



Wrocław, 24.10.2022

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ PANA MGR. ADAMA SUŁKA

„Fotogenerowanie reaktywnych form tlenu w układach homo- i heterogenicznych zawierających halogenowe porfiryny: mechanizmy i aplikacje biomedyczne”

Przedmiotem niniejszej recenzji jest praca doktorska Pana mgr. Adama Sułka pt. „Fotogenerowanie reaktywnych form tlenu w układach homo- i heterogenicznych zawierających halogenowe porfiryny: mechanizmy i aplikacje biomedyczne”, w której przedstawione zostały wyniki badań związanych z otrzymywaniem i charakterystyką nowych materiałów do fotodynamicznej inaktywacji mikroorganizmów (PDI) oraz wyjaśnieniem mechanizmów fotochemicznych i biologicznych leżących u podstaw PDI z wykorzystaniem opracowanych związków i układów hybrydowych zawierających nanocząstki tlenku tytanu. Omawiane zagadnienia są ściśle związane z obszarem zainteresowań naukowych realizowanych przez promotora pracy, dr hab. Janusza Dąbrowskiego, prof. UJ w zakresie badań nad nowymi lekami oraz fotouczulaczami o właściwościach przeciwnowotworowych i przeciwbakteryjnych.

Tematyka badań objęta doktoratem jest aktualna, o czym świadczą liczne publikacje dotyczące praktycznego zastosowania metody fotodynamicznej zarówno pod kątem badań nad leczeniem nowotworów jak i zakażeń grzybiczych, wirusowych czy też bakteryjnych, zwłaszcza tych antybiotykoopornych. Biorąc pod uwagę powyższe należy uznać, że wybrana przez Pana mgr. Adama Sułka tematyka badań naukowych, która stała się podstawą jego rozprawy doktorskiej ma także istotne znaczenie praktyczne.

Opisane w pracy doktorskiej wyniki badań zostały zrealizowane w ramach dwóch kierowanych przez dr hab. Janusza Dąbrowskiego, prof. UJ projektów badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki: „Nowe modyfikowane bakteriochloryny w fotoimmunoterapii. Aspekty chemiczne i biologiczne” oraz "Nanoenkapsułowane światłoczułe leki w terapii fotodynamicznej opornych nowotworów i drobnoustrojów" oraz „Terapia fotodynamiczna skojarzona z immunoterapią skierowaną na punkty kontrolne PD-1/PD-L1: nowe możliwości w leczeniu nowotworów immunogennych”.

Przygotowana przez mgr Adam Sułka rozprawa doktorska składa się ze wstępu teoretycznego obejmującego około 30 stron, streszczenia prac wchodzących w skład rozprawy oraz obszernego, gdyż składającego się z ponad 200 pozycji przeglądu literaturowego.

Adres:
Wyb.
Wyspiańskiego 29
50-370 Wrocław
budynek A-2 /A-3

Główną część rozprawy stanowi cykl czterech powiązanych tematycznie artykułów naukowych o łącznym współczynniku oddziaływania 42,104 (średni IF wynosi 10,526):

1. B. Pucelik, A. Sułek, J. M. Dąbrowski, "Bacteriochlorins and their metal complexes as NIR-absorbing photosensitizers: properties, mechanisms, and applications", *Coord. Chem. Rev.*, 2020, 416, 213340.
2. A. Sułek, B. Pucelik, M. Kobielski, A. Barzowska, J. M. Dąbrowski, "Photodynamic inactivation of bacteria with porphyrin derivatives: effect of charge, lipophilicity, ROS generation and cellular uptake on their biological activity in vitro", *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21(22), 8716.
3. A. Sułek, B. Pucelik, J. Kuncewicz, G. Dubin, J.M. Dąbrowski, "Sensitization of TiO₂ by halogenated porphyrin derivatives for enhanced visible light biomedical and environmental photocatalysis", *Catal. Today*, 2019, 335, 538-5.
4. A. Sułek, B. Pucelik, M. Kobielski, P. Łabuz, G. Dubin, J.M. Dąbrowski, "Surface modification of nanocrystalline TiO₂ materials with sulphonated porphyrins for visible light antimicrobial therapy", *Catalyst*, 2019, 9(10), 821.

Należy podkreślić, że we wszystkich pracach oryginalnych Pan mgr Adam Sułek jest pierwszym autorem, a na podstawie dołączonych do rozprawy oświadczeń współautorów jego wkład w powstanie tych prac można ocenić jako wiodący. Nie mam zatem wątpliwości, iż wymienione publikacje mogą być podstawą pracy doktorskiej Pana Adama Sułka.

