

prof. dr hab. inż. Bogdan Kuchta
Wydział Chemiczny
Politechnika Wrocławska

Recenzja

Rozprawy doktorskiej mgr Natalii Przybylskiej
pt. „*Własności antybiotyku (ciprofloksacyny) uwięzionego w nanotubach węglowych.
Właściwości antybakteryjne układu.*”

Recenzowana rozprawa została wykonana na Wydziale Fizyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod kierunkiem profesor dr hab. Małgorzaty Sliwińskiej-Bartkowiak.

Przedstawiona do recenzji rozprawa poświęcona jest badaniom właściwości wodnego roztworu ciprofloksacyny (CPX) zaadsorbowanego w nanorurkach węglowych lub porowatej krzemionce. Głównym celem pracy jest analiza efektywności antybakteryjnej antybiotyku w warunkach nanoporowatych, co pozwala na wydłużenie działania leku. Wykorzystanie materiałów porowatych w nanomedycynie stanowi jedno z kluczowych zastosowań nanoporowatych struktur, oferując możliwość precyzyjnego dostarczania leków, minimalizowania skutków ubocznych oraz rozwijania innowacyjnych metod diagnostycznych i terapeutycznych. Otwiera to nowe perspektywy w leczeniu takich schorzeń jak nowotwory, infekcje bakteryjne czy choroby układu nerwowego.

Nanorurki węglowe znajdują zastosowanie w dostarczaniu leków, obrazowaniu i terapii nowotworowej. Dzięki dużej powierzchni i możliwości modyfikacji chemicznej mogą transportować cząsteczki terapeutyczne bezpośrednio do konkretnych komórek lub tkanek. Porowata krzemionka, cechująca się wysoką porowatością i łatwością funkcjonalizacji, również jest doskonałym nośnikiem leków, umożliwiając ich kontrolowane uwalnianie oraz celowane dostarczanie. Takie właściwości wzmacniają skuteczność terapii i jednocześnie minimalizują działania niepożądane.

W tym kontekście badania przeprowadzone przez panią mgr Natalię Przybylską stanowią istotny wkład w rozwój naukowy w obszarze szeroko pojętej nanofizyko-chemii, z wykorzystaniem metod badawczych inżynierii chemicznej oraz zastosowań w nanomedycynie.

Rozprawę otwiera wstęp, w którym autorka krótko omawia rozwój nanotechnologii, szczególnie w kontekście jej zastosowań w nanomedycynie, jednocześnie jasno formułując cel pracy. We wstępie pojawia się stwierdzenie: „Nanotechnologia jest obecnie wykorzystywana jako narzędzie do badania najbardziej niejasnych obszarów nauk medycznych...”, które wydaje się nieprecyzyjne i nadmiernie żargonowe. Warto zauważyć, że nanotechnologia to nie narzędzie, lecz dziedzina nauki i techniki zajmująca się projektowaniem, wytwarzaniem i zastosowaniem materiałów oraz urządzeń służących do badania zjawisk w skali nanometrycznej, w tym w medycynie.

Zasadnicza część pracy składa się z dwóch głównych rozdziałów: Części Teoretycznej i Części Eksperymentalnej. W części teoretycznej autorka omawia zastosowane materiały i metody

badawcze, skupiając się na charakterystyce oddziaływań leku z nanoporowatą matrycą. Należy podkreślić różnorodność metod badawczych i analiz wykorzystanych w pracy doktorskiej, obejmujących co najmniej osiem różnych narzędzi badawczych. Rozdział ten opiera się głównie na danych literaturowych.

Warto również zwrócić uwagę na pewne drobne niezręczności językowe. Na przykład użycie terminu „nanotuby” w kilku miejscach, w tym w tytule rozprawy, wydaje się nieadekwatne, ponieważ kontekst bardziej odpowiada terminowi „nanocząstki”. Chętnie poznałbym motywacje doktorantki, które skłoniły ją do zastosowania tego określenia.

Część eksperymentalna jest trzonem rozprawy i zawiera omówienie wyników badań przeprowadzonych przez autorkę. Praca kończy się wnioskami oraz spisem literatury. W celu charakterystyki właściwości leku w środowisku nanoporowatym wykonano następujące pomiary:

1. Zbadano właściwości fizykochemiczne roztworów ciprofloksacyny w wodzie, takie jak lepkość i gęstość (z użyciem densometru) oraz wyznaczono energię aktywacji cząsteczek.

