



Kraków, 29.06.2022

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Adama Bieńka

pt. Nowe Biozgodne Związki Metalo-Organiczne jako Nanokontenery Leków
i Związków Aktywnych Biologicznie

1. Uwagi wstępne

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska pana mgr Adama Bieńka powstała na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu pod kierunkiem dr hab. Marka Wiśniewskiego, prof. UMK. Rozprawa ma charakter dopuszczalnego ustawowo tzw. spójnego tematycznie cyklu publikacji opublikowanych w czasopiśmie naukowych. Liczy około 250 stron z których ok. 45 to tekst oryginalny natomiast reszta to odbitki publikacji i skany oświadczeń współautorów publikacji. W obrębie tych 45 stron opisu oryginalnego Autor zawarł streszczenie pracy, opis aktualnego stanu wiedzy, cel i koncepcje badań, opis wyników uzyskanych w każdej z przedstawionych publikacji jak również podsumowanie i wnioski. Zatem dokument ten zawiera wszystkie niezbędne elementy rozumianej zwyczajowo pracy doktorskiej.

2. Ocena dorobku naukowego

Pan mgr Adam Bieńka jest współautorem 7 publikacji naukowych. Ponieważ treść tych publikacji stanowi właśnie samą rozprawę doktorską to aby ułatwić ich analizę poniżej przytaczam ich pełne dane bibliograficzne oraz numerację.



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



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

[D1] A. Bieniek, A.P. Terzyk*, M. Wisniewski, Terminologia i nomenklatura sieci metalo-organicznych. Artykuł dyskusyjny, *Przemysł Chemiczny*, 94, 2203-2207 (2015) (IF=0.485, MNiSW=40)

[D2] A. Bieniek, A. P. Terzyk*, M. Wisniewski, K. Roszek, P. Kowalczyk, L. Sarkisov, S. Keskin, K. Kaneko, MOF materials as therapeutic agents, drug carriers, imaging agents and biosensors in cancer biomedicine: recent advances and perspectives, *Progress in Materials Science*, 117, 100743 (2021) (IF=31.560, MNiSW=200)

[D3] A.P. Terzyk, A. Bieniek*, P. Bolibok, M. Wisniewski, P. Ferrer, I. Da Silva, P. Kowalczyk, Stability of Coordination Polymers in Water — State of the Art and Towards a Methodology for Nonporous Materials, *Adsorption*, 25, 1-11 (2019) (IF=1.949, MNiSW=70)

[D4] A. Bieniek, M. Wisniewski*, K. Roszek, P. Bolibok, A.P. Terzyk, P. Ferrer, I. Da Silva, New Strategy of Controlled, Stepwise Release from Novel MBioF and its Potential Application for Drug Delivery Systems, *Adsorption*, 25, 383-391 (2019) (IF=1.949, MNiSW=70)

[D5] M. Wisniewski, A. Bieniek, P. Bolibok, S. Koter, P. Bryk, P. Kowalczyk, A. P. Terzyk*, Mechanistic aspects of water adsorption — desorption in porphyrin containing MOFs, *Microporous & Mesoporous Materials*; 290, 109649 (2019) (IF=4.551, MNiSW=100)

[D6] M. Wisniewski*, A. Bieniek, K. Roszek, J. Czarnecka, P. Bolibok, P. Ferrer, I. Da Silva, A.P. Terzyk, Cystine-based MBioF for Maintaining the Antioxidant-oxidant Balance in Airways Diseases, *ACS Med. Chem. Lett.*, 9, 1280-1284 (2018) (IF=3.975, MNiSW=140)

[D7] A. Bieniek, M. Wisniewski*, J. Czarnecka, J. Wierzbicki, M. Zietek, M. Nowacki, D. Grzanka, T. Kloskowski, K. Roszek, Porphyrin based 2D-MOF structures as dual kinetic Sorafenib nanocarriers for hepatoma treatment, *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 11161 (2021) (IF=5.923, SW=140).

