



**Politechnika Łódzka**

Instytut Technologii Polimerów i Barwników

Łódź, 25 czerwca 2024

prof. dr hab. inż. Joanna Pietrasik  
Politechnika Łódzka  
Wydział Chemiczny  
Instytut Technologii Polimerów i Barwników

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Niesyto  
pt. Zaprojektowanie szczepionych poli(cieczy jonowych) jako potencjalnych  
układów dostarczania leków w terapii przeciwbakteryjnej**

Promotor: prof. dr hab. inż. Dorota Neugebauer

Polimerowe systemy dostarczania leków wykazują ogromny potencjał w dziedzinie medycyny, umożliwiając ukierunkowane i kontrolowane uwalnianie środków terapeutycznych. Systemy te mogą zwiększyć skuteczność leków, zmniejszyć ich skutki uboczne i poprawić przestrzeganie zaleceń przez pacjentów. Mają one także zdolność do zrewolucjonizowania sposobu podawania leków, co czyni je obiecującą drogą do rozwoju opieki zdrowotnej.

W ostatnich latach dużą uwagę poświęca się nie tylko terapiom dedykowanym terapiom antynowotworowym, ale również terapiom antybakteryjnym. Terapie antybakteryjne odgrywają kluczową rolę we współczesnej opiece zdrowotnej z kilku powodów. Są one niezbędne w leczeniu infekcji bakteryjnych, które mogą obejmować zarówno łagodne formy choroby, jak i stany zagrażające życiu. Brak skutecznego leczenia infekcji bakteryjnych może prowadzić do powikłań, zwiększonych kosztów opieki zdrowotnej, przedłużonych pobytów w szpitalu, a w ciężkich przypadkach nawet do śmierci.

Poli(ciecze jonowe) stały się ważnymi materiałami w systemach dostarczania leków ze względu na ich wszechstronne właściwości. Polimery te składają się z powtarzających się jednostek cieczy jonowej i mogą być zaprojektowane tak, aby wykazywały specyficzne właściwości, które sprawiają, że dobrze nadają się do



ul. Stefanowskiego 16, 90-537 Łódź, budynek A8  
tel. +48 42 631-32-10, e-mail: polbarw@info.p.lodz.pl, [www.polimbarw.p.lodz.pl](http://www.polimbarw.p.lodz.pl)  
Adres do korespondencji:  
ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź



zastosowań farmaceutycznych. Włączenie poli(cieczy jonowych) w struktury polimerów, w szczególności polimerów szczepionych okazało się szczególnie istotne dla współdostarczania różnych rodzajów leków.

Doskonałym narzędziem do syntezy dobrze zdefiniowanych polimerów szczepionych jest polimeryzacja rodnikowa z przeniesieniem atomu (ATRP). ATRP przebiega w kontrolowany sposób, pozwalając tym samym na precyzyjną kontrolę masy cząsteczkowej, struktury i składu łańcuchów polimerowych.

Mając na uwadze powyższe stwierdzenia można zauważyć, iż przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Niesyto, pt. „Zaprojektowanie szczepionych poli(cieczy jonowych) jako potencjalnych układów dostarczania leków w terapii przeciwbakteryjnej” wykonana po kierunku Pani prof. dr hab. inż. Doroty Neugebauer wpisuje się w aktualne trendy badań dotyczących efektywnych układów dostarczania leków w terapii przeciwbakteryjnej. Autorka w podjętych badaniach udowodniła, iż kopolimery szczepione zawierające w swojej strukturze jednostki estrowe pochodnej biokompatybilnej choliny z przeciwjonami farmaceutycznymi mogą być rozpatrywane jako obiecujące nośniki leków, w tym leków o działaniu synergicznym, dostarczanych przez ten sam nośnik. Wybór leków uwarunkowany był ich skutecznością w leczeniu chorób układu oddechowego.

