



Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni
im. Jerzego Habera
Polskiej Akademii Nauk



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Kraków, 10.07.2023

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ MGR KLAUDII KWIECIŃSKIEJ
PT. „CZERWIEN KONGO JAKO MODELOWY SUPRAMOLEKULARNY UKŁAD
NOŚNIKOWY DO TRANSPORTU LEKÓW”

Rozprawa doktorska pani mgr Klaudii Kwiecińskiej została wykonana w Zakładzie Chemii Teoretycznej Wydziału Chemii UJ pod kierunkiem prof. dr hab. Jacka Korchowca oraz z Zakładzie Bioinformatyki i Telemedycyny Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum UJ pod kierunkiem prof. dr hab. Ireny Roterman-Koniecznej.

Tytuł dysertacji, „Czerwień Kongo jako modelowy supramolekularny układ nośnikowy do transportu leków”, choć zdefiniowany dość ogólnie, trafnie oddaje istotę wykonanych przez Doktorantkę badań. Tworzenie układów lek-nośnik, w szczególności w terapii chorób nowotworowych, jest obiecującą ścieżką poszukiwań selektywnych sposobów dostarczania leków do komórek rakowych, przy ograniczeniu ich szkodliwego działania na komórki zdrowe. Jako modelowy nośnik doksorubicyny (DOX), będącej lekiem antynowotworowym, pani mgr Klaudia Kwiecińska wybrała popularny bisazowy barwnik, jakim jest czerwień Kongo (CR).

Praca została wykonana w trakcie realizacji Środowiskowych Studiów Doktoranckich w ramach projektu pt. „Interdyscyplinarność dla medycyny innowacyjnej” InterDokMed realizowanych w ramach programu POWER 2014-2020. Interdyscyplinarność przedstawionych badań jest widoczna już na pierwszy rzut oka – przydatność czerwieni Konga jako układu do transportu leków badana jest metodami tradycyjnie przypisywanymi chemii, zarówno teoretycznymi (obliczenia kwantowo-chemiczne, symulacje dynamiki molekularnej), jak i doświadczalnymi (spektroskopia Ramana, technika monowarstw Langmuira, w tym wyznaczanie izoterm π -A) oraz biochemii (badania na liniach komórek nowotworowych MCF7 i T24).

Układ dysertacji jest tradycyjny. Krótki wstęp opisujący wybrane do badań cząsteczki poprzedza sformułowanie celu pracy, jakim było przedstawienie czerwieni Konga jako modelu supramolekularnego nośnika leków antynowotworowych poprzez opis oddziaływań CR-DOX, badania transportu powstałego aglomeratu przez modelowe błony komórkowe oraz akumulacji leku w wybranych komórkach nowotworowych. Zaproponowane rodzaje eksperymentów stanowić mogą uniwersalny model umożliwiający opis mechanizmu działania struktur supramolekularnych jako układów do transportu substancji leczniczych.

ul. Niezapominajek 8, 30-239 Kraków, Polska
tel. +48 12 639 51 01, +48 12 425 19 23
fax +48 12 425 19 23

Nr konta: Bank Gospodarstwa Krajowego
PL 36 1130 1150 0012 1186 5820 0004
NIP: 6750001805, REGON: P-000326351



W dalszych rozdziałach Doktorantka opisuje stosowane materiały i odczynniki oraz metody badawcze, jakimi posługiwała się w trakcie prowadzonych prac. Praca wykonana przez mgr Klaudię Kwecińską jest pracą interdyscyplinarną, zatem i wachlarz metod jest szeroki. Czytelnik zostaje zapoznany z podstawami teoretycznymi obliczeń kwantowo-chemicznych oraz dynamiki molekularnej. Następnie dość szeroko omówione są własności molekularne, którymi posłużono się do scharakteryzowania adduktów CR/CR i CR/DOX. Ten fragment rozdziału jest najobszerniejszy, co jest w pełni zrozumiałe – jednym z głównych zamierzeń Autorki było zbadanie natury oddziaływań międzycząsteczkowych pomiędzy cząsteczkami nośnika oraz nośnikiem a lekiem. Dalej znajduje się krótka informacja nt szczegółów prowadzenia hodowli komórkowych, spektroskopii Ramana, wyznaczenia izoterm π -A oraz układu do pomiarów kinetyki adsorpcji. Lektura powyższej części dysertacji jednoznacznie dowodzi, że pani mgr Klaudia Kwecińska posiada ogólną wiedzę teoretyczną oczekiwaną od osób ubiegających się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauki chemiczne.

Zasadnicza część rozprawy, zawierająca opis uzyskanych przez Doktorantkę wyników, podzielona jest na dwa rozdziały („Wyniki i wnioski” oraz „Dyskusja”). Autorka, w sposób zwięzły i klarowny, opisuje uzyskane wyniki badań teoretycznych i doświadczalnych i notuje wynikające z nich wnioski. Lektura tej części pracy nasunęła mi kilka pytań natury technicznej:

- jakich ładunków użyto do parametryzacji pola siłowego CHARMM i dlaczego do parametryzacji użyto ładunków wynikających z obliczeń HF, a nie MP2?
- jakiego programu używano do wykonania obliczeń kwantowo-chemicznych?
- dlaczego stosowano różne stężenia DOX w badaniach prowadzonych na różnych liniach komórek nowotworowych?

