



Wrocław, dn. 29.05.2020 r.

dr hab. inż. Marcin Nyk, prof. PWr
Politechnika Wroclawska
Wydział Chemiczny
Katedra Inżynierii
i Modelowania Materiałów Zaawansowanych
Wyb. Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław
marcin.nyk@pwr.edu.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr PAULINY TERESY SOBIERAJSKIEJ

pt.: „*Otrzymywanie i badania biokompozytów na bazie nanoapatytów przeznaczonych do teranostyki*”

wykonanej pod opieką naukową prof. dr hab. Rafała Wiglusza

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska powstała w Instytucie Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu. Niniejsza dysertacja doktorska, na co zezwala obowiązująca ustawa o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, została napisana w formie zbioru sześciu tematycznie spójnych opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych. Wszystkie publikacje jednotematycznego cyklu prac zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach anglojęzycznych o zasięgu międzynarodowym o wysokiej renomie wśród czasopism w obszarach chemii i nanotechnologii (współczynnik oddziaływania czasopisma w roku publikacji wynosi od 3 do 5). Wśród artykułów są prace opublikowane w czasopismach jak *Materials Science and Engineering: C*, *Journal of Alloys and Compounds* czy *RSC Advances*. Pod względem formalnym recenzowana praca liczy 162 strony tekstu, wliczając w to rysunki, tabele oraz bibliografię (250 pozycji) i podzielona została na 9 rozdziałów obejmujących min. wprowadzenie i cel pracy, opis



teoretyczny, część eksperymentalną oraz podsumowanie. Według bazy naukowej *Web of Science* na dzień 29.05.2020r. Doktorantka opublikowała 14 recenzowanych prac z tzw. listy *Filadelfijskiej* o zasięgu międzynarodowym (w tym 6 prac bezpośrednio związanych z rozprawą doktorską), które wszystkie były dotychczas niezależnie cytowane 71 razy. Indeks *Hirscha* mgr SOBIERAJSKIEJ wg tego samego źródła wynosi 7. Ponadto Doktorantka 18 razy prezentowała otrzymane wyniki na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. W trakcie realizacji doktoratu Autorka brała udział w kilku grantach naukowych, jako kierownik (1) i jako współwykonawca projektów (5). Powyższe dane bibliometryczne są ponad przeciętne do ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora.

Dysertacja mgr SOBIERAJSKIEJ poświęcona jest projektowaniu, a następnie otrzymywaniu wielofunkcyjnych nanokrystalicznych biomateriałów opartych o związki takie jak: hydroksyapatyty - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, fluorapatyty - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ oraz difosforany triwapnia - $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ domieszkowanych wybranymi jonami lantanowców oraz kationami litu. Materiały oparte na fosforanach wapnia, głównie nanohydroksyapatycie wapnia, stanowią podstawowy nieorganiczny budulec kości. Obecnie, uważa się je za jedno z najlepszych materiałów implantacyjnych wykorzystywanych w chirurgii kostnej oraz stomatologii. Syntetyczne nanoapatyty wykazują wysoki stopień biozgodności, zdolność do osteokondukcji oraz tworzenia z żywymi tkankami trwałych połączeń biochemicznych. Dodatkowo apatyty w formie nanokrystalicznej wykazują dobrze rozwiniętą powierzchnię właściwą, co ułatwia np. wprowadzanie leku w docelowe miejsce, w tak zwanych systemach dostarczania leku przy zastosowaniu ich jako nośników. Co również ważne apatyty podatne są także na modyfikacje strukturalne, związane z podstawieniem dwuwartościowego jonu Ca^{2+} innymi jonami np. różniącymi się od niego ładunkiem oraz promieniem jonowym, wpływającymi na końcowe właściwości materiału.