Celem recenzowanej rozprawy było po pierwsze zsyntezowanie nowych układów polimerowych jako nośników leków bazujących na polimerach szczepionych, które zawierały w swojej strukturze jednostki cholinowej cieczy jonowej (IL), tj. chlorku [2-(metakryloiloxy)etylo]trimetyloamoniowego (TMAMA). Do tego celu stosowano polimeryzację ATRP. Funkcję układów odniesienia w prowadzonych badaniach pełniły polimery o liniowej architekturze łańcucha, również zsyntezowane przez Panią mgr inż. Katarzynę Niesyto.

W kolejnym etapie Doktorantka wykorzystała uprzednio zsyntezowane kopolimery jako nośniki micelarne do enkapsulacji leków, zarówno w formie niejonowej, jak i jonowej. Otrzymane układy scharakteryzowała pod kątem właściwości fizykochemicznych, ich cytotoksyczności, określiła również wpływ parametrów strukturalnych nośnika na szybkość uwalniania leku.

Recenzowana rozprawa to przewodnik po cyklu publikacji, na który składa się siedem spójnych tematycznie prac o charakterze eksperymentalnym. Wszystkie prace ukazały się w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym w latach 2020-2024. Są to

odpowiednio Polymers (1 praca), International Journal of Molecular Science (3 prace), Materials (1 praca), Pharmaceutics (1 praca) oraz Journal of Biomedical Materials Research Part B – Applied Biomaterials (1 praca). O wysokim poziomie prac świadczą wskaźniki scjentometryczne w postaci sumarycznego współczynnika oddziaływań  $IF=34,545$ ; punktacja MNiSW 900.

Przedstawiona rozprawa Pani mgr inż. Katarzyny Niesyto zawiera następujące rozdziały, 1. Cel i zakres badań, 2. Wprowadzenie, 3. Omówienie wyników, 4. Podsumowanie i wnioski. W pracy Autorka zawarła również streszczenie, zarówno w wersji polskiej, jak i angielskiej, bibliografię, wykaz skrótów i symboli, rysunków i tabel oraz wykaz dorobku naukowego, z osobnym wykazem publikacji naukowych stanowiących monotematyczny cykl publikacji dotyczących rozprawy doktorskiej. Pełne teksty publikacji wraz z oświadczeniami współautorów stanowią załączniki do przedstawionej rozprawy.

Analiza tych oświadczeń potwierdza dominujący wkład autorski Pani mgr inż. Katarzyny Niesyto zarówno w prace eksperymentalne, jak i edytorskie wyselekcjonowanych artykułów. Co jest bardzo istotne we wszystkich pracach stanowiących monotematyczny cykl Pani mgr inż. Katarzyny Niesyto jest pierwszym autorem.

Pani mgr inż. Katarzyny Niesyto ma w swoim dorobku trzy inne publikacje, które ukazały się w czasopismach znajdujących się w wykazie JCR, dwa rozdziały w monografiach naukowych. Jest współautorką siedmiu zgłoszeń patentowych oraz jednego przyznanego patentu. Wyniki swoich prac prezentowała na licznych konferencjach. Była stypendystką w projekcie naukowym finansowanym przez Narodowe Centrum Nauki, NCN, OPUS 14. Ponadto realizowała dwa projekty statutowe Politechniki Śląskiej. Brała czynny udział w warsztatach, szkoleniach, pełniła również rolę opiekuna pomocniczego prac badawczych realizowanych przez studentów w ramach działalności Koła Naukowego Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej. Niewątpliwie na tym etapie drogi zawodowej jest to wyróżniający się dorobek naukowy.

