Poznań, 21.07.2025

dr hab. inż. Róża Szweda, Prof. UAM
Centrum Programowalnych Polimerów
Centrum Zaawansowanych Technologii
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
ul. Uniwersytetu Poznańskiego 10
61-614 Poznań
roza.szweda@amu.edu.pl
tel. +48 61 82 91 882

Recenzja

dotycząca rozprawy doktorskiej

Imię i nazwisko kandydata: mgr Dawid Szymczuk

Tytuł rozprawy doktorskiej: Polimerowe nośniki leków zawierające pochodne kwasu litocholowego

Promotor: prof. dr hab. Agnieszka Zofia Wilczewska

Promotor pomocniczy: dr Karolina Halina Markiewicz

Jednostka: Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Chemii

Dyscyplina: nauki chemiczne

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska dotyczy polimerowych nośników leków zawierających pochodne kwasu litocholowego, skupiając się na ich syntezie, charakterystyce fizykochemicznej oraz ocenie właściwości biologicznych w kierunku potencjalnych zastosowań, zwłaszcza w obszarze terapii przeciwnowotworowych. Wybór tematu pracy znajduje uzasadnienie zarówno w rosnącym znaczeniu badań nad nowymi terapiami przeciwnowotworowymi, jak i w stale rozwijającej się chemii nanomateriałów hybrydowych. Nowotwory pozostają jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie, a skuteczność klasycznych terapii jest często ograniczona przez ich toksyczność związaną z nieselektywnym dostarczaniem leków przeciwnowotworowych.

W związku z tym istnieje potrzeba i zainteresowanie badaniami nad ukierunkowanymi systemami dostarczania leków oraz nowymi funkcjonalnymi nanocząsteczkami bioaktywnymi, których działaniem można sterować i ograniczyć ogólnoustrojową toksyczność. W ostatnich latach zwrócono uwagę na kwas litocholowy i jego potencjalne działanie przeciwnowotworowe, szczególnie w kontekście badań nad metabolizmem nowotworów, apoptozą i sygnalizacją komórkową. Przedłożona praca odpowiada na bieżące wyzwania związane ze skutecznością dostarczania tego terapeutyku. W pracy otrzymano i zbadano dwa typy układów:

- systemy hybrydowe organiczno-nieorganiczne zbudowane z nanocząstek magnetycznych na bazie tlenków żelaza Fe_2O_3 stanowiących rdzeń nanostruktur oraz polimerowe powłoki sfunkcjonalizowane kwasem litocholowym,
- nanocząstki zbudowane z polimerów i kopolimerów liniowych z pochodnymi kwasu litocholowego, oznakowane fluorescencyjnie.

Praca obejmuje badania eksperymentalne nad optymalizacją syntezy docelowych systemów z wykorzystaniem kontrolowanej polimeryzacji rodnikowej, ich charakterystykę fizykochemiczną, w której wykorzystano szereg metod spektroskopowych oraz mikroskopię elektronową, a także analizę i dyskusję otrzymanych wyników. W pracy uwzględniono także wyniki badań biologicznych otrzymanych układów, które wykonano we współpracy z Zakładem Farmakologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Interdyscyplinarny charakter badań umożliwił wstępną ocenę otrzymanych systemów w kontekście ich przydatności w terapiach nowotworów.

Praca przyjmuje klasyczny układ i rozpoczyna się wprowadzeniem, w którym wyjaśniono adresowany problem związany z terapią nowotworów oraz wyzwania z którymi mierzą się stosowane technologie systemów dostarczania leków przeciwnowotworowych. Omówiono po krótce różne podejścia stosowane w opracowaniu takich systemów w kontekście wykorzystanych w pracy materiałów takich jak cząstki magnetyczne i polimery. Część literaturowa pracy zawiera przegląd literatury dotyczący opracowanych systemów dostarczania kwasu litocholowego, który jest bazową substancją bioaktywną wykorzystywaną w pracy. W części tej szczegółowo omówiono znaczenie terapeutyczne kwasu litocholowego jako głównego elementu bioaktywnego wchodzącego w skład opracowywanych systemów, co podkreśla znaczenie wybranego do badań terapeutyku. Następnie opisano różne możliwości wprowadzenia kwasu litocholowego do łańcucha polimerowego, przedyskutowano chemiczną budowę kwasu i wskazano możliwości jego modyfikacji chemicznej, które wykorzystają dostępne grupy funkcyjne w jego strukturze tj. hydroksylową i karboksylową. Omówiono szereg metod polimeryzacji jakie zostały wykorzystane do utworzenia koniugatów kwas litocholowy-polimer uwzględniając ich topologię tj. czy kwas znajduje się w łańcuchu głównym czy bocznym, a także przedstawiono opisane systemy rozgałęzione. Stan wiedzy podsumowano w tabelach, co pozwoliło na klarowną i przejrzystą prezentację struktur polimerów zawierających pochodne kwasów żółciowych, które opisano w literaturze oraz charakterystykę ich właściwości. Zwrócono szczególną uwagę na dużą dyspersje mas molowych i niejednorodność opisanych struktur, co

