



Białystok, 12.09.2024

Recenzja rozprawy doktorskiej Recenzja rozprawy doktorskiej mgra inż. Ali Marufa pt.

"Trehalosse releasing nanogels for autophagy stimulation"

**przedstawiona w formie cyklu publikacji wraz z opisem, sporządzona w odpowiedzi na pismo
Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej prof. dr. hab. Doroty
Neugebauer z dnia 3 lipca 2024 roku.**

Praca doktorska Pana mgr. inż. Ali Marufa została wykonana na Wydziale Chemii w Katedrze Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii Politechniki Śląskiej w Gliwicach pod kierunkiem prof. dr hab. Iwony Wandzik i dr inż. Małgorzaty Milewskiej.

Przedstawiona do recenzji praca stanowi spójny tematycznie cykl publikacji dotyczących opracowania metod otrzymywania oraz charakterystyki fizykochemicznej nanożeli polimerowych do przenoszenia i uwalniania trehalozy – disacharydu charakteryzującego się właściwościami stymulującymi autofagi. Temat podjętych badań jest niezwykle aktualny i nowatorski, pomimo wielu prac dotyczących poszukiwań nowych nośników leków. Przedstawione badania wpisują się w poszukiwania wysoce wyspecjalizowanych układów typu związek aktywny biologicznie-nośnik pozwalających na zmniejszenie skutków ubocznych działania leków lub/i ułatwiających pokonanie naturalnych barier w organizmach żywych.

Rozprawa napisana jest w języku angielskim i jest oparta na cyklu pięciu, spójnych tematycznie publikacji, czterech o charakterze eksperymentalnym i jednej przeglądowej oraz zgłoszenia patentowego. Tytuł rozprawy odpowiada w części tematyce załączonych publikacji. Prace [P2] i [P3] skupiają się na innych niż trehaloza substancjach aktywnych. Natomiast doświadczenia zdobyte podczas optymalizacji warunków polimeryzacji tych nanożeli zastały wykorzystane do syntezy nanożeli z kowalencyjnie związaną trehalozą. Artykuły były opublikowane w latach 2022-2023, wszystkie w czasopismach o zasięgu międzynarodowymi dobrym oraz bardzo dobrym współczynnikiem oddziaływania IF: *J. Med. Chem.* (IF 7.30, MNiSW



200), dwie w *Molecules* (IF 4,927, MNiSW 140), *Biomater. Adv.* (IF 7,328, MNiSW 140) oraz *J. Nanobiotechnology* (IF 10,200, MNiSW 140).

Doktorant jest pierwszym lub drugim autorem we wszystkich obejmujących cykl pracach. łączny IF publikacji wchodzących w cykl jest bardzo wysoki i wynosi 34,355 ora 760 pkt. MNiSW. Mgr inż. Maruf był wykonawcą w projekcie Preludium Bis (NCN), kierowanego przez promotorkę pracy. Odbił trzy krótkoterminowe staże w Uniwersytecie Helsińskim (6 mies.; NAWA), w Uniwersytecie w Coimbrze w Portugalii (2 tyg., PROM Program) oraz w Uniwersytecie w Groningen w Niderlandach (3 mies.). Wyniki swoich prac prezentował na 9 konferencjach zarówno polskich jak i międzynarodowych. Jest On również współautorem szesnastu, niewchodzących w cykl, publikacji notowanych w JCR.

Dostarczona do recenzji praca jest w formie cyklu publikacji wraz z opisem i zawiera 39 stron autoreferatu. Opis obejmuje przewodnik, w którym zamieszczono cel oraz zakres badań, wstęp literaturowy, rezultaty, podsumowanie i konkluzje. Dodatkowo do pracy załączone zostały kopie publikacji i materiałów uzupełniających, streszczenia w języku angielskim i polskim, spis dorobku naukowego zawierającego wykaz publikacji, odbytych staży naukowych, udział w konferencji, udział w projekcie badawczym oraz nagrody.

Wszystkie prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej zostały poddane wnikliwej ocenie recenzentów na etapie edytorskim i zostały opublikowane w czasopismach naukowych z listy filadelfijskiej. Z przyjemnością mogę nadmienić, że są to dobrze udokumentowane i solidne prace o charakterze eksperymentalnym i jedna przeglądowym.

Wstęp literaturowy jest bardzo dobrym wprowadzeniem oraz uzasadnieniem podjętej tematyki badawczej. Doktorant omówił dwa kluczowe dla pracy zagadnienia. Pierwszym były nanocząstki jako nośniki leków, a drugim trehaloza – związek aktywny - jego rola w aplikacjach biomedycznych oraz znane z literatury nośniki tego leku.

Wnioski dotyczące procedur syntetycznych, nanoożeli zawierających kowalencyjnie związaną trehalozę oraz opracowanie procedur uwalniania disacharydu uzyskano w oparciu



o kilka niezależnych badań fizykochemicznych. Badania te zostały przeprowadzone z dużą starannością.

Lektura publikacji oraz przegląd materiałów pomocniczych (*supporting information*) w zupełności potwierdzają ich wysoką jakość. W związku z powyższym uważam, że moja rola jako recenzenta powinna ograniczyć się do oceny zgodności celu badań/zagadnień badawczych z osiągniętymi, przedstawionymi w autoreferacie, wynikami.

