

UNIwersYTET w BIAŁYMSTOKU

Wydział Chemii



dr hab. Agnieszka Z. Wilczewska, prof. UwB
15-245 Białystok, ul. Ciołkowskiego 1K, ☎ (85) 738 80 37, fax: 738 80 99, e-mail: agawilcz@uwb.edu.pl

Białystok, 26.07.2021 r

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Weroniki Górki-Kumik
„Hybrydowe układy polimerowo-nieorganiczne zawierające nanocząstki magnetyczne do zastosowań biomedycznych”.

Praca doktorska Pani mgr Weroniki Górki-Kumik wykonana została na Wydziale Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Szczepana Zapotocznego oraz promotora pomocniczego dr. Michała Suwarzyńskiego.

Dorobek badawczy Pani Górki-Kumik w zakresie przedstawionej pracy stanowią cztery artykuły naukowe, opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym i dobrym współczynniku oddziaływania (IF 3,43-5,34). W dwóch z nich jest ona pierwszym autorem. Dodatkowo Doktorantka brała udział w realizacji trzech projektów naukowych. Wyniki swoich badań prezentowała w postaci posterów (10) i wystąpień ustnych (2) na konferencjach o zasięgu ogólnopolskim (3) i międzynarodowym (6). Była ona wykonawcą w trzech projektach naukowych, w tym projektu TEAM promotora doktoratu, w ramach realizacji przedłożonej do recenzji rozprawy.

Dostarczona do recenzji praca obejmuje 158 stron jednolitego manuskryptu. Zawartość została podzielona w sposób typowy dla prac z zakresu chemii na „Wprowadzenie i cel pracy” (1 strona), „Część literaturową” (52 strony), „Część eksperymentalną” (60 stron) oraz „Podsumowanie” (2 strony). W skład rozprawy wchodzi również: „Streszczenie w języku polskim” i „Streszczenie w języku angielskim” (4 strony), „Wykaz oznaczeń i skrótów” (2 strony), „Bibliografia” (14 stron, 219 pozycji). „Spis rysunków i tabel” (8 stron). Pracę kończy wykaz dorobku naukowego Doktorantki (3 strony).

Rozprawa obejmuje problematykę badawczą dotyczącą hybryd organiczno-nieorganicznych do zastosowań biomedycznych. Część nieorganiczną stanowią superparamagnetyczne cząstki składające się z tlenków żelaza domieszkowanych jonami cynku. Częścią organiczną zaś są powłoki zbudowane z kationowych pochodnych chitozanu lub kationowe polimerowe szczotki syntezowane na drodze polimeryzacji ATRP z powierzchni modyfikowanej krzemionki. Podstawą do zaprojektowania omawianych w pracy syntez i badań fizykochemicznych hybryd były zastosowania praktyczne.

Ag. Wilcz.

W pierwszym przypadku do wykorzystania w hipertermii (jedna z metod leczenia nowotworów), w drugim do uzyskania wrażliwych na bodźce podłoży do hodowli komórek.

W krótkim wprowadzeniu Autorka przedstawiła pojęcie nanotechnologii i obszar jej zastosowań. Szczególną uwagę Doktorantka poświęciła nanocząstkom magnetycznym i ich wykorzystaniu w terapii przeciwnowotworowej, jak i analityce medycznej oraz podłożom do hodowli komórek. Celem pracy było otrzymanie i scharakteryzowanie hybrydowych polimerowo-nieorganicznych układów bazujących na nanocząstkach magnetycznych". Cel jest bardzo ogólny, brakuje przedstawienia hipotez, tez badawczych. Ułatwiają one precyzowanie celu badawczego i zakresu rozprawy oraz pozycjonują cel w kontekście znanych doniesień literaturowych i nierozwiązanych problemów badawczych.

