



**WYDZIAŁ BIOLOGII
i OCHRONY
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

Łódź, dn. 7 lutego 2023 r.

prof. dr hab. Barbara Klajnert-Maculewicz
Katedra Biofizyki Ogólnej
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Łódzki
ul. Pomorska 141/143
90-236 Łódź

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Joanny Drozdowskiej
pt. Synteza i analiza aktywności biologicznej zmodyfikowanych
dendrymerów poliamidoaminowych generacji trzeciej podstawionych
wybranymi związkami z grupy ksantonów, jako potencjalnych czynników
w terapii przeciwnowotworowej i przeciwnicieniowej

Praca doktorska została wykonana na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej im. Ignacego Łukasiewicza pod opieką dwóch promotorów pana prof. dr. hab. Wojciecha Rode i pana dr hab. Łukasza Urama, prof. PRz. Rozprawa doktorska składa się z czterech publikacji:

1. **Markowicz Joanna**, Uram Łukasz, Sobich Justyna, Mangiardi Laura, Maj Piotr, Rode Wojciech. Antitumor and anti-nematode activities of α -mangostin. *European Journal of Pharmacology*. 2019
2. Maj Piotr, Mori Mattia, Sobich Justyna, **Markowicz Joanna**, Uram Łukasz, Zieliński Zbigniew, Quaglio Deborah, Calcaterra Andrea, Cau Ylenia, Botta Bruno, Rode Wojciech*. Alvaxanthone, a Thymidylate Synthase Inhibitor with Nematocidal and Tumorcidal Activities. *Molecules*. 2020

3. **Markowicz Joanna**, Uram Łukasz, Wołowiec Stanisław, Rode Wojciech. Biotin Transport-Targeting Polysaccharide-Modified PAMAM G3 Dendrimer as System Delivering α -Mangostin into Cancer Cells and *C. elegans* Worms. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021
4. **Markowicz Joanna**, Wołowiec Stanisław, Rode Wojciech, Uram Łukasz. Synthesis and Properties of α -Mangostin and Vadimezan Conjugates with Glucoheptoamidated and Biotinylated 3rd Generation Poly(amidoamine) Dendrimer, and Conjugation Effect on Their Anticancer and Anti-Nematode Activities. *Pharmaceutics*. 2022

Prace te zostały opublikowane w czasopismach znajdujących się w międzynarodowych bazach. Wydawcą pierwszej pracy jest Elsevier, pozostałe prace zostały zamieszczone w czasopismach MDPI. Pierwsza z prac znalazła swój odzew w środowisku naukowym w postaci sporej liczby cytowań.

Wszystkie wchodzące w skład cyklu prace są wieloautorskie. W trzech z nich Doktorantka jest pierwszym i korespondencyjnym autorem, a według załączonych oświadczeń Jej wkład w te prace jest znaczący (odpowiednio 50%, 60% i 60%) i obejmuje wszystkie etapy pracy, tj. współtworzenie koncepcji publikacji, wykonywanie doświadczeń, interpretację wyników i pisanie manuskryptu. W jednej z prac wkład Doktorantki jest znacznie mniejszy (14%) i obejmuje jedynie przeprowadzenie części eksperymentów i analizę wyników. Praca ta nie jest do końca spójna z główną tematyką pozostałych prac i traktuję ją raczej jako potwierdzenie przez Doktorantkę, że posiada spore umiejętności laboratoryjne oraz ma szerokie zainteresowania, wykraczające poza centralny nurt pracy doktorskiej.

W skład rozprawy, oprócz ww. artykułów wchodzi też ponad pięćdziesięciostronicowe, obszerne opracowanie w języku polskim zawierające m.in. wstęp teoretyczny, opis zastosowanych metod badawczych oraz omówienie uzyskanych wyników. Ta część jest napisane bardzo starannie i w sposób niezwykle uporządkowany. Drobne nieścisłości np. nazwanie dendrymeru nanocząstką, czy twierdzenie, że średnica dendrymerów może osiągać 100 nm (co mogłoby być jedynie prawdą dla bardziej skomplikowanych układów, jakimi są tektodendrymery) nie umniejszają mojego zdecydowanie pozytywnego odbioru całości tego opracowania.