Nanohydroksyapatyty są szeroko badane od kilkunastu lat jako jedno z najbardziej obiecujących materiałów biologicznych, jednak zawarte w rozprawie badania opisują próbę użycia ich jako matryc dla jonów pierwiastków ziem rzadkich i wykorzystania mało zbadanego (z uwagi na niewielką wydajność kwantową) mechanizmu transferu energii w górę. Nowym i ciekawym rozwiązaniem zaproponowanym przez Doktorantkę była próba zbadania wpływu jonów Li^+ na



właściwości strukturalne i spektroskopowe nanoapatytów oraz zwiększenie wydajności luminescencji otrzymanych materiałów przez podstawianie grup hydroksylowych jonami F^- . Badania zawarte w rozprawie są kompleksowe tzn. zawierają zarówno metody otrzymywania nanomateriałów, syntezę związków oraz ich pełną charakteryzację strukturalną, morfologiczną i optyczną. Ta wszechstronność jest niewątpliwie pozytywnym czynnikiem wyróżniającym pracę.

W pierwszych dwóch pracach cyklu pt.: “Effect of lithium substitution on the charge compensation, structural and luminescence properties of nanocrystalline $Ca_{10}(PO_4)_6F_2$ activated with Eu^{3+} ions” opublikowanej w *CrystEngComm*, oraz w pracy pt.: “Influence of Li^+ ions on the physicochemical properties of nanocrystalline calcium–strontium hydroxyapatite doped with Eu^{3+} ions” opublikowanej *New J. Chem*, Doktorantka opisuje wpływ stężenia jonów Li^+ na właściwości strukturalne i luminescencyjne nanokrystalicznego fluoro- i hydroksyapatytu aktywowanego jonami Eu^{3+} . Na podstawie przeprowadzonych badań strukturalnych stwierdza, że obecność w matrycy jednowartościowych jonów litu ma pozytywny wpływ na kompensację trójwartościowego ładunku jonu lantanowca. Badania te potwierdzono dokładną analizą strukturalną przy użyciu metody Rietveld’a. Dodatkowo wykorzystano jony europu (III), jako czulej sondy optycznej badającej zmianę symetrii lokalnego otoczenia kationów tworzących matrycę apatyty. W dwóch kolejnych pracach cyklu pt.:”Preparation of up-converting nano-biphasic calcium phosphate” opublikowanej w *RSC Advances* oraz pracy pt.:” Influence of the grain sizes on Stokes and anti-Stokes fluorescence in the Yb^{3+} and Tb^{3+} ions co-doped nanocrystalline fluorapatite” opublikowanej w *Journal of Alloys and Compounds*, Autorka opisuje użycie nanofosforanów wapnia i nanofluoroapatytów domieszkowanych parami jonów Tb^{3+}/Yb^{3+} czy Er^{3+}/Yb^{3+} i wykorzystania w nich mało zbadanego w tych matrycach mechanizmu transferu energii w górę. Zastosowanie takiego podejścia umożliwia potencjalne zastosowanie takich nanoapatytów jako optycznych bioznaczników gdzie poprzez zastosowanie par jonów konwertujących energię uzyskujemy emisję światła widzialnego słabo rozpraszanego i pochłanianego przez chromofory tkankowe oraz nie obserwuje się autofluorescencji obiektów biologicznych w tak zwanym biologicznym oknie transmisji. Po drugie, konwersja energii w górę zachodzi w wyniku pobudzenia niskoenergetycznym promieniowaniem w obszarze bliskiej podczerwieni, które również jest słabo rozpraszane i pochłaniane przez materiał biologiczny. Po trzecie jak dowodzi



Doktorantka, fluoroapatyt w porównaniu z hydroksyapatytem cechuje się wyższą krystalicznością, a z powodu obecności jonów F^- zamiast grup OH^- uzyskuje się znacznie bardziej wydajną emisję z matrycy FAp, ponieważ nie dochodzi do bezpromienistej dezaktywacji stanów wzbudzonych na drodze sprzężeń wibronowych tych stanów z wysokoenergetycznymi modami OH^- .