Część literaturowa została podzielona na trzy podrozdziały. W pierwszym Doktorantka opisuje zjawisko sperparamagnetyzmu, metody otrzymywania nanocząstek posiadających rdzenie zbudowane z tlenków żelaza oraz ich zastosowania, wyróżniając hipertermię magnetyczną. Druga część dotyczy metod tworzenia cienkich warstw polimerowych na powierzchniach różnych materiałów i ich wykorzystania. Autorka przedstawiła metodę „warstwa po warstwie”: wykorzystywaną do formowania filmów oraz omówiła sposoby tworzenia szczotek polimerowych, zwracając uwagę na wrażliwe na bodźce podłoża polimerowe. W podrozdziale trzecim przedstawione zostały hybrydy organiczno-nieorganiczne w formie izolowanych układów nanocząstek oraz układów, w których nanocząstki są integralną częścią warstw polimerowych. Analiza aktualnego stanu dostępnej literatury i wiedzy dotyczącej przedmiotu rozprawy została przedstawiona w sposób poprawny i stanowi cenne wprowadzenie do dalszej jej części.

Badania własne Doktorantka podzieliła na dwie części. We wstępach do obu części zostały przedstawione materiały oraz procedury eksperymentalne dotyczące zarówno wykonanych syntez jak i analiz fizykochemicznych. Główne i najistotniejsze z punktu widzenia recenzenta są podrozdziały, w których omówione zostały wyniki badań oraz wnioski, stanowiące ich podsumowanie. W pierwszej części badań Doktorantka przedstawiła otrzymywanie nanocząstek magnetycznych metodą strącaniową z odpowiednich chlorków żelaza(II) i (III) domieszkowanych w różnych stosunkach jonami cynku. Syntezy były prowadzone w obecności kationowej pochodnej chitozanu, która stanowiła fazę stabilizującą tworzące się nanocząstki i nie pozwalała na tworzenie dużych aglomeratów. Uzyskane hybrydy Doktorantka podała wnikliwym badaniom fizykochemicznym. Określiła zawartość żelaza w próbkach metodą spektrofotometryczną oraz skład pierwiastkowy próbek za pomocą spektroskopii fotoelektronów (XPS). Wykonała pomiary promieni hydrodynamicznych cząstek metodą dynamicznego rozpraszania światła, a rozmiary rdzeni magnetycznych wyznaczyła metodą transmisyjnej mikroskopii elektronowej i małokątowego rozpraszania promieniowania

rentgenowskiego. Do badań strukturalnych wykorzystwała spektroskopię mössbauerowską oraz wysokorozdzielczą spektroskopię promieni X w pobliżu progu absorpcji. Wyznaczając parametry magnetyczne układów, udowodniła superparamagnetyczny charakter cząstek tlenków żelaza domieszkowanych jonami cynku. Na wybranych układach przeprowadzono również testy cytotoksyczności i hipertermii magnetycznej oraz badania *in vitro* na liniach komórek nowotworowych nerwiaka zarodkowego. Szkoda, że badaniom hipertermii nie poddano również układów o innej zawartości cynku, dałoby to możliwość porównania właściwości w odniesieniu do stopnia domieszkowania. Odrzucenie tych układów na podstawie stabilności w roztworach wodnych uważam, za trochę przedwczesne. Jednakże pragnę podkreślić, że domieszkowanie jonami cynku wpłynęło pozytywnie na poprawę właściwości superparamagnetycznych, dało możliwość zastosowania niższych stężeń oraz zwiększyło efekt magnetycznego podgrzewania. Zważywszy, że związki kationowe charakteryzują się zazwyczaj dużą toksycznością w pracy zabrakło badań na komórkach prawidłowych (np. fibroblastach, monocytach, krwinkach czerwonych), które pozwoliłyby ocenić bezpieczeństwo stosowania tego typu układów w organizmach żywych. Zwłaszcza, że związki cynku również są cytotoksyczne.

