

Wrocław, 04.04.2018

Prof. dr hab. inż. Paweł Pohl
Kierownik Zakładu Chemii Analitycznej i Metalurgii Chemicznej
Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej
Wybrzeże Stanisława Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

Tel./fax: 71-320-2494
Email: pawel.pohl@pwr.edu.pl

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ
pani mgr inż. Katarzyny Zawiszy

Praca doktorska pani mgr Katarzyny Zawiszy pt. „Otrzymywanie i badanie właściwości spektroskopowych związków typu $M_3(PO_4)_2$ i $M_5(PO_4)_X$ i ich kompozytów (gdzie $M - Ca^{2+}$, Sr^{2+} , $X - OH^-$, F^-) domieszkowanych wybranymi jonami lantanowców” została przygotowana w formie przeglądu cyklu artykułów opublikowanych w międzynarodowych czasopismach naukowych. Promotorem pracy jest dr hab. Rafał Wiglus, prof. INTiBS PAN.

Nadrzędnym celem niniejszej pracy doktorskiej była synteza nowych nanomateriałów hydroksyapatytowych, fluoroapatytowych oraz nanokompozytowych na bazie hydroksyapatytu i ortofosforanu wapnia o szczególnych właściwościach optycznych dzięki ich domieszkowaniu i współdomieszkowaniu optycznie aktywnymi trójwartościowymi jonami wybranych lantanowców. W dalszej kolejności za cel postawiono sobie zbadano właściwości strukturalnych i optycznych nowo wytworzonych nanomateriałów apatytowych i określono ich potencjalną przydatność do bioobrazowania (przypadek hydroksyapatytów i fluoroapatytów domieszkowanych jonami $Eu(III)$) oraz kontrolowanego dostarczania leków (przypadek kompozytu hydroksyapatyt-ortofosforan wapnia współdomieszkowanego jonami $Er(III)/Yb(III)$).

Recenzowana praca doktorska liczy 122 strony i rozpoczyna się „Wprowadzeniem i celem pracy” (3 strony). W „Części teoretycznej (22 strony) autorka przedstawia studium literaturowe nt. apatytów, ich charakterystyki, struktury, właściwości optycznych oraz zastosowań w technice i medycynie. W szczególności interesujący jest podrozdział mówiący o zastosowaniu materiałów apatytowych w chirurgii zachowawczej i estetycznej oraz stomatologii jako wypełnień i pokryć implantów celem poprawy właściwości regeneracyjnych tkanek. Osobną część studium literaturowego poświęcono opisowi właściwości chemicznych i optycznych lantanowców, których związki używane są jako aktywne domieszki wytworzonych materiałów apatytowych, w tym w szczególności właściwości luminiscencyjnych jonów $Eu(III)$, jako czulej sondy strukturalno-optycznej, czy konwersji promieniowania w górę w przypadku współdomieszkowania materiałów apatytowych parami jonów trójwartościowych, np. $Er(III)/Yb(III)$, stosowanych w terapiach aktywowanych światłem. Ta część pracy doktorskiej wydaje się być oszczędna, jednak jest to zupełnie zrozumiałe, ponieważ dopełniają ją wstępy opublikowanych prac autorki (przedstawione w części „Wyniki”), cytujące dużą liczbę prac oryginalnych z zakresu prowadzonych badań, tj. syntezy nanomateriałów apatytowych, ich domieszkowania jonami lantanowców, potencjalnego zastosowania w biomedycynie.

Rozdział „Część doświadczalna” (6 stron) zestawia techniki syntezy nanomateriałów apatytowych (synteza hydrotermalna wspomagana energią promieniowania mikrofalowego, synteza Pechini’ego) oraz metod, które użyto do określenia ich struktury (XRD, SAED), morfologii (TEM), oraz właściwości spektroskopowych (spektrofluorymetria). Niestety nie przedstawiono w tej części innych metod, które były używane w trakcie badań, tj. np. spektroskopia FT-IR, spektroskopia Ramana, DLS, i znalazły się w opublikowanych pracach naukowych w części poświęconej charakterystyce wytworzonych materiałów.