następnie próbowano ulepszyć stosując kontrolowane metody polimeryzacji. Po omówieniu stanu wiedzy sformułowano cel pracy i wyszczególniono główne cele badawcze. Hipotezy badawcze zostały przedstawione w sposób szczegółowy odnosząc się do poszczególnych elementów pracy, co uzasadniono zróżnicowanym charakterem badanych układów. W ten sam sposób wyszczególniono cele szczegółowe pracy. Część badawcza rozprawy została podzielona na dwie główne części. Część pierwsza dotyczy opracowania metody syntezy nośników polimerowo-nieorganicznych na bazie nanocząstek tlenku żelaza (III), natomiast druga systemów opartych na liniowych polimerach i kopolimerach. Każdy z badanych systemów został opisany w odrębnym podrozdziale, który zawiera opis syntezy oraz charakterystykę otrzymanego systemu i kończy się podsumowaniem. Taki układ części badawczej pracy pozwala w sposób jasny śledzić postęp przeprowadzonych prac badawczych. Opracowanie wyników jest rzetelne i dobrze udokumentowane. Podsumowanie i wnioski końcowe stanowią wyraźnie wyodrębnioną część rozprawy, w której w syntetyczny sposób przedstawiono najważniejsze rezultaty części badawczej. Zawarte w tej części wnioski odnoszą się bezpośrednio do wcześniej sformułowanych celów oraz hipotez badawczych, co świadczy o spójności i logicznym uporządkowaniu całej pracy. Dla każdego z opracowywanych systemów przedstawiono trafne podsumowanie uzyskanych wyników i ich interpretację. Część eksperymentalna obejmuje procedury syntezy, zastosowane metody analityczne oraz techniki charakterystyki fizykochemicznej. Prezentacja zastosowanych metodologii jest przejrzysta i szczegółowa. Na końcu pracy przedstawiono również dorobek naukowy doktoranta, w tym publikacje związane z tematyką rozprawy, a także kompletny spis cytowanej literatury. Bibliografia została opracowana starannie, zawiera aktualne i adekwatne pozycje, a sposób cytowania jest konsekwentny i zgodny z przyjętymi standardami naukowymi.

Podsumowując, forma prezentacji rozprawy jest na bardzo dobrym poziomie. Tekst został opracowany w sposób przejrzysty i uporządkowany, a całość zachowuje logiczną strukturę, która ułatwia odbiór treści. Praca jest spójna merytorycznie i starannie zredagowana. Język pracy jest poprawny i adekwatny do charakteru rozprawy naukowej oraz nie budzi istotnych zastrzeżeń pod względem stylistycznym czy gramatycznym. Zastosowane grafiki, schematy i tabele są czytelne oraz właściwie powiązane z treścią, stanowiąc pomocne uzupełnienie przedstawianych danych. Bibliografia została dobrana w sposób trafny, zawiera zarówno kluczowe pozycje z literatury przedmiotu, jak i aktualne publikacje naukowe związane z tematyką pracy. Cytowania są stosowane konsekwentnie i zgodnie z przyjętymi zasadami.

Pod względem merytorycznym podjęta tematyka badawcza wpisuje się w aktualne kierunki rozwoju interdyscyplinarnych badań z pogranicza chemii, nanotechnologii oraz nauk biomedycznych, oferując potencjalne zastosowania zarówno w zakresie celowanej terapii przeciwnowotworowej, jak i diagnostyki medycznej w ramach tzw. strategii teranostycznych. Tym samym niniejsza praca przyczynia się do rozwoju nowoczesnej chemii materiałów funkcjonalnych oraz poszukiwań innowacyjnych podejść terapeutycznych. W ramach realizacji pracy zastosowano metodę kontrolowanej polimeryzacji rodnikowej RAFT, którą wykorzystano