W dwóch ostatnich pracach cyklu “Preparation and antimicrobial activity of the porous hydroxyapatite nanoceramics” opublikowanej w *Journal of Alloys and Compounds* oraz w pracy pt.:” Li^+ activated nanohydroxyapatite doped with Eu^{3+} ions enhances proliferative activity and viability of human stem progenitor cells of adipose tissue and olfactory ensheathing cells. Further perspective of nHAP: Li^+ , Eu^{3+} application in theranostics” opublikowanej w *Materials Science and Engineering C*, które w mojej opinii są najważniejszą częścią rozprawy, mgr SOBIERAJSKA prezentuje docelowe badania biokompatybilności i bioaktywności otrzymanych układów apatytów do zastosowań w terapii i diagnostyce tzw. teranostyce. W wyniku przeprowadzonych badań jednoznacznie wykazuje, iż zaprojektowane nanomateriały mogą być z powodzeniem stosowane: (i) w medycynie regeneracyjnej – jako syntetyczne, biozgodne i bioaktywne substytuty tkanki kostnej o potencjalnych właściwościach antybakteryjnych, (ii) w obrazowaniu medycznym – jako bioznaczniki do oceny zmian zachodzących w implantowanym materiale na drodze dyfuzji jonów optycznie aktywnych, (iii) jak również w terapiach spersonalizowanych – z wykorzystaniem tzw. dojrzałych komórek macierzystych.

Analiza tak wieloaspektowej, ale jednocześnie spójnej lektury, jaką jest rozprawa doktorska Pani mgr PAULINY SOBIERAJSKIEJ, pozwala stwierdzić, że dostarcza ona wielu nowych oraz cennych informacji, pobudzając jednocześnie ciekawość naukową czytelnika. Wyrazem tego mogą być następujące pytania:

1. Na jakiej podstawie ustalane były stałe wartości domieszek Eu^{3+} , Sr^{2+} czy Yb^{3+} . Mianowicie, dla przykładu niezrozumiałe jest, dlaczego optymalne i maksymalne stężenie jonów europu (III) w celu uniknięcia procesów relaksacji krzyżowej dla nanommatrycy hydroksyapatytu w pracy (2) wynosiło 1 mol%, a w pracy (4) 2 mol%.
2. W większości przypadków profile zaniku luminescencji mają charakter dwuwykładniczy i jak twierdzi Doktorantka składowe „krótko- i długo-żyjące” pozwalają określić ilość jonów



przypowierzchniowych wykazujących krótsze czasy życia stanów wzbudzonych. W związku z tym zachodzi pytanie, dlaczego w żadnej z prac nie podano amplitud poszczególnych składowych czasowych. Ponadto nie podano wzoru jak wyliczono średni czas życia luminescencji tzn. czy była to średnia ważona uwzględniająca amplitudy każdej składowej czy też zwykła średnia arytmetyczna.

3. Przy dopasowaniach teoretycznymi zależnościami liniowymi lub krzywymi wykładniczymi Doktorantka nie podaje współczynnika błędu R kwadrat.
4. W pracy poświęconej nanofosforanowi wapnia domieszkowanego $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ Autorka nie podaje, co jest kluczowe w zastosowaniach praktycznych względnej czułości temperaturowej.
5. W pracach (1) i (2) dotyczących fluoroapatytu oraz hydroksyapatytu domieszkowanego Eu^{3+} , Doktorantka na podstawie uproszczonej teorii Judd'a-Ofelt'a wyznacza dla tych materiałów wydajności kwantowe dochodzące nawet do poziomu 90%. W pracy Alberto Escudero i in. (*Langmuir* 2013, 29, 1985–1994), zmierzona eksperymentalnie wydajność kwantowa dla podobnych materiałów nie przekraczała 10%. W związku z tym zachodzi pytanie czy wyliczone wysokie teoretyczne wartości wydajności kwantowej były w jakikolwiek sposób odniesione do istniejących danych literaturowych i czy Doktorantka próbowała zweryfikować je eksperymentalnie np. poprzez pomiar porównawczy luminescencji na znany standard lub też za pomocą sfery całkującej. Taka weryfikacja miała natomiast miejsce na przykład w przypadku wyznaczenia przez Doktorantkę średniej wielkości kryształitów metodą Scherrer'a i korelowania otrzymanych wyników teoretycznych z pomiarami skaningowej lub transmisyjnej mikroskopii elektronowej.
6. Czy w pełni zasadne jest nazywanie nanohydroksyapatytu aktywowanego Li^+ oraz domieszkowanym Eu^{3+} w części badań opisywanych w pracy (6) materiałem teranostycznym? Materiał terenostyczny musi posiadać jednocześnie właściwości lecznicze i diagnostyczne, tutaj element leczniczy (terapeutyczny) został jak najbardziej spełniony, natomiast diagnostyczny w mojej opinii nie, ponieważ obrazowanie odbywało się nie poprzez luminescencję w budowanym europu w tym materiale, a *de-facto* poprzez nie skoniugowane z opisywanym materiałem organiczne barwniki. Co oznacza stwierdzenie „...domieszkowany jonami Eu^{3+} może służyć jako środek teranostyczny, co