Rozdział zatytułowany „Wyniki” zawiera cztery oryginalne artykuły naukowe autorki z wynikami prowadzonych przez nią badań, które zostały opublikowane w czasopismach o wysokich współczynnikach oddziaływania, tj. Dalton Transaction (praca nr 1, współczynnik oddziaływania 4,029), New Journal of Chemistry (praca nr 2, współczynnik oddziaływania 3,269), CrystEngComm (praca nr 3, współczynnik oddziaływania 3,474) oraz RSC Advances (praca nr 4, współczynnik oddziaływania 3,108). Każdy z zamieszczonych w tym rozdziale artykułów został poprzedzony krótkim (2-3 stron) opisem, który w bardzo przystępnej formie przedstawia to, czego dotyczy dana praca.

Trzy pierwsze prace są do siebie dość podobne pod względem badanych związków apatytowych domieszkowanych jonami Eu(III), sposobu ich otrzymywania oraz metod użytych do określenia ich struktury, morfologii oraz właściwości optycznych. Nie jest to jednak uwaga negatywna. Autorka, stosując metodę hydrotermalną, otrzymała nanohydroksyapatyt wapniowy (prace nr 1 i 2) i strontowy (praca nr 2) oraz nanofluoroapatyt wapniowy (praca nr 3) i zbadała strukturę i właściwości optyczne w zależności od obróbki termicznej tych materiałów po syntezie. Udział autorki w tych pracach był wiodący i polegał na syntezie wspomnianych nanomateriałów apatytowych, określeniu właściwości optycznych metodą spektrofluorymetrii, interpretacji wyników oraz zredagowaniu tekstów opublikowanych prac. Uważam, że wyniki tych prace są wartościowe, ponieważ przynoszą nową rodzinę materiałów apatytowych o rozmiarze nanometrycznym, domieszkowanych optycznie czynnymi jonami Eu(III), mających ściśle określoną strukturę i charakterystykę luminiscencyjną. Podsumowując właściwości luminescencyjne nowo otrzymanych nanomateriałów apatytowych, autorka podaje w różnych miejscach swoich prac, że mogą być one zastosowane jako biomarkery (praca nr 1) lub materiały teranostatyczne w chirurgii stomatologicznej i ortopedii (prace nr 2 i 3). Szkoda niestety, że w żadnej z tych prac nie pojawiło się choć jedno doświadczenie, które pokazywałoby użycie tych materiałów (bez lub po odpowiedniej modyfikacji) i pozwoliłoby porównać ich właściwości optyczne w różnych warunkach doświadczalnych. Niestety nie znalazłem również w części doświadczalnej opublikowanych prac (prace nr 1-3) opisu, w jaki sposób zweryfikowano stopień inkorporacji jonów Eu(III) w strukturze wytworzonych hydroksy- i fluoroapatytów oraz ich ogólny skład przed i po stosowanej obróbce termicznej.

Ostatnią pracę (praca nr 4) autorki uważam za najciekawszą. Dotyczy ona syntezy nanokompozytu na bazie hydroksyapatytu wapnia i fosforanu wapnia metodą Pechini’ego, współdomieszkowanego parą jonów Er(III) i Yb(III), poddanego odpowiedniej obróbce termicznej i wykazującego właściwości konwersji promieniowania w górę. Otrzymany nanokompozyt został scharakteryzowany pod względem struktury, morfologii oraz właściwości optycznych. Aby pokazać zastosowanie otrzymanego nanomateriału jako nośnika leku, jego powierzchnię zmodyfikowano zatrzymując na niej metronidazol, który jest chemioterapeutyką o działaniu pierwotniakobójczym oraz bakterioobójczym wobec drobnoustrojów beztlenowych. Praktyczne zastosowanie tego leku to przede wszystkim leczenie chorób wywołanych przez bakterie beztlenowe, w tym owrzodzenie kończyn dolnych i odleżyny, zapalenie kości i stawów, zakażenie ran po zabiegu chirurgicznym, zakażenie okołozębowe, zapalenie dziąseł (według Charakterystyki Produktu Leczniczego zgodnej z decyzją Urzędu Rejestracyjnego UR/ZD/0627/14 z 20.02.2014). Dlatego też nie