W swojej pracy doktorskiej pani mgr inż. Joanna Drozdowska zainteresowała się ksantonami w kontekście ich właściwości przeciwnowotworowych i przeciw-pasożytniczych. W swych badaniach skoncentrowała się na dwóch związkach: głównie α -mangostynie, ale również vadimezanie. O ile zastosowanie α -mangostyny jest wciąż obiecującym podejściem, o tyle są dość mocne przesłanki, aby mniej optymistycznie myśleć o vadimezanie. Istnieją w literaturze doniesienia nt. toksyczności powyższych związków na poziomie komórki, Doktorantce udało się jednak nie popaść w pułapkę badań odtwórczych. Dodała bowiem do swoich eksperymentów nanoukłady, tj. dendrymery PAMAM generacji trzeciej zmodyfikowane na powierzchni resztami α -D-glukoheptono-1,4-laktonu w celu zmniejszenia cytotoksyczności dendrymeru oraz

biotyną, aby poprawić wychwyty komórkowy nośnika. Tak skonstruowane dendrymery posłużyły jako transportery skoniugowanej α -mangostyny lub vadimezanu. To podejście jest nowe i stanowi oryginalny wkład Doktorantki do literatury przedmiotu.

Cechą charakterystyczną cyklu prac przedstawionych do oceny jest konsekwencja w doborze metod badawczych. Niezależnie jaki układ Doktorantka charakteryzowała, koncentrowała się na ocenie cytotoksyczności (dwie metodami), proliferacji, indukcji apoptozy, poziomu wewnątrzkomórkowego ATP, adhezji i migracji komórek oraz toksyczności względem *C. elegans*. Jedynie w ostatniej pracy panel ten został nieco uszczuplony. Takie podejście pozwalało dokonywać analizy porównawczej i formułować wnioski.

Praca doktorska miała skonkretyzowane cele, brak w niej jednak było hipotezy badawczej, której weryfikacja stanowiłaby zwieńczenie rozprawy.

Uzyskane wyniki, z jednej strony nowe i stanowiące wkład do nauki, pozostawiają jednak pewien niedosyt. Wydaje się, że wnioski dotyczące zastosowania dendrymerowych nośników (szczególnie te w pracy nr 3, mówiące o „excellent carrier”) są jednak nieco na wyrost. Znacząco obniżona wartość IC_{50} osiągnięta dla nanoukładów była obliczana dla molowego stężenia dendrymeru. Przeliczenie tych wartości dla stężenia α -mangostyny już do takiego optymizmu nie uprawnia. Należy jednak podkreślić, iż Doktorantka w dyskusji wyników pokazała, że jest tego faktu świadoma. Mam wrażenie, że nie do końca został wykorzystany potencjał, jakim było posiadanie na powierzchni dendrymeru cząsteczki nakierowującej, tj. biotyny. Ciekawe wyniki mogłoby dać porównanie linii komórkowych z nadekspresją receptorów biotyny i tzw. biotin negative cell lines.

Na kanwie tych wątpliwości mam do Doktorantki dwa pytania:

1. Jakie było uzasadnienie wyboru takich, a nie innych, linii komórkowych?
2. Kilkukrotnie (szczególnie wyraźnie w czwartej pracy dotyczącej koniugatów dendrymerów z vadimezanem) dla testów cytotoksyczności uzyskiwano wartości powyżej kontroli (nawet ok. 140%). Jak Doktorantka tłumaczy to zjawisko?

Powyzsze uwagi nie umniejszają wartości rozprawy doktorskiej, która swoim zakresem i sposobem opracowania spełnia, w moim przeświadczeniu, wymagania ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1669, z późniejszymi zmianami) oraz ustawy z 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz. 1668 z późniejszymi zmianami). Zwracam się zatem do Rady Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Rzeszowskiej im. Ignacego Łukasiewicza z wnioskiem o przyjęcie rozprawy doktorskiej pani mgr inż. Joanny Drozdowskiej i dopuszczenie Jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

B. Klajnt - Maculewicz