



Dr hab. Piotr Młynarz, prof. PWr  
Zakład Chemii Bioorganicznej  
Wydział Chemiczny  
Politechnika Wroclawska  
Wybrzeże Wyspiańskiego 27  
50-370 Wrocław

Wrocław, 26.11.2015 r.

## Recenzja

### **rozprawy doktorskiej mgr Dawida Lewandowskiego zatytułowanej „Kontrolowane dostarczanie substancji czynnych z wykorzystaniem modyfikowanych krzemionek”**

Praca doktorska mgr Dawida Lewandowskiego została wykonana w Zakładzie Chemii Supramolekularnej Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod kierunkiem prof. dr hab. Grzegorza Schroedera. W Zakładzie tym od wielu lat prowadzone są z sukcesem zaawansowane innowacyjne badania w zakresie chemii supramolekularnej, w których prof. Schroeder jest niewątpliwym liderem w kraju. Z tego względu poruszana w dysertacji tematyka doskonale wpisuje się w najnowsze trendy szeroko pojętej chemii supramolekularnej, materiałowej oraz nanotechnologii.

W skład przedstawionej do recenzji pracy wchodzi następujące rozdziały: wstęp, życiorys naukowy, lista publikacji, spis konferencji naukowych, rozdział o kontrolowanym dostarczaniu substancji biologicznie czynnych z wykorzystaniem krzemionek, podsumowanie, streszczenie rozprawy doktorskiej, streszczenie rozprawy doktorskiej w języku angielskim, razem 26 stron maszynopisu oraz pięć publikacji i dwa rozdziały w monografiach, które stanowią główną część dysertacji.

Układ pracy doktorskiej jest to dość nietypowy, szczególnie biorąc pod uwagę porządek następujących po sobie rozdziałów, jednak na taki sposób napisania pracy doktorskiej mogą pozwolić sobie jedynie ci doktoranci, których wyniki są w pełni opublikowane. W takim przypadku recenzent z powodzeniem może ocenić dorobek kandydata do stopnia doktora na podstawie publikacji naukowych, w których podobnie jak w tradycyjny sposób napisanej rozprawie doktorskiej znajduje się wstęp, materiały i metody, badania własne oraz dyskusja wyników.

We wstępie Autor pracy wprowadza czytelnika w skondensowany opis swoich przedsięwzięć naukowych oraz poszczególne cele, w wyniku których powinny zostać

otrzymane pochodne związków biologiczne czynnych zawierających ugrupowania zdolne do reakcji z powierzchnią krzemionki, opracowane metody otrzymywania krzemionek mezoporowatych modyfikowanych związkami biologicznie czynnymi oraz powinna zostać ustalona aktywność biologiczna opracowanych układów hybrydowych do celów diagnostycznych i terapeutycznych. Wszystkie wytyczone cele stanowią ciąg przyczynowo-skutkowy składający się na realizację poszczególnych etapów tematu pracy doktorskiej.

Wprowadzenie dotyczące tematyki znajduje się w dwóch rozdziałach znajdujących się w cyklicznie wydawanych monografiach o charakterze przeglądowym, które w dysertacji o tradycyjnym układzie doskonale zastępują do niej wstęp. Pierwsza z nich stanowi rozdział zatytułowany „*Mesoporous silicas as carriers in controlled release system in biomedicine and cosmetic industry*” w monografii „*From molecules to functional architecture. Supramolecular interactions*”. Jest to obszerny artykuł przeglądowy poruszający od podstaw zagadnienia związane z mezoporowatymi krzemionkami począwszy od metod ich syntez, poprzez ich właściwości, funkcjonalizacje do zastosowań w biomedycynie i przemyśle kosmetycznym omawiając parametry wpływające na uwalnianie substancji z krzemionek. Jest to bardzo dobrze napisana publikacja, która płynnie wprowadza czytelnika w tematykę dysertacji doktorskiej. Druga w kolejności praca, występująca jako rozdział 6, zatytułowana „*Application of mesoporous silica nanoparticles for drug delivery*.” w monografii „*New trends in supramolecular Chemistry*” początkowo porusza podobne kwestie, jak w pierwszym artykule przeglądowym, żeby następnie wprowadzić czytelnika w zagadnienia związane z biokompatybilnością i toksykologią, a także zawiera porządny opis krzemionkowych systemów dostarczania leków.

W dalszej części rozprawy znajdują się kolejno wszystkie publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej, które stanowią solidny wkład badań naukowych mgr. Dawida Lewandowskiego w rozwój nanotechnologii oraz chemii materiałowej. Publikacje w pracy doktorskiej są ułożone chronologicznie pod względem rozwijania przez doktoranta metodologii oraz stopnia zaawansowania badań naukowych.