Opisane w tej części dysertacji badania oraz ich dyskusja w świetle danych literaturowych wskazują jednoznacznie, że pani mgr Klaudia Kwecińska nabyła umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Całość zamyka krótkie podsumowanie wykonanych badań, spis cytowanych prac oraz wykaz publikacji Autorki.

Przedstawiona do recenzji rozprawa jest oryginalnym opracowaniem przedstawionego tematu. Moim zdaniem do najważniejszych osiągnięć mgr Klaudii Kwecińskiej, uzyskanych w trakcie realizacji badań składających się na recenzowaną pracę, należą:

1. Parametryzacja pola siłowego CHARMM, która umożliwiła uzyskanie spójnego obrazu samoorganizacji cząsteczek czerwieni Kongo w roztworze, zarówno w symulacjach, jak i w badaniach doświadczalnych.

2. Wykazanie, że obecność nośnika ułatwia doksorubicynie penetrację do monowarstwy zbudowanej z dipalmitoilofosfatydylocholino (DPPC), modelującej błonę biologiczną, oraz



wskazanie, że za efekt ten odpowiada zmniejszenie bariery energii swobodnej transportu leku przez membranę.

3. Pokazanie, że zastosowanie nośnika leku w terapii nowotworowej może przyczynić się do zmniejszenia skutecznej dawki leku, co w konsekwencji może ograniczyć niepożądane skutki stosowania chemioterapii.

Lektura rozprawy zachęca do stawiania kolejnych pytań i dalszej dyskusji, co jest niewątpliwie jej zaletą. Chciałbym poznać stanowisko Doktorantki w następujących kwestiach:

1. Które z parametrów pola siłowego CHARMM, w porównaniu do parametrów pola siłowego AMBER, umożliwiły uzyskanie kompleksów CR/CR wynikających z samoorganizacji badanych cząsteczek, zgodnie z obserwacjami doświadczalnymi? Czy Doktorantka potrafi je wskazać?

2. Proszę o wyjaśnienie, dlaczego zliczanie monomerów jest częstsze, gdy analizę opiera się w oparciu o definiowanie środka masy całej cząsteczki DOX a nie jedynie na części aromatycznej? Dlaczego wyższy zielony słupek niż niebieski wskazuje, że całe cząsteczki DOX pokrywają wstęgę, a część aromatyczna jest całkowicie zanurzona w wodzie (wykres 14, opis na stronach 61 – 62)? Pozostawianie części aromatycznej w wodzie jest nieco zaskakującą obserwacją.

3. Utrudnione jest porównanie wnikania DOX do obydwu badanych linii komórek nowotworowych – w pracy znajdują się dane dotyczące różnego czasu stymulacji komórek, a intensywność sygnałów Ramanowskich na odpowiednich rysunkach nie jest przedstawiona w tym samym zakresie. Czy takie porównanie byłoby możliwe? Jeśli nie, dlaczego?

4. Praca przygotowywana była w dwóch zespołach pracujących w Uniwersytecie Jagiellońskim. Naturalnym staje się pytanie, które z prezentowanych badań Doktorantka wykonała na Wydziale Chemii, a które na Wydziale Lekarskim.

Praca doktorska przygotowana jest starannie. Całość napisana jest jasnym językiem, chociaż niekiedy w tekście napotkać można pewne kolokwializmy lub skrótowe myślowe, np. „widmo niebieskie” (str. 65), „linia cyjanowa” (str. 81). Niedosyt budzi czasem skala rysunków przedstawiających tworzone addukty molekularne (w szczególności rysunki 5a i 5b), ale zdaję sobie sprawę, że trudno wyraźnie przedstawić cząsteczki o tak dużej liczbie atomów. Powyższe uwagi odnoszące się do strony edytorskiej rozprawy nie umniejszają jej wysokiej wartości naukowej.

Moja ocena rozprawy doktorskiej jest bardzo pozytywna. Opisuje bardzo wartościowe wyniki badań nad tworzeniem adduktów lek – nośnik, mechanizmem ich transportu do wnętrza komórek oraz akumulacji leku w wybranych komórkach nowotworowych.



Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni
im. Jerzego Habera
Polskiej Akademii Nauk



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Stwierdzam, że recenzowana praca doktorska pani mgr Klaudii Kwiecińskiej spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2022 r. poz. 574 z późn. zm.). Doktorantka wykazała ogólną wiedzę teoretyczną w zakresie reprezentowanej dyscypliny naukowej. W pracy zademonstrowała umiejętność krytycznej analizy wyników i ich interpretacji na tle literatury przedmiotu. Lektura dysertacji potwierdziła, że mgr Klaudia Kwiecińska posiada wiedzę i umiejętności jakie wymagane są do uzyskania stopnia naukowego doktora. Wniosuję zatem do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie pani mgr Klaudii Kwiecińskiej do dalszych czynności w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.

dr hab. Dorota Rutkowska-Żbik