2. Scharakteryzowano strukturę elektronową i stopień amorficzności nanorurek węglowych przy użyciu spektroskopii Ramana.

3. Zmierzono izotermy adsorpcyjne, co pozwoliło wyznaczyć dystrybucję rozmiarów i objętość porów.

4. Przeprowadzono analizę oddziaływań roztworów ciprofloksacyny z nanorurkami węglowymi za pomocą spektroskopii w podczerwieni, analizy kalorymetrycznej oraz pomiarów kąta zwilżania.

5. Zaadsorbowane roztwory ciprofloksacyny w matrycach porowatych poddano testom mikrobiologicznym oraz obrazowaniu mikroskopowemu metodą mikroskopii sił atomowych.

Ocena pracy doktorskiej mgr Natalii Przybylskiej wymaga szczególnego podkreślenia interdyscyplinarnego i nowatorskiego podejścia do złożonych problemów zdrowotnych. Uzyskane wyniki mogą mieć istotny wpływ na poprawę jakości życia oraz na rozwój nowoczesnej medycyny. Interdyscyplinarność badań naukowych jest nie tylko inspirująca, ale również bardzo ważna dla młodych naukowców, ponieważ integracja wiedzy i narzędzi z różnych dziedzin pozwala lepiej zrozumieć złożone procesy biologiczne i chemiczne, a także opracować nowe technologie diagnostyczne i terapeutyczne. Takie podejście umożliwia tworzenie zaawansowanych materiałów, takich jak nanocząstki czy materiały biomimetyczne, wspierając precyzyjne dostarczanie leków i rozwój bezpieczniejszych terapii. Jednocześnie wymaga to od badaczy głębokiego zrozumienia zagadnień z wielu dziedzin, co wiąże się z dużym wysiłkiem i koniecznością pogłębionych studiów literaturowych. Pani Natalia Przybylska bardzo dobrze poradziła sobie z tym wyzwaniem, co znajduje odzwierciedlenie w uzyskanych wynikach badań.

1. Amorficzność i charakter struktury elektronowej nanorurek: Za pomocą spektroskopii Ramana stwierdzono, że nanorurki węglowe o średnicy 1,7 nm wykazują uporządkowaną strukturę, natomiast SWCNTs o średnicy 30 nm charakteryzują się wysoce zdefektowaną

(amorficzną) strukturą. Odpowiednio, SWCNTs o średnicy 1,7 nm posiadają metaliczną strukturę elektronową, natomiast te o średnicy 30 nm wykazują właściwości półprzewodnikowe. Aspekt amorficzności jest istotnym parametrem, ponieważ amorficzne struktury nanorurek węglowych charakteryzują się większą biokompatybilnością niż struktury uporządkowane, co ma kluczowe znaczenie w badaniach biologicznych. Z tego powodu doktorantka poświęciła temu parametrowi więcej uwagi. Zaobserwowała, że adsorpcja wodnego roztworu CPX w nanorurkach węglowych prowadzi do zmian w strukturze geometrycznej i stopniu amorficzności nanoporowatych matryc węglowych, powodując znaczące zmniejszenie amorficzności. Istotnym czynnikiem wpływającym na stopień amorficzności matryc porowatych okazała się temperatura, szczególnie w zakresie 36–38°C, który jest najbardziej interesujący z biologicznego punktu widzenia. Uzyskane wyniki wskazują, że SWCNTs o średnicy 30 nm wykazują wyższą amorficzność i półprzewodnikowy charakter struktury elektronowej niż SWCNTs o średnicy 1,7 nm, które cechują się metaliczną strukturą elektronową.