Druga część badań dotyczy syntezy układów hybrydowych organiczno-nieorganicznych osadzonych na powierzchni krzemionki. Nanocząstki magnetyczne zostały włączone do układu poprzez zatrzymanie ich pomiędzy strukturami liniowych szczotek polimerowych w trakcie polimeryzacji. Warstwy polimerowe zostały otrzymane przez Doktorantkę na drodze polimeryzacji z odpowiednio modyfikowanej powierzchni krzemionki metodą polimeryzacji z przeniesieniem atomu, w obecności lub bez nanocząstek superparamagnetycznych. Do polimeryzacji wybrała kationową pochodną akrylamidu. Uzyskane układy poddała badaniom fizykochemicznym. Do obrazowania powierzchni wykorzystwała mikroskop sił atomowych, a do badań właściwości magnetycznych mikroskop sił magnetycznych. Obecność nanocząstek w strukturze polimeru udowodniła za pomocą badań metodami spektrometrii mas jonów wtórnych (SIMS) i spektroskopii fotoelektronów (XPS). Doktorantka stwierdziła, że wprowadzenie cząstek magnetycznych do układu wpływa na moduł sprężystości warstwy powierzchniowej. Nanocząstki stanowiły ok. 1% całkowitej masy polimeru. Powierzchnię szczotek pokryła dodatkową warstwą poli-L-lizyny. Uzyskane materiały hybrydowe zostały następnie wykorzystane jako wrażliwe na bodźce podłoża do hodowli komórkowych. Zaobserwowano znaczące różnice w przypadku układów zawierających nanocząstki w stosunku do tych które ich nie posiadały. Zewnętrzne pole magnetyczne okazało się być kluczowym czynnikiem pozwalającym na oddzielenie hodowanych komórek nowotworowych od polimerowego podłoża bez ich uszkodzenia.

Badania własne kończy krótkie podsumowanie, w którym Autorka przedstawia najważniejsze osiągnięcia pracy.

Część syntetyczna oraz wyniki badań przedstawionych w pracy nie budzą zastrzeżeń. Na podkreślenie zasługuje zakres rzetelnie prowadzonych badań fizykochemicznych oraz staranne opracowanie otrzymanych wyników. Charakterystyka i metodyka badań zostały przedstawione w sposób odpowiedni.

Do tekstu rozprawy zakradła się pewna, niewielka (co warto podkreślić), liczba literówek, nieścisłości i błędów, których kilka z obowiązku recenzenta wymieniam.

Do skrótu PEG przypisane zostały aż trzy różne wyjaśnienia. Dwa prawidłowe „poli(glikol etylenowy)” i „poli(tlenek etylenu)” (w tym przypadku lepiej stosować skrót PEO) i nieprawidłowe „tlenek polietylenu”. Zalecane jest stosowanie jednakowej nomenklatury w całej pracy chyba, że nazwa wynika ze sposobu otrzymywania polimeru i chcemy to wyróżnić. Nieprawidłowe są również nazwy: „kwas poliakrylowy”, „kwas polimetakrylowy”. Współczynnik dyspersyjności, od 2009 roku zgodnie z zalecaniami IUPAC”, również po angielsku to Dispersity Index. Wymieniam niektóre skróty myślowe i niefortunne sformułowania: str. 17 „sterownie barierą krew-mózg za pomocą obrazu”; str. 37 „który ma jeden bromowoderek na jednostkę lizyny”, str. 72 „SPION domieszkowanych cynkiem i pokryte CCh(+); str. 105 „wkroplono 2 krople inicjatora”; str. 105, 107 i inne „płytkę oczyszczono silnym strumieniem pęcherzyków argonu”; str. 108 „monochromatycznych promieni rentgenowskich”.

Brak komentarza do rysunku 47e. Pomyłka w interpretacji rysunku albo w danych zamieszczonych na rysunku 49 lub opisie pod nim w odniesieniu do objaśnienia na str. 116.

W przypadku stosowania bardzo długiego myślnika, czyli „pauzy” do oddzielenia skrótu lub symbolu od jego wyjaśnienia powinno stosować się kreskę – otoczoną spacjami (uwaga do całej pracy).

