniejsze wnioski, które w sposób pełny i zwięzły przedstawiają wyniki pracy Doktorantki.

W rozdziale szóstym Doktorantka przedstawia kierunki dalszych badań, które mogłyby stanowić kontynuację prac badawczych ujętych w pracy doktorskiej. A kolejnym rozdział to wykaz pozycji literaturowych cytowanych w pracy.

Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki uzyskanych w trakcie realizacji zarysowanych powyżej zadań badawczych składających się na recenzowaną Dysertację należą:

1. Uzyskanie i scharakteryzowanie metodami spektroskopowymi, strukturalnymi oraz elektrochemicznymi 9 nowych kompleksów rutenu.
2. Otrzymanie dla każdego z syntezowanych związków monokryształów odpowiednich do pomiarów krystalograficznych.
3. Wykazanie, iż niektóre z badanych kompleksów rutenu, mogą konkurować w hamowaniu wzrostu biofilmu z powszechnie używanym antybiotykiem streptomycyną.

Część wyników umieszczonych w pracy została już opublikowana, a więc poddana wnikliwej ocenie przez specjalistów, natomiast duża część pracy stanowi świetny materiał publikacyjny. Z obowiązków recenzenta wymienię kilka punktów do przedyskutowania podczas obrony pracy doktorskiej.

1. Jakie inne badania należałoby podjąć by określić przydatność badanych kompleksów rutenu jako potencjalnych leków przeciwbakteryjnych.
2. Proszę przedyskutować jaki może być mechanizm leżący u podstaw działania antybiofilmowego kompleksów rutenu i jakie doświadczenia można byłoby wykonać by potwierdzić te hipotezy.
3. Wartości współczynników absorpcji molowej wyznaczone dla obserwowanych maksimów absorpcji podane w tabelach 17, 28 oraz 38 mają 4 cyfry znaczące, czy jest możliwe wyznaczenie aż tak dokładne tych wartości (niestety nie podano błędów), zwłaszcza dla pasm absorpcji, które są słabo wykształcone.

Podsumowując moją ocenę rozprawy doktorskiej pani mgr Patrycji Rogali chciałabym podkreślić wysoki poziom merytoryczny przeprowadzonych badań. Wskazują one na kompetencje Doktorantki w zakresie chemii koordynacyjnej,

Wydział Chemii

Zakład Chemii
Nieorganicznej

Gronostajowa 2
30-387 Kraków, Poland
tel. +48(12) 686 2770
fax +48(12) 686 2750
sekretar@chemia.uj.edu.pl
www.chemia.uj.edu.pl



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

metod spektroskopowych oraz krystalograficznych, jak i na otwartość w kierunku wiedzy o biologicznych aspektach swojej pracy. Wyniki badań recenzowanej pracy doktorskiej zostały już częściowo opublikowane w dwóch artykułach oryginalnych w czasopismach z bazy JCR: *Journal of Molecular Structures* (gdzie Doktorantka jest pierwszym współautorem) oraz *Dalton Transactions* (gdzie Doktorantka jest drugim współautorem). Jest ona również współautorem rozdziału pracy przeglądowej opublikowanej w *Coordination Chemistry Review*, który bezpośrednio związany jest z tematyką pracy doktorskiej. Pani Patrycja Rogala jest również współautorem 4 innych prac naukowych. Tematyka tych prac wykracza poza tematykę przedstawioną w rozprawie doktorskiej, co świadczy o szerokich zainteresowaniach Doktorantki, i dowodzi jej naukowej dojrzałości. Na szczególną uwagę zasługuje jej współautorstwo w 2 zgłoszeniach patentowych.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdzając wiedzę oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych przez Doktorantkę, zatem spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określone w art.13 *Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 14 marca 2003 r.* Wnoszę więc do Rady Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach o dopuszczenie Pani mgr Patrycji Rogali do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, z uwagi na wysoką wartość merytoryczną uzyskanych wyników oraz ich opublikowanie w uznanych czasopismach, stawiam wniosek do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy, o ile zostały spełnione odpowiednie warunki ustalone przez Radę Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego UJK.

Wydział Chemii

Zakład Chemii
Nieorganicznej

Kaigponato Brindell

Gronostajowa 2
30-387 Kraków, Poland
tel. +48(12) 686 2770
fax +48(12) 686 2750
sekretar@chemia.uj.edu.pl
www.chemia.uj.edu.pl