Komentarz do rozprawy napisany jest w sposób spójny i zwięzły. Krótkie wprowadzenie odwołuje się do obecnych wymagań stawianych nowoczesnym systemom dostarczania leków (DDS), jak również możliwości wykorzystania w tego typu układach poli(cieczy jonowych), oraz kopolimerów szczepionych. Dokonany przegląd literatury w tematyce polimerów szczepionych oraz cieczy jonowych stosowanych jako biomateriały,

w szczególności jako DDS, wskazuje obecne trendy jak również nowe perspektywy w diskutowanym obszarze, uzasadniając przyczyny podjęcia przedstawionej tematyki badań. Ta część pracy napisana została w mojej ocenie bez zastrzeżeń. Pani mgr inż. Katarzyny Niesyto odwołuje się do 192 odnośników literaturowych (w pracy jest ich łącznie 207), wiele z nich to prace z ostatniej dekady. Świadczy to o dobrej znajomości aktualnego stanu wiedzy w zakresie prowadzonych badań.

W części dotyczącej wyników autorka prowadzi czytelnika poprzez wyszczególnione zagadnienia zawarte w publikacjach stanowiących podstawę recenzowanej pracy. Na pierwszym etapie badań (prace P.1., P.2.) Doktorantka skupiła się na opracowaniu warunków i procedur syntezy zarówno kopolimerów szczepionych, jak i liniowych, oraz ich charakteryzacji. W tym celu wykorzystwała spektroskopię rezonansu jądrowego ( $^1\text{H}$  NMR) oraz spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR). Otrzymane polimery zróżnicowała pod kątem masy cząsteczkowej ( $M_n$ ), jej dyspersyjności ( $\text{Đ}$ ) oraz zawartości frakcji jonowej. Wynikało to ze zróżnicowanych stopni polimeryzacji zarówno łańcucha głównego, jak i łańcuchów bocznych, liczbą łańcuchów bocznych oraz stopniem szczepienia. W celu oznaczenia charakterystyki molekularnej kopolimerów używała chromatografii żelowej (GPC).

W kolejnym kroku podjęła się wymiany anionów chlorkowych na aniony farmaceutyczne, co umożliwiło otrzymanie koniugatów jonowych PIL-lek. Do badań wykorzystwała cztery typy anionów. Ilość wprowadzonego leku (DC) określała na podstawie widm UV-Vis. Przeanalizowała wpływ parametrów strukturalnych używanych polimerów na wartość DC. Reakcję wymiany jonów analizowała z wykorzystaniem spektroskopii  $^1\text{H}$  NMR. Wyniki dotyczące tej części badań zamieściła w publikacji P.1. i P.2. Otrzymane biokoniugaty poddała następnie dalszej analizie w środowisku wodnym. Wyniki tych badań zamieściła w publikacjach P.1., P.2., P3. i P5. Wyzaczyła odpowiednio zdolność kopolimerów szczepionych i liniowych do formowania nanocząstek (na podstawie krytycznego stężenia micelizacji (CMC)) oraz kąt zwilżania powierzchni warstwy polimerowej techniką „posadzenia kropli” wody. Ten ostatni parametr odniosła do stopnia hydrofilowości/hydrofobowości uzależnionego od typu matrycy polimerowej oraz charakteru wprowadzanego leku.

Otrzymane materiały badane były w następnym etapie pod kątem uwalniania jonowo skoniugowanych leków. Procesy uwalniania prowadzone były w buforze fosforanowym przez czas 72 godzin. Doktorantka zauważyła, że proces ten zachodził

szczególnie intensywnie do 4 godzin, przy czym po 24-48 godzinach większość badanych układów osiągała stan plateau. Wyniki tej części badań opisano w publikacjach P.1., P.2., P3. i P5.

W swoich badaniach Pani mgr inż. Katarzyna Niesyto podjęła się również enkapsulacji leku na drodze fizycznych oddziaływań leku z matrycą polimerową, wykazującą zdolność do samoorganizowania się w roztworach wodnych. Te zagadnienia stanowią kolejny rozdział pracy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Niesyto, natomiast zawarte były w publikacjach P3., P4., P5. Do badań zastosowano trzy modelowe leki. Efektywność enkapsulacji oceniono na podstawie zawartości załadowanego leku (DLC), którą wyznaczono na podstawie widm UV-Vis. Jako matryce polimerowe stosowano kopolimery szczepione oraz biokoniugaty. W tym ostatnim przypadku uzyskano układy podwójnie aktywne z parą współdziałających leków, tj. jonowego oraz niejonowego, związanych z matrycą polimerową poprzez wiązania chemiczne oraz oddziaływania fizyczne. Dla każdego z tych układów określano wielkość cząstek powstałych na skutek samorganizowania się badanych układów w wodzie.