jest zupełnie zrozumiałe, dlaczego autorka zbadała aktywność biologiczną tego leku na nośniku nanokompozytowym na liniach mysich makrofagów (model 1) oraz psiego nowotworu kości (model 2) w kierunku jego cytotoksyczności; lek nie jest wykorzystywany w terapii przeciwnowotworowej ani ludzi ani zwierząt. Należało raczej sprawdzić działanie bakteriobójcze nanokompozytu zmodyfikowanego i niezmodyfikowanego metronidazolem wobec odpowiednich szczepów bakterii beztlenowych, które wywołują np. zapalenie kości czy zakażenie okołozębowe, i odpowiednich kontroli, tj. odpowiednia dawka samego leku. Otrzymane wyniki badań nad cytotoksycznością otrzymanych materiałów nie powinny zatem dziwić, tzn. że użycie względnie dużej ilości nanokompozytu z naniesionym lekiem (100 ppm) oraz długi czas ekspozycji komórek na działanie uwolnionego leku (48 godz.) nie indukowało w istotny sposób śmierci komórek nowotworowych. Biorąc pod uwagę błąd wyznaczenia procentowej przeżywalności komórek, nie było też statystycznie istotnej różnicy, np. dla stężeń 50 i 100 ppm, pomiędzy aktywnością cytotoksyczną samego nanokompozytu i kompozytu z naniesionym lekiem. Szkoda, że w pracy nie pokazano wyników przeżywalności dla odpowiednich linii komórek prawidłowych dla modelu 2 (lub komórek nowotworowych dla modelu 1) lub nie wzięto lepszego chemioterapeutyka. Użyty antybiotyk uwalniał się dość szybko z wytworzonego nośnika nanokompozytowego, jednak dobór układu biologicznego do sprawdzenia jego aktywności biologicznej w parze ze wspomnianym nośnikiem był nieodpowiedni. Ostatecznie, mimo podania informacji o użyciu metody ICP-OES do sprawdzenia składu otrzymanych materiałów, nie zawarto odpowiednich wyników tych badań.

Artykuły mgr Zawiszy, które wchodziły w skład recenzowanej pracy doktorskiej, powstały w ramach dwóch projektów naukowych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki, tj. Sonata Bis, pt. „Otrzymywanie i badanie właściwości spektroskopowych nanoapatytów domieszkowanych jonami metali ziem rzadkich i ich kompozytów” oraz Harmonia, pt. „Nanomateriały do bioobrazowania fluorescencyjnych czasów życia”, w których pełniła ona rolę wykonawcy, oraz stypendium doktorskiego Etiuda o tytule identycznym z tytułem pracy doktorskiej.

Uważam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska pani mgr Zawiszy w formie czterech opublikowanych artykułów naukowych wraz z ich spójnym przeglądem spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65/03, poz. 595 z późniejszymi zmianami) oraz rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 30.01.2018 r. w sprawie szczegółowego trybu przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. 2018, poz. 261). Dlatego też wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu o dopuszczenie pani mgr Zawiszy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę, że wspomniane prace naukowe prezentują wysoki poziom naukowy i mają sporą wartość poznawczą, natomiast mgr Zawisza jest współautorką innych dziewięciu prac naukowych, powstałych w większości w trakcie trwania jej przewodu doktorskiego i opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych, sugeruję wyróżnienie recenzowanej pracy doktorskiej.

POLITECHNIKA WROCŁAWSKA
WYDZIAŁ CHEMICZNY
Zakład Chemii Analitycznej i Metalurgii Chemicznej
KIEROWNIK
Pohl
Prof. dr hab. inż. Paweł Pohl