Jak widać większość z tych publikacji opublikowana jest w bardzo dobrych czasopismach branżowych o wysokim lub bardzo wysokim współczynniku impact factor. Cześć zaś w nieco niżej punktowanych lecz ściśle branżowych czasopismach takich jak *Adsorption* czy rodzimy *Przemysł Chemiczny*.

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



3. Tematyka rozprawy doktorskiej

Zasadniczym problemem naukowym który podjął się rozwiązać Autor rozprawy było opracowanie metodyki syntezy struktur biokompatybilnych MOF w zakresie użycia ich jako nośników cząsteczek biologicznie aktywnych. W tym: ich charakterystyki fizykochemicznej, stabilności w warunkach analogicznych do środowiska ich wykorzystania, analizy cytotoksyczności i w końcu jako układy dostarczania kilku typów cząsteczek takich jak sorafenib, błękit metylenowy oraz doksorubicyna.

4. Analiza wyników autorskich

Jak wynika z opisu praca [D1] była efektem przeprowadzonego przeglądu literatury dotyczącej materiałów typu MOF, tj. metal-organic frameworks. Autorzy wskazali, że istnieje szereg nieścisłości w nomenklaturze tej dużej grupy związków chemicznych co oczywiście utrudnia komunikację i stwarza problemy w sklasyfikowaniu tych materiałów. Pan mgr Bieniek miał więc udział w sformułowaniu rekomendacji dla odpowiednich gremiów dotyczących właściwego nazewnictwa "struktur/sieci/szkieletów metalo-organicznych". Tego rodzaju opracowanie ma więc swoje uzasadnienie jako rodzaj wstępu do przeglądu literaturowego rozprawy doktorskiej.

Jednakże, właściwym i zarazem bardzo obszernym przeglądem literatury dotyczącej biomedycznych zastosowań MOF jest praca [D2]. Jest to bardzo obszerny artykuł liczący ponad 80 stron w którym zebrano najważniejsze i aktualne informacje z zakresu zastosowań MOF w terapii nowotworów, jako czynników kontrastowych, biosensorów a przede wszystkim jako nośników leków o kontrolowanym uwalnianiu w zależności od czynnika wyzwalającego i dynamiki samego procesu. Artykuł ten został opublikowany w czasopiśmie Progress in Material Science o bardzo wysokim współczynniku IF oraz najwyższej możliwej punktacji MNiSW tj. 200pkt. Jest to oczywiście praca wieloautorska lecz zaangażowanie doktoranta w jej powstanie jest bez wątpienia znaczące o ile nie dominujące gdyż jest on pierwszym autorem. Tak dogłębny przegląd literatury tematu rzadko się zdarza nawet w doktoratach mających formę monografii, zaś w tym przypadku jest to ewenement w pozytywnym tego słowa znaczeniu. Trudno



jest omówić mnogość układów i rozwiązań przedstawionych w pracy D2 niemniej jednak warto wspomnieć o kilku kluczowych aspektach które będą rozwijane w badaniach własnych Autora. Mianowicie w pracy D2 opisano jak struktury MOF mogą się organizować w zależności od doboru jonu centralnego i ligandu oraz jako można wbudować cząsteczki czynne do tych struktur i w końcu jak można inicjować proces ich uwalniania. Podkreślono również możliwość wytwarzania bardziej zaawansowanych i wyrafinowanych systemów w oparciu o zastosowanie mieszanych ligandów o różnych funkcjonalnościach.

Badania własne Autora zostały oparte na wykorzystaniu dwóch biologicznie kompatybilnych ligandów jakimi są cystyna oraz TCPP (tetra(4-karboksyfenilo)porfiryna) oraz kilku również biologicznie bezpiecznych jonów cynku, magnezu i wapnia. W pracy D3 Autor prezentuje wyniki badań stabilności hydrolytycznej trzech syntezowanych struktur MOF tj. $Zn(Cys)_2$, $Mg(Cys)_2$ oraz $Ca(Cys)_2 \cdot H_2O$. Stabilność badano z zastosowaniem kilku zestawów warunków fizykochemicznych tj. temperatury, wilgotności, stanu skupienia wody oraz dwóch metod spektroskopowych tj. XRD oraz ATR-FTIR. Wyniki tych badań wskazywały na szczególną stabilność w wodzie układu $Zn(Cys)_2$ i ten układ będzie później badany bardziej szczegółowo. W pracy tej sformułowano jeszcze kilka innych ważnych wniosków dotyczących doskonalenia metodyki badania stabilności związków MOF.