Oświadczenia Doktoranta oraz Promotora, jak również „Oświadczenia o wkładzie autorów” stanowiące odrębny punkt w załączonych kopiach publikacji, w powstanie pracy doktorskiej wskazują na wiodącą rolę Pana Ali Marufa w badaniach nanożeli (z wyłączeniem eksperymentalnej części biologicznej). Wynika z nich jednoznacznie, że większość eksperymentów i analiz jest jego autorstwa. Brał On również aktywny udział w pracach związanych z przygotowaniem manuskryptów oraz odpowiedzi na recenzje. Praca przeglądowa w *J. Med. Chem.*, która została włączona do cyklu, świadczy, że Doktorant posiada dobrze ugruntowaną wiedzę odnoszącą się do tematyki rozprawy.

Za najważniejsze i najciekawsze wątki kierunkowe zgodne z postawionymi celami pracy uważam:

1. Opracowanie i optymalizację metodologii otrzymywania nanożeli polimerowych z kowalencyjnie związaną trehalozą z wykorzystaniem fotoinicjowanej polimeryzacji rodnikowej w odwróconej miniemulsji.
2. Wskazanie zależności pomiędzy budową chemiczną nanożeli, a ich właściwościami fizykochemicznymi, w szczególności stabilnością koloidalną, co jest czynnikiem kluczowym w zastosowaniach biomedycznych.
3. Wskazanie zależności pomiędzy budową, stężeniem nanożeli, pH roztworów a efektywnością uwalniania trehalozy z nośnika.
4. Opracowanie metodologii znakowania fluorescencyjnego nanożeli w wyniku polimeryzacji i post-modyfikacji.



5. Wyselekcjonowanie nośników, które spełniają najlepsze kryteria do zastosowań biomedycznych – posiadają ponad 50% zawartość trehalozy, stabilność w roztworach wodnych, nie są cyto- i hemotoksyczne, są dobrze wchłaniane przez komórki.

6. Potwierdzenie działania stymulującego wybranych nanożeli zawierających trehalozę na proces autofagii.

Uzyskane wyniki są bardzo interesujące, a otrzymane nanożele z kowalencyjnie związaną trehalozą stanowią nową grupę układów typu nanonośnik-lek do stymulacji procesu kontrolowanego rozkładu niepotrzebnych i uszkodzonych komponentów wewnątrzkomórkowych.

Zaintrygowały mnie pewne zagadnienia, dlatego proszę o komentarz:

- Dlaczego uwalnianie trehalozy z nośnika było szybsze gdy do polimeryzacji zastosowany był odpowiedni akrylan a nie metakrylan?

- Czy mógłby Pan przedstawić mechanizm hydrolizy wiązania estrowego zachodzący podczas uwalniania trehalozy z nośnika ze wskazaniem wpływu budowy nośnika (ładunku, obecności w jego sąsiedztwie innych grup funkcyjnych) przy pH=7,4?

- Czy po uwolnieniu trehalozy, zmieniały się znacząco właściwości fizykochemiczne nośnika? I jeżeli tak, to czy to może mieć wpływ na jego przyszłe zastosowanie jako nośnika?

- Czy w przypadku znakowanych fluorescencyjnie nośników, w warunkach hydrolizy wiązania estrowego prowadzącego do uwalniania trehalozy, nie następowała również hydroliza i uwolnienie fluoresceiny?

- W odniesieniu do rys. 19, str. 44, proszę o przedstawienie wzoru strukturalnego znakowanego nanożelu po reakcji ugrupowania sukcyminowego z sulfo-Cy5-aminą.

Praca pod względem edytorskim została zredagowana dobrze z dużą uważnością i starannością. Na pochwałę zasługuje również dbałość o graficzne przedstawienie rycin.



Podsumowanie

Po lekturze załączonych prac oraz przedstawionych w autoreferacie celów stwierdzam, że Doktorant wykazał się biegłością w stawianiu hipotez i celów oraz skutecznością w ich realizacji. Rozprawę cechuje bardzo wysoki poziom naukowy i poznawczy. Zakres wykonanej, przez Doktoranta, pracy badawczej, tj. opracowanie warunków polimeryzacji, kinetyki uwalniania trehalozy z nośników wymagało interdyscyplinarnej wiedzy teoretycznej i umiejętności preparatywnych. Pragnę zwrócić uwagę na doświadczenie i umiejętności Doktoranta w zakresie wykorzystania metod fizykochemicznych. Pan mgr inż. Ali Maruf wykazał się sprawnością i fachowością w opracowywaniu wyników i wyciąganiu wniosków oraz dyskusją na bardzo dobrym poziomie merytorycznym.

Wniosek końcowy

Podsumowując pracę doktorską Pana mgr. inż. Ali Marufa oceniam bardzo wysoko. Wnosi ona wymagane w rozprawach doktorskich elementy nowości naukowej, co zostało również udokumentowane artykułami opublikowanymi w bardzo dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, znajdujących się na liście filadelfijskiej. Stanowi ona ważny wkład w rozwój chemii polimerów oraz badań nad nowoczesnymi układami typu nośnik-lek. Opracowane metody syntez otwierają drogi otrzymywania szerokiej gamy nowych nośników posiadających kowalencyjnie związane substancje, których przedłużone uwalnianie polega na selektywnej hydrolizie wiązania estrowego w warunkach fizjologicznych.

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca Pana mgr. Ali Marufa pt. "Trehalosse releasing nanogels for autophagy stimulation", spełnia wszystkie wymagania zawarte w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” i zwracam się do wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej o dopuszczenie Pana mgr. Ali Marufa do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę całkowity, imponujący dorobek naukowy Doktoranta oraz wysoki poziom merytoryczny badań, wnoszę również o wyróżnienie rozprawy.

Podpisano odręcznie przez autora