Głównym celem recenzowanej pracy było zbadanie właściwości fizykochemicznych oraz mechanizmów fotochemicznych leżących u podstaw skutecznej fotoinaktywacji mikroorganizmów, w tym generowanie reaktywnych form tlenu (ROS) z zastosowaniem trzech różnych podejść metodologicznych: obliczeń kwantowo-chemicznych, metod elektrochemicznych oraz spektroskopii elektronowej. Takie wielokierunkowe i komplementarne podejście pozwoliło na wnikliwą analizę możliwych ścieżek dezaktywacji stanów wzbudzonych i detekcję fotogenerowanych ROS. Dodatkowo w pracy określono zależność struktura-aktywność biologiczna badanych pochodnych porfiryn, która obejmowała m. in. wyznaczenie współczynników n-oktanol/woda oraz stałych wiązania się fotouczulaczy z DNA jak również zbadanie aktywności biologicznej in vitro. Badania SAR przeprowadzono również z wykorzystaniem technik obliczeń chemii-kwantowej i oraz obliczeń map gęstości rozkładu elektronowego. Kolejne rozdziały pracy koncentrują się na syntezie materiałów na bazie półprzewodnika szerokopasmowego TiO₂ w postaci stałego proszku (materiały mikrometryczne na bazie preparatu P25, publikacja 3) oraz w formie koloidalnej zawiesiny o rozmiarach nanometrycznych, modyfikowanych związkami porfiryrowymi (publikacja 4). W pracach tych zbadano procesy fotofizyczne z udziałem syntezowanych materiałów, a także zaproponowano mechanizmy zachodzących reakcji fotochemicznych. Określono parametry fizykochemiczne dla układów ciecz/ciało stałe, a także dla układów koloidalnych i roztworów homogenicznych, w tym: ich trwałość termiczną, stabilność w układach

zbliżonych do biologicznych jak również podczas nasświetlania światłem z zakresu widzialnego. Zaproponowana metodologia otrzymywanie materiałów zwiększa ich aplikacyjność zarówno pod kątem ich aktywności w świetle widzialnym, jak również poszerza wachlarz generowanych ROS (obok mechanizmu typu II generowania tlenu singletowego zachodzi również mechanizm typu I z generowaniem form wolnorodnikowych).

Jak w każdej pracy o podobnej objętości również tu znajdują się niestety pewne błędy językowe i niezręczności, o których chciałaby wspomnieć. Mimo, że słowo „fotosensibilizator” jest obecnie dopuszczoną formą uważam, że nie ma niczego złego w polskim słowie „fotouczulacz” i polecałabym jego użycie. Proszę także o wyjaśnienie pojęć:

- str. 20 „mutacje zmniejszają obciążenie plazmidu”
- str. 21 „3-12% otwartych ramek odczytu koduje białka”
- str. 38 „Krótka żywotność wzbudzonego stanu singletowego”
- str. 39 „Dlatego Przy insercji...”
- str. 60 „unikane mechanizmy PDI.”

W trakcie lektury przedstawionej dysertacji nasunęło mi się kilka pytań, które chciałabym zadać doktorantowi:

- Jakże może Pan wymienić inne mechanizmy zabijania bakterii z wykorzystaniem nanocząstek (np. plazmonicznych)?
- Jakże, Pana zdaniem, są najefektywniejsze metody pomiaru tlenu singletowego i jakie błędy mogą powstać w wyniku wykorzystania sond fluorescencyjnych?
- Jaki jest wpływ dyspersji rozmiarów i morfologii nanocząstek TiO₂ na procesy adsorpcji fotouczulaczy i dalej toksyczności biorąc pod uwagę, że toksyczność zależy w znaczący sposób od stężenia.

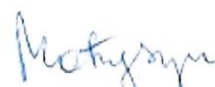
Przeprowadzone przez Pana mgra Adama Sułka badania umożliwiły opracowanie odpowiednich warunków skutecznego protokołu PDI (takich jak wybór odpowiedniego fotouczulacza, inhibitora pomp typu efflux, dodatku nietoksycznej soli jodku potasu, wyznaczenie optymalnych dawek światła), który finalnie doprowadził do fotoinaktywacji opornych bakterii Gram-ujemnych (*E. coli*).

Przygotowana rozprawa oraz podejmowane w niej problemy badawcze nie tylko obejmują najnowsze trendy i osiągnięcia nauki, lecz również świadczą o znajomości współczesnej literatury z wybranej dyscypliny naukowej. Jakość przygotowanej rozprawy zarówno pod kątem części eksperymentalnej, jak również pracy z literaturą, zasługują na bardzo wysoką ocenę.

Nadanie stopnia doktora oznacza, że badacz jest przygotowany do samodzielnego rozwiązywania problemu naukowego. Mgr Adam Sułek pokazał, że spełnia ten warunek, gdyż opanował umiejętność korzystania z literatury, doboru materiałów i metod badawczych, poprawnego zaprojektowania i przeprowadzenia eksperymentu, logicznego sformułowania wniosków końcowych oraz przygotowania publikacji. Warto podkreślić, że dziś w obszarze badań doświadczalnych „samodzielnie” nie oznacza osobiście, gdyż umiejętność

współpracy w zespole jest również przejawem dojrzałości naukowej.

Konkludując, stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana Mgr. Adama Sułka zatytułowana : „Fotogenerowanie reaktywnych form tlenu w układach homo- i heterogenicznych zawierających halogenowe porfiryny: mechanizmy i aplikacje biomedyczne” spełnia wymogi stawiane w art. 13 ust 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w dziedzinie sztuki (Dz.U. z 2017r. poz. 1789 w związku z art. 179 ust.1 i ust. 2 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz 1669 z późn.zm.) W związku z powyższym wnioskuję o przyjęcie niniejszej rozprawy i dopuszczenie jej do publicznej obrony.



Dr hab. inż. Katarzyna Matczyszyn, profesor PWr