do syntezy dwóch typów materiałów: (i) hybryd polimerowo-nieorganicznych, w których magnetyczne nanocząstki tlenku żelaza zostały pokryte powłoką homopolimeru zawierającego pochodne kwasu litocholowego oraz (ii) liniowych polimerów i kopolimerów zawierających kwas litocholowy wbudowany w łańcuch główny lub boczny. Do syntez zastosowano m.in. N-izopropyloakryloamid (NIPAM), którego polimeryzacja prowadzi do makrocząsteczek o właściwościach termoczułych, oraz monomery akrylowe zawierające grupy funkcyjne tj. hydroksylową - akrylan 2-hydroksyetylu (HEA) i karboksylową - kwas akrylowy (AA), umożliwiające modyfikacje oraz kowalencyjne przyłączenie kwasu litocholowego. Zastosowana strategia syntetyczna okazała się trafna, pozwalając na uzyskanie polimerów o wąskim rozkładzie mas molowych, co zostało potwierdzone analizą chromatograficzną (SEC). W przypadku materiałów hybrydowych oceniono efektywność procesu polimeryzacji na podstawie reakcji modelowych. Wykorzystanie kontrolowanej polimeryzacji umożliwiło także otrzymanie makrocząsteczek z dobrze zdefiniowanymi grupami końcowymi, które następnie sfunkcjonalizowano znacznikiem fluorescencyjnym - pirenem. Do struktury polimerów wprowadzono także doksorubicynę znaną z właściwości przeciwnowotworowych wykorzystując wolną grupę karboksylową związanego kwasu litocholowego. Charakteryzacja nanocząstek tlenku żelaza (III) pokrytych warstwą polimerową stanowiła istotne wyzwanie ze względu na ograniczenia technik analitycznych stosowanych standardowo do charakterystyki związków w roztworze. Dlatego przyjęto zintegrowane podejście badawcze, obejmujące spektroskopię w podczerwieni (FTIR), analizę termograwimetryczną (TGA), dynamiczne rozpraszanie światła (DLS) oraz mikroskopię transmisyjną (TEM). Pozwoliło to na kompleksową ocenę struktury oraz właściwości fizykochemicznych uzyskanych materiałów. W przypadku polimerów liniowych zastosowano dodatkowo spektroskopię NMR, UV-Vis i fluorescencyjną oraz chromatografię żelową. Otrzymane polimery termoczułe na bazie NIPAM wykorzystano do formowania nanocząstek, które następnie scharakteryzowano za pomocą DLS oraz mikroskopii TEM. Oprócz kwasu litocholowego układy te wzbogacono o inne związki bioaktywne, takie jak doksorubicyna i kwas foliowy, co pozwoliło na rozszerzenie potencjalnych zastosowań terapeutycznych i diagnostycznych zwiększając funkcjonalność nośników w kierunku systemów teranostycznych. Metodologia charakterystyki otrzymanych systemów została właściwie dobrana i pozwoliła potwierdzić otrzymanie docelowych polimerów oraz nanocząstek. W wyniku prowadzonych badań otrzymano 14 hybryd polimerowo-nieorganicznych oraz serię liniowych polimerów i kopolimerów o zróżnicowanej masie molowej i funkcjonalności. Analiza uzyskanych bibliotek pozwoliła na weryfikację postawionych hipotez badawczych oraz identyfikację zależności typu struktura–funkcja.

Pomimo szeroko zakrojonych badań eksperymentalnych, w rozprawie widoczny jest pewien niedostatek w zakresie analizy i interpretacji uzyskanych wyników. Przede wszystkim brakuje pogłębionej dyskusji właściwości otrzymanych układów w odniesieniu do danych literaturowych oraz krytycznej oceny rezultatów na tle istniejących rozwiązań w danej dziedzinie. Autor wprawdzie sygnalizuje trudności w dokonywaniu bezpośrednich porównań, wynikające m.in. z