dotatkowo rozszerza jego potencjalne zastosowanie ...” (str. 127)? Doktorantka powinna przynajmniej pokazać widmo emisji europu i dla porównania omówić właściwości optyczne tego materiału.

7. Czy istnieje możliwość niskotemperaturowej mokrej syntezy nanokrystalicznych apatytów w obecności związków powierzchniowo-czynnych czy też ligandów? Takie rozwiązanie pozwoliłoby uzyskać w pełni koloidalny roztwór nanocząstek apatytowych, uniknąć niepożądanego zjawiska agregacji nanokrystalitów oraz umożliwić późniejszą wymianę ligandów w celu przyszłej biofunkcjonalizacji.
8. Wielokrotnie w pracy wdarty się angielskie żargony typu: ‘dwueksponencjalne’, ‘multieksponencjalnych’ mających swoje polskie odpowiedniki jako: ‘dwuwykładnicze’ i ‘wielowykładnicze’.

Podsumowując każdą część doktoratu przedłożonego przez Panią mgr PAULINĘ SOBIERAJSKĄ oceniam poprawnie, wskazując na kompetencję doktorantki, umiejętność analizy i interpretacji wyników. Poruszana w dysertacji tematyka badawcza niewątpliwie wpisuje się w aktualne trendy światowej nauki w dziedzinie chemii, biologii i nanotechnologii; i co ważne jest tematyką stosunkowo mało poznaną. Dużym atutem rozprawy było kompleksowe przebadanie właściwości fizyko-chemicznych wielu próbek wytworzonych samodzielnie przez Autorkę. Większość wyników prezentowanych w rozprawie już została opublikowana w sześciu dobrych czasopismach m.in. takich jak: *Materials Science and Engineering: C* (IF-5) czy *RSC Advances* (IF-3), a zatem przeszła przez krytyczne oceny recenzentów. Łącznie Doktorantka opublikowała 14 artykułów z listy JCR. W trakcie realizacji doktoratu Autorka brała udział w kilku grantach naukowych: raz jako kierownik i 5 razy jako współwykonawca projektów. Wyniki swoich prac prezentował na licznych krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Badania zawarte w rozprawie są kompleksowe tzn. zawierają zarówno metody syntezy, sposoby strukturalnej modyfikacji, pełną ich charakteryzację fizyko-chemiczną oraz zastosowanie ich jako biologicznych teranostyków. Ta wszechstronność jest niewątpliwie pozytywnym czynnikiem wyróżniającym pracę.



Biorąc pod uwagę opracowanie przez mgr PAULINĘ SOBIERAJSKĄ nowych metod syntezy nanohydroksyaptytów i ich pochodnych wraz z ich modyfikacją strukturalną i optyczną oraz biorąc pod uwagę jakość Jej dorobku publikacyjnego, z pełnym przekonaniem występuję do Rady Naukowej Instytutu Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN we Wrocławiu o wyróżnienie recenzowanej rozprawy doktorskiej.

Nie mam wątpliwości, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki w zakresie chemii. Biorąc pod uwagę powyższą ocenę stwierdzam, że niniejsza rozprawa spełnia wymogi zwyczajowe i ustawowe stawiane pracom doktorskim przez aktualną „*Ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym*” i **wniosuję o dopuszczenie magister PAULINY TERESY SOBIERAJSKIEJ** do dalszych etapów przewodu doktorskiego, w tym publicznej obrony rozprawy doktorskiej.