



prof. dr hab. Iwona Łakomska  
Zespół naukowy Chemia Bionieorganiczna i Koordynacyjna  
Wydział Chemii UMK  
ul. Gagarina 7  
87-100 Toruń  
email: iwona.lakomska@umk.pl

Toruń, 21.08.2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej  
mgr Dominiki Porębskiej  
pt:

***„Badanie reaktywności pochodnych witaminy B<sub>12</sub> pod kątem  
wybranych aplikacji biomedycznych”***

W Polsce na przestrzeni 30 lat liczba zachorowań na nowotwory złośliwe wzrosła ponad dwukrotnie, a choroby onkologiczne są drugą najczęstszą przyczyną zgonów po chorobach układu krążenia. Wzrost zachorowalności i umieralności z powodu chorób nowotworowych jest wynikiem starzenia się społeczeństwa jak i wzrostu narażenia na czynniki związane ze stylem życia. Niestety prognozy wskazują, że w ciągu najbliższych 10 lat liczba pacjentów onkologicznych zwiększy się o 28%. Takie prognozy są konsekwencją różnorodności nowotworów oraz niezadowalającej cytotoksyczności i szeregu niepożądanych efektów ubocznych wywoływanych przez dostępne leki onkologiczne. Nadrzędnym celem badań nad nowotworami jest więc poprawa wyników leczenia, a co za tym idzie obniżenie wskaźnika umieralności, wydłużenie czasu przeżywalności, poprawa jakości życia pacjentów, a także zmniejszenie częstotliwości występowania nowotworów. Komisja europejska w komunikacie skierowanym do parlamentu europejskiego dotyczącym planu walki z rakiem (z dnia 3.02.2021) wskazuje na konieczność nowoczesnego podejście do walki z rakiem opartego na innowacyjnych rozwiązaniach zarówno w profilaktyce i diagnostyce nowotworów, a także leczeniu onkologicznym. Obiecującym kierunkiem działania wydaje się terapia celowana, która umożliwi dostarczenie właściwego leczenia, dostosowanego do charakterystyki genetycznej indywidualnego guza i zniszczenie tylko komórek nowotworowych. To właśnie odkrycie



mechanizmów komórkowych, opierających się na szlakach przekazywania sygnału odbieranego z zewnątrz, a co za tym idzie zidentyfikowanie specyficznych białek, w tym kinaz tyrozynowych umożliwiło zaprojektowanie oraz zastosowanie kilkudziesięciu leków skierowanych przeciwko wyznaczonym celom w komórce nowotworowej.

Recenzowana rozprawa doktorska mgr Dominiki Porębskiej stanowiąca podstawę w procedurze uzyskania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie w Zespole Fizykochemii Koordynacyjnej i Bionieorganicznej pod kierunkiem promotora dr hab. Łukasza Orła porusza istotne aspekty związane z wykorzystaniem witaminy B<sub>12</sub> jako nośnika leków w celowanej terapii antynowotworowej jak i w regulacji homeostazy NO. Z formalnego punktu widzenia oceniana rozprawa doktorska zawarta jest na 173 stronach maszynopisu i posiada układ typowy dla opracowań eksperymentalnych obejmujący: spis treści, wykaz skrótów, abstrakt, wstęp, cel pracy, część eksperymentalna, wyniki i dyskusję, podsumowanie, wnioski, dorobek naukowy Doktorantki, bibliografię obejmującą 213 pozycji literaturowych.

### **Ocena merytoryczna pracy**

Rozważania teoretyczne Doktorantka rozpoczęła od charakterystyki kobalaminy omawiając jej wchłanianie i transport w organizmie, a także podkreśliła jej istotną rolę m.in. w metylacji homocysteiny do metioniny katalizowanej przez syntazę metioninową odtwarzając tym samym H<sub>4</sub>-folian z metylo-H<sub>4</sub>-folianu (ważny donator grup metylowych w syntezie puryn i metylacji DNA), oraz konwersji metylomalonylo-CoA (pochodzącego z propionianu) do bursztynylo-CoA (metabolit cyklu Krebsa) katalizowanej przez mutazę metylomalonylo-CoA, co umożliwia wprowadzenie propionianu do cyklu przemian pirogronianu. W dalszej części Autorka kieruje uwagę czytelnika na rolę NO, który oddziałując na mięśnie gładkie naczyń krwionośnych pełni rolę regulatora przepływu i ciśnienia krwi. To właśnie zdolność rozszerzania naczyń krwionośnych przez NO i jego prekursory (np. nitrogliceryna) znalazły bezpośrednie zastosowanie kliniczne w leczeniu dławicy piersiowej, nadciśnienia płucnego, niewydolności serca, fibrynolizy oraz w angioplastyce wieńcowej. W rozważaniach tych nie zabrakło też omówienia wpływu NO na procesy nowotworowe. Autorka wykazuje, że wśród licznych prac



dotyczących roli NO w procesie nowotworowym występują prace wskazujące na jego działanie zarówno hamujące, jak i stymulujące ten proces.

Rozbudowanie tego podrozdziału o przykłady literaturowe prezentujące współczesne trendy zastosowania witaminy B<sub>12</sub> i jej pochodnych jako nośników diagnostycznych polepszających obrazowanie komórek czy nośników leków antynowotworowych lub antybakteryjny dodatkowo przekonuje czytelnika o słuszności wyboru tematu rozprawy doktorskiej. W tym logicznym i zwięzłym opracowaniu zabrakło mi równań reakcji (np. w rozdziale 3.3.; 3.5, etc.).