Praca D4 skupia się na szczegółowej analizie układu $Zn(Cys)_2$ jako nośnika leków. Jego struktura została sprawdzona i potwierdzona z wykorzystaniem szeregu technik mikroskopowych i spektroskopowych. Natomiast testy biologiczne wykazały brak toksyczności preparatu względem komórek 3T3. Jako substancje aktywne, czy też modelowe cząsteczki leków, zbadano sorafenib oraz błękit metylenowy które były wprowadzane do struktury MOF przez impregnację. Mechanizm uwalniania leków polega na stopniowej dekompozycji struktury MOF wskutek zakwaszania roztworu, co oczywiście prowadzi do uwalniania cząsteczek leków. Przeprowadzone obliczenia kwantowochemiczne wydają się potwierdzać istnienie takiego właśnie mechanizmu. Przy czym opis metodyki tych obliczeń jest dość lakoniczny a same wyniki są dość trudne do interpretacji nie znając szczegółowej geometrii układu. Proces uwalniania leków trudno jest wiarygodnie modelować na poziomie obliczeń kwantowochemicznych. Dużo bardziej



miarodajne i obrazowe byłoby przeprowadzenie symulacji metodą dynamiki molekularnej i wyznaczenie energii swobodnych wiązania cząsteczek leków w strukturach MOF. Oczywiście nie są to obliczenia ani łatwe ani szybkie i mogłyby być materiałem na samodzielny doktorat. Inna moja uwaga odnośnie opisu wyników to brak jednoznacznego określenia w jakim pH zachodziły procesy rozkładu MOF, zobrazowane na rysunku 4 w publikacji. Stopniowe dodawanie HCl lub kwasu askorbinowego prowadziło do zmian pH roztworu, powstaje więc pytanie czy rozkład MOF zachodzi w zakresie pH które można jeszcze uznać za fizjologiczne czy też jest już poza tym zakresem.

Kolejna publikacja cyklu tj. D5 przedstawia wyniki uzyskane dla innego ligandu organicznego czyli TCPP - pochodnej porfiryny oraz trzech jonów centralnych tj. wapnia, cynku i magnezu. Uzyskane materiały scharakteryzowano pod względem strukturalnym oraz fizykochemicznym potwierdzając istotne różnice w zależności od wyboru jonu centralnego. Badania adsorpcji wody oraz spektroskopowe wykazały zmienne powinowactwo do wody tych materiałów co określono jako "siłę (powinowactwo) oddziaływania między wodą a badanymi materiałami". Przyznam, że nie bardzo rozumiem jakiego rodzaju czynnik fizyczny kryje się za tym sformułowaniem bo jeśli jest to energia (swobodna) to nie widzę powodu aby nazywać ją siłą czy powinowactwem. Spośród tych materiałów do badań związanych z wiązaniem i uwalnianiem leków wybrano ZnTCPP (co opisano w pracy D7) i zaproponowano ciekawy i obrazowy mechanizm tych procesów polegający na wbudowywaniu się cząsteczek leków w struktury MOF i następnie złuszczenie się warstewek ZnTCPP z jednoczesną desorpcją molekuł sorafenibu.

W pracy D6 badaniom poddano MOF oparty na cystynie oraz jonie magnezu. Struktura ta wykazała ciekawe właściwości farmakologiczne, mianowicie ma właściwości przeciwutleniające oraz regulujące równowagę oksydacyjno-przeciwutleniającą w komórkach. Ma to związek z uwalnianiem cysteiny i oczywiście jonów magnezu które wspomagają syntezę glutationu. Niemniej jednak mechanizm działania tego związku, przedstawiony na Fig. 4a w publikacji jest mało klarowny. Nie jest dla mnie jasne czy ten MOF rozkłada się w wyniku hydrolizy czy też wymaga dodatkowego czynnika oznaczonego na rysunku jako "Oxidative stress".