braku pełnych informacji dotyczących mas molowych stosowanych polimerów, ich dyspersji czy różnic w budowie badanych systemów. Jednak nie podjęto próby odniesienia uzyskanych danych do ogólnych trendów czy znanych już zależności struktura–funkcja. Tego typu komentarze mogłyby nadać większą wartość interpretacyjną przedstawionym wynikom i podkreślić ich znaczenie w kontekście rozwoju nowoczesnych systemów terapeutycznych. Korzystnym byłoby, jakby taka analiza została przeprowadzona i przedyskutowana w trakcie obrony pracy.
Dodatkowo, taka analiza pozwoliłaby bardziej precyzyjnie zdefiniować cel prowadzonych badań pod kątem struktura-pożądana funkcja. Brakuje nadrzędnego, spójnego celu badawczego, który jasno określałby, na jakie konkretne właściwości fizykochemiczne nanocząstek autor zamierza ukierunkować otrzymywane materiały oraz szerszego uzasadnienia przyjętej strategii badawczej. Byłoby interesujące poznać jaka była motywacją do zaprojektowania układów w taki a nie inny sposób? W efekcie zakres badań wydaje się bardzo szeroki, szczególnie w kontekście ogromnej gamy możliwości modyfikacji struktury polimerów. Dlatego cennym uzupełnieniem pracy byłaby próba powiązania konkretnych cech fizykochemicznych badanych układów tj. rozmiar nanocząstek, zawartość kwasu litocholowego czy doksorubicyny, a także topologia polimerów z ich aktywnością biologiczną, uwalnianiem leku, stabilnością, czy rozmiarem nanocząstek determinującym możliwość przejścia przez błony komórkowe i nerki. Taka korelacja pozwoliłaby nie tylko lepiej zrozumieć mechanizmy działania badanych materiałów, ale także zwiększyłaby wartość aplikacyjną przedstawionych wyników oraz wskazała kierunek dla przyszłego rozwoju systemów dostarczania kwasu litocholowego. Ponadto, w pracy nie opisano podstaw zasady działania wykorzystywanych technik badawczych dlatego można się spodziewać, że takie pytania padną w trakcie dyskusji nad rozprawa doktorską.

Dorobek naukowy doktoranta świadczy o jego aktywnym zaangażowaniu w działalność badawczą oraz o gotowości do samodzielnego prowadzenia prac naukowych. Doktorant jest współautorem sześciu publikacji naukowych opublikowanych w renomowanych, recenzowanych czasopismach z listy Journal Citation Reports, wyróżniających się wysokim współczynnikiem wpływu. Dodatkowo kolejna publikacja została złożona do recenzji, co świadczy o ciągłości prowadzonych badań. W dwóch ze wskazanych prac doktorant występuje jako pierwszy autor, co stanowi potwierdzenie jego istotnego wkładu w planowanie, realizację i opracowanie wyników badań. Taki udział dokumentuje nie tylko poziom samodzielności, ale także zdolności analityczne i redakcyjne kandydata. Warto również podkreślić, że realizowane badania miały interdyscyplinarny charakter, obejmując zagadnienia z pogranicza chemii, biologii oraz nauk o materiałach. Doktorant wykazał się umiejętnością skutecznej współpracy z różnymi zespołami badawczymi, co dobrze rokuje na jego przyszłość zawodową, zwłaszcza w kontekście kariery akademickiej. Doktorant aktywnie uczestniczył w konferencjach naukowych, zarówno krajowych, jak i międzynarodowych, prezentując wyniki swoich badań w formie komunikatów ustnych oraz posterów. Był również współwykonawcą dwóch projektów badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki (NCN), co świadczy o jego doświadczeniu w realizacji grantów naukowych. W trakcie pracy badawczej doktorant ukończył szereg szkoleń

specjalistycznych, w tym z zakresu obsługi aparatury badawczej, co umożliwiło mu samodzielne prowadzenie eksperymentów oraz poszerzyło jego kompetencje praktyczne. Dodatkowe kursy z zakresu kompetencji miękkich miały pozytywny wpływ na rozwój osobisty i zawodowy kandydata. Warto również wspomnieć o aktywności organizacyjnej doktoranta na rzecz społeczności akademickiej i jego zaangażowanie w działalność uczelnianych organizacji naukowych, w tym członkostwo w Polskim Towarzystwie Chemicznym (PTChem) oraz udział w przygotowaniu wydarzeń naukowych, takich jak konferencje, potwierdzają szeroki zakres jego zainteresowań i zaangażowania w życie naukowe.

Ocena końcowa

Na podstawie przedstawionej analizy, uważam, że rozprawa doktorska mgr Dawida Szymczuka pt. "Polimerowe nośniki leków zawierające pochodne kwasu litocholowego" spełnia wymagania określone w art. 187 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2023 poz. 742 z późn. zm.) oraz w rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 lutego 2019 r., i wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne o dopuszczenie doktoranta do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora i publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

Z wyrazami szacunku,
dr hab. inż. Róża Szweda, Prof. UAM