Doktorantka w oparciu o najnowsze piśmiennictwo naukowe (161 pozycje literaturowe, w dużej mierze pochodzące z ostatnich 10 lat) przedstawiła najbardziej istotne zagadnienia, stanowiące tło problemów poruszanych bezpośrednio już w badaniach objętych rozprawą doktorską. Staranne przygotowanie teoretyczne pomogło w określeniu celów pracy, wśród których wymienić należy **i)** zbadanie zdolności witaminy B<sub>12</sub> do tworzenia koniugatów z wybranymi kompleksami Pt(II) i Pd(II); **ii)** określenie wpływu ligandów na trwałość powstających koniugatów a także aktywację NO; **iii)** opisanie oddziaływań witaminy B<sub>12</sub> z tiolami i nitrozotiolami. Cele badawcze konsekwentnie realizowała projektując eksperymenty, w których wykorzystywała różne metody spektroskopowe (UV-Vis, NMR, IR), pomiary kinetyczne a także modelowanie molekularne z wykorzystaniem metody DFT. Dlatego też za wartościową częścią rozprawy doktorskiej uważam zwięzłe przedstawienie technik pomiarowych i opisy syntez.

Najobszerniejszy, 91 stronicowy rozdział „Wyniki i dyskusja” zawiera wyniki badań własnych oraz ich wnikliwą analizę. W pierwszej części tego opracowania badano oddziaływanie wybranych związków Pt(II) lub Pd(II) z witaminą B<sub>12</sub>. W wyniku przeprowadzonych eksperymentów otrzymano trzy koniugaty Pt(II) (CbICN-PtCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O), CbICN-Pt(dien), CbICN-Pt(terpy)) i cztery koniugaty Pd(II) ((CbICN-PdCl(H<sub>2</sub>O))<sub>2</sub>, CbICN-PdCl<sub>3</sub>, CbICN-Pd(dien), CbICN-Pd(terpy)), które scharakteryzowano przy użyciu MS, UV-Vis, IR, NMR, a geometrię i trwałość koniugatów określono posilując się metodą DFT. Zebrany materiał doświadczalny pozwolił na wskazanie najbardziej termodynamicznie trwałego koniugatu (CbICN-PtCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)). Kolejny obiekt badań stanowiły koniugaty witaminy B<sub>12</sub> z homocysteiną i nitrozohomocysteiną. Badania kinetyczne potwierdziły obecność oddziaływań zarówno w warunkach hipoksji jak

i normoksjii. Ponadto wykonano wstępne obliczenia teoretyczne pozwalające na określenie wpływu atomu donorowego tiolu i nitrozotiolu na wiązanie z jonami kobaltu ( $\text{Co}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{+}$ ) z układem korynowym i porfirynewym.

Pewien niedosyt pojawił się po przeczytaniu *Wniosków*. W mojej opinii wnioski są za bardzo opisowe. Zabrakło tutaj konkretnych wniosków wskazujących faktyczne osiągnięcia Doktorantki oraz wskazujących, który z badanych układów jest najbardziej obiecujący z punktu widzenia zastosowań biomedycznych. Proszę, aby w trakcie publicznej prezentacji rozprawy doktorskiej Doktorantka pochwaliła się najważniejszymi osiągnięciami i przedstawiła kierunki dalszych badań stanowiących kontynuację prac badawczych ujętych w pracy doktorskiej.

W niezwykle szeroko zakrojonym planie badań począwszy od studiów literaturowych, poprzez prace koncepcyjne, eksperymentalne, obliczeniowe, mgr Dominika Porębska wykazała się bardzo dobrym przygotowaniem teoretycznym i eksperymentalnym, konsekwencją w realizacji badań, umiejętnym wykorzystaniem wyników do realizacji kolejnych celów. Opis każdego z problemów badawczych jest precyzyjny, zastosowane metody badawcze nie budzą wątpliwości z merytorycznego i metodologicznego punktu widzenia. Analiza całości różnorodnego materiału doświadczalnego i dyskusja wyników uzyskanych w trakcie realizacji poszczególnych zadań badawczych, pozwala na stwierdzenie, że założone cele pracy zostały osiągnięte.

W trakcie lektury rozprawy nasunęło się pytania, Dlaczego zainteresowano się związkami Pd(II), które ze względu na szybkość reakcji akwatacji w układach biologicznych raczej nie są rozpatrywane jako potencjalne leki antynowotworowe?

### Podsumowanie

Podsumowując moją ocenę rozprawy doktorskiej mgr Dominiki Porębskiej chciałabym podkreślić wysoki poziom merytoryczny przeprowadzonych badań. Wskazują one na kompetencje Doktorantki w zakresie chemii koordynacyjnej, metod spektroskopowych i badań kinetycznych. Wyniki badań zostały już opublikowane w 3 wieloautorskich artykułach w czasopismach z bazy JCR o zasięgu międzynarodowym (*Int. J. Mol. Sci*, *Polyhedron*, *Molecules*). Rozprawa doktorska bez wątpienia zawiera bardzo ciekawe wyniki poszerzające dotychczasową wiedzę na temat roli witaminy B<sub>12</sub> w układach biologicznych, ukazując



jednocześnie nowe perspektywy zastosowania do zastosowań w terapii antynowotworowej. W mojej opinii rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdzające wiedzę oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych przez Doktorantkę, zatem spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określone w Ustawie - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.) i z całym przekonaniem stawiam wniosek Radzie Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pani mgr Dominiki Porębskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Halowka*