Prof. dr hab. Szczepan Zapotoczny
Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii
ul. Gronostajowa 2, 30-387 Kraków
tel. 12 686 2530
Email: zapotocz@chemia.uj.edu.pl

UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI W KRAKOWIE

Wydział Chemii

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Niesyto pt.: "Zaprojektowanie szczepionych poli(cieczy jonowych) jako potencjalnych układów dostarczania leków w terapii przeciwbakteryjnej"

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Niesyto obejmuje zagadnienia związane z otrzymywaniem i charakterystyką fizykochemiczną oraz biologiczną grupy (ko)polimerów szczepionych zawierających podstawniki trimetyloamoniowe wykorzystywane w układach typu ciecze jonowe (pochodne choliny). W szczególności polimery te, także po odpowiedniej wymianie jonowej, były badane pod kątem zastosowań w dostarczaniu leków antybakteryjnych stosowanych w terapii chorób dolnych dróg oddechowych. Praca doktorska została wykonana pod opieką promotorską Pani prof. dr hab. inż. Doroty Neugebauer w Katedrze Fizykochemii i Technologii Polimerów Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej.

Doktorantka w swojej pracy wykorzystywała polimeryzację rodnikową z przeniesieniem atomu, ATRP (ang. atom transfer radical polymerization), która umożliwiła uzyskanie kontroli na strukturą i składem otrzymywanych polimerów. Pokazane możliwości zastosowania tego typu polimeryzacji do otrzymania kopolimerów szczepionych zawierających boczne grupy cholinowe są ciekawymi i istotnymi osiągnięciami w zakresie chemii polimerów, a uzyskane na ich bazie nanonośniki mają duży potencjał aplikacyjny w kontrolowanym dostarczania leków, w tym równoczesnym dostarczaniu leków jonowych i niejonowych/hydrofobowych.

Recenzowana rozprawa doktorska obejmuje zestaw siedmiu wieloautorskich publikacji stanowiących monotematyczny cykl. We wszystkich tych publikacjach Pani mgr inż. Katarzyna Niesyto jest pierwszym autorem, a liczba wszystkich autorów waha się od dwóch do pięciu. Zarówno zamieszczony wkład autorski Doktorantki, jak też załączone oświadczenia współautorów wskazują na znaczącą rolę Pani mgr inż. Katarzyny Niesyto zarówno w planowaniu, jak też wykonaniu prac badawczych zawartych w tych publikacjach. Prace zostały opublikowane w czasopismach rejestrowanych w bazie Journal Citation Records, posiadających wartości współczynników wpływu (impact factor) od 3,4 (*Journal of Biomedical Materials Research Part B - Applied Biomaterials*) do ok. 6,2 (*International Journal of Molecular Sciences*) odpowiednio w latach publikacji. Stanowią one załącznik do rozprawy doktorskiej wraz z materiałami dodatkowymi (supplementary materials) opublikowanymi z tymi pracami.

Rozprawa doktorska nie ogranicza się tylko do załączenia wzmiankowanych publikacji, ale obejmuje także omówienie uzyskanych wyników poprzedzone krótkim wstępem uzasadniającym także celowość i znaczenie podjętych przez Doktorantkę badań oraz podsumowanie i wnioski. Cześć ta jest bardzo klarownie napisana, pozwalając w sposób syntetyczny spojrzeć na obszerne wyniki badawcze oraz wskazuje na dobre opanowanie przez Doktorantkę tematyki rozprawy.

Poszczególne publikację obejmują różne aspekty badawcze poczynając od syntezy nowych kopolimerów szczepionych zawierających jednostki cholinowe, przez wymianę jonową w celu przyłączenia anionów pełniących funkcje leków, kończąc na wykorzystaniu układów micelarnych, tworzonych przez otrzymane polimery, do współdostarczania leków niejonowych/hydrofobowych i anionowych oraz ich podstawowej charakterystyce biologicznej.

Najważniejsze osiągniecia Doktorantki zawarte w załączonych publikacjach obejmują:

- otrzymanie metodą ATRP dobrze zdefiniowanych amfifilowych kopolimerów szczepionych (oraz porównawczo także liniowych) zawierających biokompatybilne grupy na bazie choliny;
- otrzymanie koniugatów w/w kopolimerów z biologicznie aktywnymi anionami (anion p-aminosalicylanowy, klawulanowy, fuzydanowy, piperacyliny) w procesie wymiany jonowej;
- otrzymanie asocjatów w/w koniugatów amfifilowych oraz enkapsulacji wybranych leków niejonowych/hydrofobowych (izoniazyd, ryfampicyna, tazobaktam) w celu ich współdostarczania z lekami anionowymi;

- wykazanie wpływu topologii makrocząsteczek na efektywność przyłączania jonów oraz enkapsulacji leków, jak też na kinetykę ich uwalniania; zastosowanie kopolimerów szczepionych umożliwiło wolniejszy i bardziej kontrolowany przebieg uwalniania, z uwagi na większą trwałość micel przez nie tworzonych, w porównaniu z układami opartymi na kopolimerach liniowych;
- wykazanie (warunki in vitro) braku cytotoksyczności otrzymanych polimerowych nośników leków względem komórek normalnych przy równoczesnym ich wpływie na ograniczenie proliferacji komórek nowotworowych;

Doktorantce udało się wyciągnąć szereg wartościowych wniosków badawczych, które umiejętnie uzasadniła i wsparła wykorzystując liczne metody badawcze. Udało jej się wytworzyć i zbadać szereg koniugatów jonowych typu nośnik-lek, które w większości przypadków posiadały zadowalające terapeutyczne ilości wprowadzonych leków i charakteryzowały się ich spowolnionym uwalnianiem, co może być wykorzystane w poprawie terapii chorób dolnych dróg oddechowych wywołanych przez drobnoustroje. Można zatem stwierdzić, że najważniejsze cele pracy zostały osiągnięte, a zaprezentowane podejście łączące dostarczanie leków jonowych i hydrofobowych w jednym nośniku, z możliwymi efektami synergistycznymi, może być dalej rozwijane w kierunku innych terapii.