2. **Badania FT-IR oraz pomiary kąta zwilżania** pozwoliły na charakterystykę właściwości CPX w porach nanomateriałów. W widmach zaobserwowano wygaszenie niektórych pików w stosunku do układu swobodnego. Zmiany właściwości optycznych (a także przewodnictwa elektrycznego, struktury i charakteru przejść fazowych) wynikają z nanoskopowych wymiarów próbek w porach, co zwiększa wpływ cząsteczek powierzchniowych na właściwości układu, oraz z oddziaływania z powierzchnią porów. Analiza widm FT-IR umożliwiła wnioskowanie na temat orientacji cząsteczek w porach, co pozwoliło stwierdzić, że wiązania aktywne, kluczowe dla właściwości przeciwbakteryjnych ciprofloksacyny, zachowują swój charakter w warunkach ograniczenia. Najważniejszym wnioskiem z tych pomiarów jest potwierdzenie, że struktura ciprofloksacyny nie ulega degradacji w nanorurkach węglowych i może być skutecznie dostarczana do zwalczania bakterii.
3. **Pomiary DSC** wykazały, że temperatura topnienia roztworu CPX w nanoporach różni się od temperatury topnienia substancji w stanie swobodnym, co jest oczekiwanym efektem w układach o wymiarach nanometrycznych. Obniżenie temperatury topnienia CPX w porach w stosunku do substancji swobodnej jest jednak stosunkowo małe (w porównaniu np. do klasycznych przykładów takich jak nanocząstki złota). Warto zapytać doktorantkę o jej interpretację tego zjawiska. Wątpliwości wzbudza także fakt, że podano tylko jedną wartość zmiany temperatury topnienia dla nanorurek, mimo że badania przeprowadzono dla dwóch różnych rozmiarów. Różnice w rozmiarach nanorurek sugerują, że można było oczekiwać większej zmiany temperatury dla mniejszych nanorurek. Czy doktorantka mogłaby to skomentować?
4. **Mikroskopia AFM** w połączeniu z testami mikrobiologicznymi pozwoliła określić, jakie zmiany zachodzą w bakteriiach *E. coli* pod wpływem ciprofloksacyny adsorbowanej w nanorurkach węglowych. Stwierdzono, że uwalnianie ciprofloksacyny z porów jest spowolnione i następuje po ok. 2 godzinach. Działanie antybiotyku jest jednak wydłużone, a zmniejszenie adhezji bakterii zwiększa jego skuteczność. Antybiotyk adsorbowany w nanorurkach węglowych działa na większą liczbę bakterii *E. coli*, ponieważ SWCNTs odrywają bakterie tworzące biofilm, umożliwiając skuteczniejsze działanie leku.

Struktura Rozprawy jest poprawna. Zauważyłem natomiast, że numeracja Rysunków jest niepoprawna (niezgodna z numeracją w tekście, co bardzo utrudnia czytanie Rozprawy). Nie ma to wpływu na jakość wykonanych badań. Wielkość porów w badanych nanorurkach podawana jest jako 1,7 nm i 30 nm. Wymaga to uzasadnienia, ponieważ na podstawie Rysunku 54 (tekście wymieniany jako Rysunek 60) dystrybucja rozmiarów porów w obu typach próbek jest niemal identyczna (w położeniach maksimów) oraz próbka 1,7 nm wydaje się mieć duży wkład od porów o wielkości 4-5 nm. Jaki to ma wpływ na interpretacje wyników? W przypadku pomiarów kalorymetrycznych ciekawe byłoby porównanie szerokości profili pików DSC z sytuacją 'bulk', czyli poza porami. Często obserwuje się poszerzenie (oprócz przesunięcia) pików w nanoporach, co jest także informacją o tym jak nanometryczna geometria zmienia własności substancji zaadsorbowanej. Czy taka informacja jest dostępna?

Należy podkreślić ilość pracy eksperymentalnej (nie wszystkie jej aspekty wspomniałem powyżej), która została wykonana w celu uzyskania szczegółowych i dobrze potwierdzonych wyników, dotyczących zachowania się antybiotyku w warunkach ograniczonej (nanometrycznej) objętości w porach. Jednocześnie, interpretacja wyników wymaga bardzo dobrego zrozumienia podstaw metod pomiarowych jak i zachowania się układów o wymiarach nanometrycznych. Każdy pomiar daje informacje jednocześnie o samym materiale porowatym jak i układzie zaadsorbowanym w porach. Rozdzielenie tych informacji nie jest czynnością standardową i wymaga dobrze ugruntowanej wiedzy podstawowej. Doktorantka bardzo dobrze poradziła sobie z tym wyzwaniem.

Podsumowując: Wyniki Rozprawy, w której Doktorantka wykonała pomiary eksperymentalne czy studia literaturowe, wnoszą także ważną pracę koncepcyjną i interpretacyjną, Uzyskane wyniki wnoszą bardzo wiele ważnych informacji do obszaru badań nad zastosowaniami materiałów porowatych w nanomedycynie. Dorobek doktorantki zawiera dwie publikacje (w tym jedna w przygotowaniu) oraz prezentacje swoich wyników na czterech konferencjach naukowych.

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Natalii Przybylskiej pt. „Własności antybiotyku (ciprofloksacyny) uwięzionego w nanotubach węglowych. Właściwości antybakteryjne układu.” jest ważnym studium badawczym o zastosowaniu materiałów nanoporowatych w zagadnieniach medycznych. Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że Rozprawa odpowiada warunkom określonym w artykule 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (z późniejszymi zmianami).

Wrocław, 27 listopada 2024