Tak otrzymane morfologie poddano procesowi uwalniania, co stanowi kolejny rozdział pracy. Wyniki tej części prowadzonych badań zawarto w publikacjach P.3., P.4. i P.5.

Ostatnia część sekcji dotyczącej wyników dotyczy biologicznej oceny układów dostarczania leków, wyniki stanowią część publikacji P.6. i P7. Ocenę biologiczną otrzymanych układów przeprowadzono na podstawie badania cytotoksyczności, opartego na badaniach kolorymetrycznych z użyciem bromku 3-(4,5-dimetylotiazol-2-ilo)-2,5-difenylotetrazoliowego (MMT) oraz teście apoptozy i analizie cyklu komórkowego. Do badań użyto model ludzkich komórek nabłonka oskrzeli oraz linii komórkowych, tj. gruczolaka ludzkiej linii komórek podstawnych nabłonka pęcherzyków płucnych oraz niedrobnokomórkowego raka płuc. Ponadto dla kopolimerów liniowych przeprowadzono pomiary ekspresji genów dla interleukin IL6 i IL8. Dla wszystkich badanych układów testy wykazały brak cytotoksyczności wobec testowanych linii.

Prace podsumowano wnioskami, które potwierdzają słuszność koncepcji badań. Pani mgr inż. Katarzyny Niesyto odniosła się również do możliwości i warunków determinujących praktyczne zastosowanie opracowanych systemów jako nośniki leków w leczeniu chorób dróg oddechowych.

Praca napisana jest bardzo starannie, nie budzi zastrzeżeń pod względem edytorskim. Stosowana terminologia jest poprawna, wprowadzone skróty wyjaśnione.

Z obowiązku recenzenta poproszę Panią mgr inż. Katarzynę Niesyto o odniesienie się do następujących komentarzy:

1. W polimeryzacji ATRP używa się katalizatory na bazie związków miedzi, których pozostałości po procesie oczyszczania mogą stanowić pewne ograniczenia w praktycznym zastosowaniu tego typu struktur w układach biologicznych. Czy wobec powyższego można rozważyć prowadzenie polimeryzacji ATRP wybranych monomerów w układzie z ppm stężeniem katalizatora czy inicjowanym światłem?
2. Czy fakt, że niektóre z biokoniugatów mają średnice hydrodynamiczne cząstek większe aniżeli graniczna wartość 300 nm nie stanowi pewnej przeszkody w ich praktycznym zastosowaniu?
3. Czy przy wyborze niejonowych leków modelowych uwzględniono możliwość zmniejszania aktywności leków w terapii skojarzonej?
4. Czy temperatura ludzkiego organizmu będzie miała wpływ na kinetykę procesów uwalniania substancji aktywnych, zakładam bowiem, że wszystkie procesy uwalniania prowadzono w temperaturze pokojowej (nie znalazłam tej informacji w publikacjach stanowiących monotematyczny cykl).

Na podstawie powyższej dyskusji uznaję zatem, iż przedstawiona praca w pełni spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim w Ustawie „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” z dnia 14 marca 2003 roku z późniejszymi zmianami i wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej o dopuszczenie Pani mgr inż. Katarzyny Niesyto do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Omówione wyniki wnoszą znaczący wkład w rozwój dyscypliny, mają także duże znaczenie również z punktu widzenia potencjału aplikacyjnego, o czym świadczy liczba zgłoszonych wniosków patentowych. Mając na uwadze dorobek Doktorantki, stanowiący zarówno cykl publikacyjny recenzowanej pracy, jak i prace nie stanowiące integralnej części rozprawy oraz pozostałe osiągnięcia wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej rozprawy.