W zakresie metod badawczych wykorzystała Ona nie tylko typowe metody spektroskopowe w analizie otrzymanych polimerów (NMR, IR), chromatografię żelową (chociaż brak chromatogramów w publikacjach), ale także m.in. spektroskopię absorpcyjną w zakresie UV/Vis śledząc uwalnianie leków, dynamiczne rozpraszanie światła w charakterystyce tworzonych micel/asocjatów, czy też pomiary kąta zwilżania do oceny hydrofilowości uzyskanych koniugatów po wymianie jonowej. Jej warsztat badawczy zarówno w zakresie syntezy, jak też charakterystyki otrzymanych polimerów i badań uzyskanych na ich bazie układów, oceniam wysoko.

Całość materiału badawczego zawartego w rozprawie doktorskiej została już opublikowana, więc także zrecenzowana. Materiał jest obszerny, ale spójny tematycznie, a uzyskane wyniki, ich opis, wartość merytoryczna w kontekście wkładu do rozwoju fizykochemii polimerów zasługuje na wyróżnienie. Z racji roli recenzenta chciałbym się odnieść do pracy także w postaci kilku komentarzy. (1) Analiza wyników DLS (np. w publikacji nr 1) byłaby pełniejsza, gdyby uwzględniała nie tylko rozkład po intensywności rozproszonego światła, ale także po objętości danej frakcji. Z uwagi na silną zależność

intensywności światła rozproszonego od rozmiarów hydrodynamicznych analizowanych cząstek, wyniki oparte jedynie na rozkładzie po intensywności mogą być zniekształcone udziałem niewielkich nawet frakcji agregatów lub nawet przypadkowych zanieczyszczeń. Czy Doktorantka analizowała także takie rozkłady rozmiarów? (2) Badania proliferacji komórek (np. metodą MTT) mogą wykazywać wrażliwość na dodatek wybranych substancji, które wchodzą w interakcje z odczynnikami stosowanymi w danej metodzie oznaczania. Dlatego warto sprawdzić tego typu oddziaływania lub zastosować także inne metody badania przeżywalności lub wzrostu komórek. Czy w swoich badaniach Doktoranta prowadziła takie testy kontrolne? (3) Opis wykonania wymiany jonowej (publikacja P1) obejmuje zmieszanie odpowiednich roztworów i wysuszenie powstałego produktu pod zmniejszonym ciśnieniem, Co się dzieje z utworzonymi w wyniku tego procesu solami typu NaCl? (4) We wniosku w rozprawie (str. 46) pojawiło się błędne sformułowanie wskazujące na wsparcie proliferacji komórek nowotworowych przez badane koniugaty, podczas gdy Doktrantka pokazała wcześniej, że układy oparte na kopolimerach szczepionych wykazały silną cytotoksyczność wobec komórek A549.

W podsumowaniu mogę stwierdzić, że uzyskane przez Doktorantkę wyniki prac badawczych przedstawionych w recenzowanej dysertacji niosą istotne wartości poznawcze oraz znaczenie dla chemii polimerów, w szczególności w zakresie otrzymywania funkcjonalnych kopolimerów zawierających grupy charakterystyczne dla cieczy jonowych, a także ich wykorzystania jako nośników leków. Doktorantka wykazała się umiejętnością prowadzenia pracy badawczej na wysokim poziomie, krytycznego spojrzenia na uzyskiwane wyniki oraz wyciągania rzetelnych wniosków na ich podstawie. Wyniki badań objętych niniejszą dysertacją zostały opublikowane w siedmiu publikacjach wydanych w dobrych i bardzo dobrych czasopismach specjalistycznych, a Pani mgr inż. Katarzyna Niesyto jest współautorką łącznie dziesięciu publikacji oraz ośmiu zgłoszeń patentowych. Wyniki swoich badań prezentowała także na trzynastu konferencjach krajowych i międzynarodowych.

Oceniając pozytywnie recenzowaną pracę stwierdzam, że spełnia ona wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce" - tekst jednolity: DzU z 2022 r. poz. 574 z późn. zm.). Wnoszę, zatem do Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Politechniki Śląskiej o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr inż. Katarzyny Niesyto do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, doceniając istotność osiągnięć badawczych Doktorantki w rozwoju chemii polimerów oraz

układów do kontrolowanego dostarczania leków, wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej. Zaprezentowane wyniki badawcze opublikowane w aż siedmiu pracach naukowych są osiągnięciem ponadprzeciętnym, a rozwijana metoda współdostarczania leków o różnej polarności w zaproponowanych nośnikach ma duży potencjał aplikacyjny.

Podpisano odręcznie przez autora

Szczepan Zapotoczny