Ostatnia praca z cyklu D7 poświęcona jest badaniom układu ZnTCPP jako nośnika błękitu metylenowego, doksorubicyny i sorafenibu. Badania adsorpcji i desorpcji leków były poprzedzone badaniami kinetyki rozkładu nośnika w różnych warunkach czyli składu roztworu, pH i temperatury. Wyniki te potwierdziły możliwość sterowania kinetyką rozkładu o ile można wpływać na skład chemiczny środowiska w którym ten proces się odbywa. Obniżenie pH wydaje się spowalniać proces degradacji. Kinetyka adsorpcji molekuł błękitu metylenowego i doksorubicyny była bardzo podobna natomiast desorpcja doksorubicyny była wyraźnie wolniejsza. Również stopniowe zakwaszanie roztworu poprzez dodatek HCl prowadziło do uzyskania odmiennych profili uwalniania tych cząsteczek z nośnika. Kluczowe wyniki uzyskano jednak dla cząsteczki sorafenibu dla której udało się uzyskać dwie różne formy zaadsorbowanego leku tj agregaty i homogeniczną warstwę. Muszę tu jednak dodać, że przedstawione obrazy SEM tych struktur są dla mnie nierozróżnialne i zakładam, że wnioski co do struktury sorafenibu były wyciągane na podstawie dodatkowych badań lub oko prawdziwego eksperta jest w stanie dostrzec agregaty i warstwę homogeniczną. Te dwie formy leku mają znaczenie w kontekście badań dynamiki ich uwalniania. Stwierdzono mianowicie, że desorpcja z agregatów jest procesem powolnym zaś z homogenicznej warstwy jest szybka. Ma to swoje dalsze konsekwencje w wynikach badań in vitro i efektach działania farmakologicznego obu układów. Trudno tutaj jednoznacznie powiązać wpływ na przerzuty czy redukcję rozmiarów guza ze stanem cząsteczek leku na powierzchni nośnika. Również szybkość uwalniania może mieć bezpośredni wpływ raczej tylko na farmakokinetykę a nie mechanizm oddziaływania leku z komórkami nowotworowymi. Niemniej jednak takie obserwacje poczyniono zaś ich interpretacja to oczywiście przywilej autora.

Przedstawione na końcu rozprawy skany oświadczeń współautorów publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej nie budzą wątpliwości co do znacznego udziału Doktoranta w realizacji badań. Ponadto każdą odbitkę publikacji poprzedza strona informacyjna opisująca najistotniejsze wyniki uzyskane w danej pracy oraz opisowy wkład Doktoranta w jej powstanie. Zatem w każdej z publikacji Pan mgr Bieniek był współautorem koncepcji badań, przeglądu literatury, analizy danych jak też współredagował manuskrypty publikacji.



6. Podsumowanie

Rozprawa doktorska Pana mgr Adama Bieńka pod tytułem „Nowe biozgodne związki metalo-organiczne jako nanokontenery leków i związków aktywnych biologicznie”, przygotowana pod kierunkiem dr hab. Marka Wiśniewskiego, prof. UMK stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego jakim jest synteza i analiza nowoczesnych materiałów mogących znaleźć zastosowanie jako nośniki leków i świadczy o dużej wiedzy ogólnej Autora w dziedzinie nauk chemicznych i pokrewnych. Rozprawa potwierdza też umiejętność analizy danych literaturowych oraz samodzielnego prowadzenia badań naukowych przez Autora. Wyczerpuje to wymagania art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). Wnioskuje zatem o dopuszczenie Pana mgr Adama Bieńka do kolejnych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk chemicznych. Mając na uwadze ponadprzeciętny dorobek naukowy na tym etapie kariery naukowej, doniosłość i znaczenie badań oraz dojrzałość naukową mgr Adama Bieńka wnioskuję do Rady Wydziału Chemii UMK o wyróżnienie pracy nagrodą.

prof. dr hab. Tomasz Pańczyk