Pierwsza w kolejności umieszczona jest praca zatytułowana: „*Adsorption studies and release of selected dyes from functionalized mesoporous MCM-41 silica*”. Przedstawione są w niej badania wstępne mezoporowatej krzemionki MCM-41 sfunkcjonalizowanej grupami dodatnio naładowanymi przy pomocy związku 1-metylo-3-(3-(trimetoksylilo)propylo)-1H-imidazol-3-iowy, ujemnie naładowanymi z wykorzystaniem soli sodowej kwasu N-(trimetoksylilopropylo)etylenodiaminotrioctowego oraz obojętnych cząsteczek związku N-(3-trietoksylilopropylo) glukoamidu. Powyższe trzy elektrostatycznie różne modyfikacje powierzchni pozwoliły mgr Dawidowi Lewandowskiemu na zbadanie reakcji adsorpcji/desorpcji z wykorzystaniem modelowych związków składających się z barwników do barwienia żywności (soli disodowej kwasu 2-(fenyloazo)chromotropowego - Chromotrope 2R, żółcieni pomarańczowej, błękitu alcjanowego). W pracy zostały przeprowadzone badania obsadzenia powierzchni, z których wynika, że najlepsze rezultaty zostały otrzymane przy użyciu związku zawierającego ugrupowanie glukoamidowe, nieoczekiwanie dla związku będącego pochodną EDTA obsadzenie powierzchni nie zostało określone. Z przeprowadzonych doświadczeń wynika, że żółcień pomarańczowa jest efektywniej uwalniana z dodatnio naładowanej powierzchni modyfikowanej pochodną metyloimidazoliową w buforach przy dwóch wartościach pH (4.6 i 6.8) w porównaniu z krzemionką modyfikowaną grupami glukoamidowymi. Barwnik Chromotrope 2R posiada

odwrotną charakterystykę uwalniania ze względu na pH środowiska, przy największej desorpcji dla obojętnej powierzchni przy pH 4.5. Błękit alcjanowy był bardzo mocno zaadsorbowany, a jego desorpcja była znikoma, fakt ten został wytłumaczony przy pomocy obliczeń teroretycznych tego układu molekularnego poprzez steryczne dopasowanie cząsteczek barwnika w porach nanostruktur. Przeprowadzane prace są bardzo interesujące i cenne z punktu widzenia wpływu ładunku powierzchniowego oraz właściwości elektrostatycznych i strukturalnych cząsteczek związanych do modyfikowanych nośników krzemionkowych.

W następnej publikacji zostały opracowane krzemionki do wiązania nadtlenu wodoru. W tym celu powierzchnie krzemionek mezoporowatych MCM-41 oraz MSU-H zostały zmodyfikowane za pomocą 1-(3-(trietoksylopropylo)mocznika oraz N-(3-(trietoksylopropylo)glukonamidu. Zgodnie z oczekiwaniem i danymi literaturowymi nanostruktura zawierająca pochodną mocznikową znacznie lepiej wiązała nadtlenek wodoru w porównaniu z nanostrukturą funkcjonalizowaną glukoamidowymi grupami, w szczególności dla jego stężenia na poziomie 25% (dla MSU-H). Prawdopodobnie powyżej tej wartości organiczna warstwa powierzchniowa ulegała utlenieniu. Pochodna glukonamidu również wiązała cząsteczki gościa, lecz na poziomie stężenia 5 % wykazując w ten sposób większe właściwości magazynujące nadtlenek wodoru niż niemodyfikowana krzemionka.

Otrzymane wyniki były mniej znaczące od przedstawionych w literaturze danych dotyczących właściwości magazynujących poliwinylpirolidonu (PVP), lecz zdaniem Recenzenta dostarczają wielu cennych wskazówek, pożytecznych przy konstruowaniu następnych systemów magazynujących i przenoszących nadtlenek wodoru.

Następne rezultaty pracy doktoranta zostały opisane w czasopiśmie *Journal of Physics and Chemistry of Solids* i zdaniem recenzenta wykazują naukową ewolucję magistra Lewandowskiego. W niniejszej pracy został otrzymany układ krzemionki mezoporowatej SBA-15 sfunkcjonalizowanej ryboflawiną przy wykorzystaniu łącznika izocyjanianu propylu. Jest to ciekawy nanosystem biorąc pod uwagę funkcję biologiczną witaminy B<sub>2</sub>, jej właściwości fluorescencyjne oraz zdolność wiązania jonów metali. Doktorantowi udało się obsadzić powierzchnię krzemionki w skali 4-5%, jednakże ta ilość wystarczyła, aby zaobserwować zjawisko fluorescencji, która pełniła rolę parametru zmiany układu w odpowiedzi na występowanie w roztworze kationów nieorganicznych i organicznych. Ich obecność zarówno wzmacniała jak i osłabiała emisję fluorescencji wraz z przesunięciem maksimum pasma emisji modyfikowanej krzemionki w stosunku do wodnego roztworu ryboflawiny. Rezultatem tych badań było otrzymanie sensora dla benzokainy (związek o działaniu anestetycznym) oraz jonów metali Ag<sup>+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Al<sup>3+</sup>.