Po przeczytaniu manuskryptu nurtują mnie następujące zagadnienia:

- Proszę o wyjaśnienie co skłoniło Doktorantkę do wyboru kationowej pochodnej chitozanu do stabilizacji nanocząstek. Jaka była wielkość cząstek chitozanowych użytych do syntezy hybryd, wyznaczona z DLS? W manuskrypcie Doktorantka sugeruje, że nanocząstki tlenków żelaza domieszkowane jonami cynku pokryte są kilku nanometrową powłoką polisacharydu (str. 87), niestety nie wskazują na to pomiary DLS (str. 84 i 86).

- Podobne pytanie dotyczy wyboru kationowej pochodnej amidu kwasu akrylowego do budowania szczepek polimerowych na powierzchni krzemionki. Czy znane są badania wrażliwości na temperaturę i pH syntezowych przez Doktorantkę polimerów? Uważam, że mogą one stanowić bardzo ciekawy aspekt prowadzonych badań tj. wrażliwość na wiele bodźców i sterowanie nimi w zależności od zastosowań.

- Czy dodatnie ładunki tworzących się szczotek polimerowych mogły mieć wpływ na ilość i rozmieszczenie nanocząstek w strukturze polimeru? Co można by zmienić żeby osiągnąć większe niż 1% załadowanie polimeru nanocząstkami magnetycznymi? W jakim pH prowadzona była synteza szczotek polimerowych? Badania stabilności były prowadzone w roztworach o pH = 9.

Rozprawa zawiera liczne ilustracje w postaci rysunków, wykresów oraz zdjęć i tabel. Cytowana literatura obejmuje krajowe i zagraniczne publikacje naukowe oraz pozycje monograficzne. Wartym zauważenia jest, że cytowane są pozycje z ostatnich 10 lat. Stanowią one prawie 80%, a z ostatnich 5 lat 37% wszystkich referencji (219 pozycji).

Doktorantka prawidłowo ustaliła plan i metodykę prowadzonych badań. Przedmiot rozprawy dotyczy zagadnień aktualnych i wciąż rozwijanych zarówno w dziedzinie chemii polimerów jak i nanomateriałów do zastosowań medycznych. Wartość merytoryczną rozprawy oceniam wysoko. Wyniki uzyskane przez Panią mgr Górki-Kumik są oryginalne i mają istotne znaczenie poznawcze. Godna uznania jest ilość zaproponowanych i zastosowanych badań fizykochemicznych pozwalająca na lepsze poznanie cech uzyskanych materiałów. Doktoranta wykazała się umiejętnościami samodzielnego prowadzenia pracy naukowej i wyboru odpowiednich do przedmiotu badań technik analitycznych. Autorka wykazała się znajomością literatury przedmiotu, a zdobytą wiedzę wykorzystała w odpowiedni sposób do interpretacji i syntezy wyników badań.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr Górki-Kumik ma charakter oryginalnej pracy naukowej i zawiera wymagane w rozprawach doktorskich elementy nowości naukowej. Zostało to dodatkowo udokumentowane artykułami opublikowanymi w czasopismach o zasięgu międzynarodowym znajdującymi się na liście filadelfijskiej. Stanowi ona ważny wkład w rozwój chemii polimerów i nanomateriałów. Zamieszczone uwagi mają charakter formalny oraz wynikają z zainteresowania wynikami pracy. Nie mają one wpływu na bardzo dobrą ocenę merytoryczną badań przedstawionych w ramach rozprawy.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca mgr Weroniki Górki-Kumik pt. „Hybrydowe układy polimerowo-nieorganiczne zawierające nanocząstki magnetyczne do zastosowań biomedycznych” spełnia wszystkie wymagania „Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki” z dnia 14 marca 2003 r i zwracam się do wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Fizyczne o dopuszczenie Pani mgr Górki-Kumik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. Agnieszka Z. Wilczewska, prof. UwB