Dalszy rozwój prac nad funkcjonalizowanymi krzemionkami zaowocował publikacją w bardzo dobrym czasopiśmie typu open access *PloS One*. Jest to publikacja zatytułowana „*Immobilization of Zidovudine Derivatives on the SBA-15 Mesoporous Silica and Evaluation of Their Cytotoxic Activity*” w której zostało opisane działanie hybrydowych nanostruktur na działanie dwóch linii komórek nowotworowych HeLa and KB. Do nanoosińnika został związany chemioterpeyk o działaniu antywirusowym antynowotworowym, który został przyłączony do krzemionki za pomocą specjalnie do tego celu zsyntezowanych dwóch rodzajów łączników. Pierwszy z nich został otrzymany z wykorzystaniem izocyjanianu 3-(trietoksylopropylo)propylu oraz alkoholu propargilowego (oxo), natomiast drugi w reakcji tego samego izocyjanianu z propargiloaminą (aza) do obu łączników została przyłączona azidotymidyna (zydowudyna) z utworzeniem ugrupowania triazolowego. Dodatkowo do krzemionki został związany kwas foliowy, który pełni rolę miejsca kotwiczącego używanego

w nanostrukturach stosowanych do terapii celowanych. Opracowany konstrukt posiadał dobre właściwości cytotoksyczne względem badanych linii komórkowych porównywalne z niepołączoną zyduwodyną, pomimo tego, że dzięki osadzeniu leku na nanostrukturze jego stężenie było znacznie mniejsze. W ten sposób został skonstruowany nanonośnik krzemionkowy, który może przy dodatkowej optymalizacji doprowadzić do otrzymania potencjalnego terapeutycznego o jeszcze lepszych właściwościach cytotoksycznych dla komórek nowotworowych. Kontynuacją tego trendu badań są konstrukty zawierające kwas galusowy, który został przyłączony do mezoporowatej krzemionki za pomocą trzech różnych cząsteczek łącznikowych 3-(trimetoksylilo)propyloaminy, N-(2-aminoetylo)-3-(trimetoksylilo)-propyloaminy oraz polietylenoiminy przyłączonej do powierzchni nanostruktury za pomocą (3-chloropropyl)trimetoksylilanu. Krzemionka modyfikowana na „krótkim” łączniku nie wykazała żadnych właściwości cytotoksycznych, podczas gdy dwa pozostałe konstrukty wykazały bardzo dobre właściwości cytotoksyczne, chociaż rola kwasu galusowego zdaniem doktoranta nie była dominująca z tego względu, że obecność grup aminowych oraz nieobsadzonych grup sililowych mogła odpowiadać za wysoką cytotoksyczność tych nonocząstek. Zdaniem recenzenta w celu rozstrzygnięcia tego problemu cząsteczki o znaczeniu referencyjnym bez kwasu galusowego powinny być również przebadane.

Przedstawione jako dysertacja publikacje dowiodły, że doktorant w trakcie realizacji rozprawy doktorskiej wykazał się bardzo dobrym opanowaniem warsztatu syntetycznego, jak również metod analitycznych, których znajomość jest konieczna do prawidłowego zanalizowania otrzymanych struktur, jak i ich oddziaływań z modelowymi związkami oraz komórkami nowotworowymi.

Reasumując, wszystkie cele rozprawy doktorskiej zostały zrealizowane. Jednak do najważniejszych osiągnięć pracy doktorskiej zaliczam próbę konstrukcji nanomateriału do magazynowania i transportu nadtlenu wodoru, syntezę układu sensorycznego dla wyselekcjonowanych kationów organicznych i nieorganicznych oraz budowę konstruktów wielofunkcyjnych o działaniu cytostatycznym. Uzyskane w trakcie realizacji doktoratu wyniki stanowią wartościowe źródło informacji do prowadzenia dalszych badań w tym zakresie.

W tym miejscu muszę wspomnieć, że Autor pracy jest dodatkowo współautorem jednej publikacji z listy filadelfijskiej oraz dwóch rozdziałów w monografiach, które należą również zaliczyć do jego całkowitego dorobku naukowego wraz z czterema wystąpieniami na konferencjach międzynarodowych oraz pięcioma na krajowych.

Na samym końcu z obowiązku recenzenta muszę wspomnieć, że pomimo tego, iż praca jest napisana w nowym kanonie zarówno formuły jak i układu przedstawiania dysertacji doktorskich, to doktorant nie ustrzegł się błędów językowych, pomyłek edytorskich oraz skrótów myślowych, których nie mam w zwyczaju wypisywać w recenzji, z tego względu, że nie wpływają na wartość naukową przedstawionych wyników uzyskanych w pracy doktorskiej.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pana mgr Dawida Lewandowskiego spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 Nr 65 poz.595 z późn. zm.). Wnioskuje do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

