



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

Recenzja
rozprawy doktorskiej Pani mgr Julii Korzuch
pt. „Fullerenes – theranostic nanoparticles in anticancer therapy”
przedłożonej Radzie Naukowej Instytutu Chemii Uniwersytetu Śląskiego w
Katowicach celem uzyskania stopnia naukowego doktora nauk chemicznych

Pomimo poznania genetycznych podstaw rozwoju procesu nowotworowego oraz osiągnięcia znaczących postępów w dziedzinie terapii celowanych, obejmujących zarówno związki małocząsteczkowe, jak i przeciwciała monoklonalne, problem lekooporności nadal stanowi poważne wyzwanie kliniczne. Działania niepożądane związane z przyjmowaniem dostępnej farmakoterapii, a także ograniczona skuteczność niektórych metod leczenia, motywują do intensyfikacji poszukiwań nowych, bardziej efektywnych i bezpieczniejszych rozwiązań terapeutycznych. Równocześnie obserwujemy dynamiczny rozwój nanotechnologii, której najnowsze osiągnięcia rewolucjonizują metody diagnostyki nowotworów oraz wspierają rozwój terapii spersonalizowanych. Nanostruktury otwierają możliwość opracowania bardziej precyzyjnych i mniej inwazyjnych metod teranostycznych, które mogą skuteczniej zwalczać raka przy jednoczesnym minimalizowaniu działań niepożądanych.

Wyniki badań, przedstawione w rozprawie przez Panią mgr Julię Korzuch i opracowane w zespole badawczym pod kierownictwem prof. dr. hab. Roberta Musioła, doskonale wpisują się w ten nurt, będąc przykładem nowatorskiego podejścia w obszarze rozwoju nowych metod diagnostycznych oraz strategii terapeutycznych w walce z rakiem.

Ocena formalna

Licząca 149 stron rozprawa składa się z i) 71 stronicowego komentarza do spójnego tematycznie cyklu sześciu publikacji, zawierającego wykaz skrótów, wstęp, cel pracy, opis badań, podsumowanie oraz 207 pozycji aktualnego piśmiennictwa, ii) kopii publikacji P1–P6, iii) charakterystyki całkowitego dorobku naukowego Kandydatki oraz informacji nt uczestnictwa w realizacji projektów badawczych. Publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej ukazały się drukiem w latach 2020–2025 w wiodących czasopismach z listy JCR; pięć z tych publikacji to oryginalne prace eksperymentalne opublikowane w wydawnictwach z obszaru nanotechnologii i biomateriałów tj. *ASC Biomaterials Science and Engineering* (2 publikacje, IF = 5,5), *Scientific Reports* (1 publikacja, IF = 3,8), *International Journal of Nanomedicine* (1 publikacja, IF = 6, 5), *Nanomedicine (London)* (1 publikacja, IF = 4,7) oraz jedna praca przeglądowa opublikowana w *Drug Discovery Today* (1 publikacja, IF = 7,5).

W publikacji P-2, mgr J. Korzuch jest pierwszym autorem, natomiast w pracach P-4 – P-6 jest drugim autorem. W pracach P-1 i P-3 zajmuje odpowiednio czwarte i trzecie miejsce. Na podstawie oświadczeń złożonych przez Doktorantkę oraz współautorów, Doktorantka przeprowadziła syntezę tytułowych związków, wyznaczyła ich czystość przy użyciu metod chromatograficznych, a tożsamość potwierdziła metodami spektralnymi. Ponadto, aktywnie uczestniczyła w opracowaniu manuskryptów prac na wszystkich etapach związanych z upublicznieniem wyników badań.

Ocena merytoryczna

Jednym z kluczowych warunków skutecznego projektowania nowych rozwiązań nanotechnologicznych dla potencjalnych zastosowań w medycynie jest szeroka wiedza na temat losów nanomateriałów w organizmie, a także wymagań stawianych nanocząsteczkom mającym dotrzeć do określonych miejsc docelowych w organizmie. Nieodzowne jest rozpoznanie wydajnych metod syntezy odpowiednio modyfikowanych nanocząsteczek oraz zrozumienie skomplikowanych strategii walki z rakiem. Z tak rozległą tematyką zmierzyła się Doktorantka realizując badania naukowe związane z opracowaniem własnej dysertacji.

Obecny stan wiedzy niezbędny do wprowadzenia czytelnika w obszar swojej aktywności badawczej został przedstawiony przez Autorkę we wstępie rozprawy, a następnie poszerzony w zgrabnie opracowanym studium – publikacja P-5, w którym podsumowano potencjał terapeutyczny modyfikowanych fullerenów w walce z rakiem.

Cele swoich badań Doktorantka sformułowała jako zaprojektowanie i syntezę mono- oraz heksakis-fullerenowych adduktów C₆₀, modyfikowanych ugrupowaniami aminowymi, alkoholowymi oraz kwasowymi. Zaproponowane modyfikacje miały na celu polepszenie parametrów fizykochemicznych i uzyskanie nowych, rozpuszczalnych w wodzie nanomateriałów oraz niehydrolizujących koniugatów gado-fullerenów z erlotynibem. W ramach tych działań podjęto prace nad wielokierunkową oceną właściwości fizycznych oraz aktywności biologicznej nanomateriałów fullerenowych, z zastosowaniem metod *in vitro*.

Ważnym etapem pierwszego obszaru badawczego było opracowanie metody modyfikacji rdzenia fullerenowego, z zastosowaniem odpowiednich pochodnych kwasów malonowych w reakcji Bingel-Hirscha, a także analiza strukturalna oraz analiza właściwości fizykochemicznych otrzymanych związków. Doktorantka osiągnęła ten cel stosując aktualne i zróżnicowane metody eksperymentalne, a wszystkie otrzymane pochodne fullerenowe poddano ocenie zgodnie z celami pracy.

Realizacja kolejnych celów pracy możliwa była dzięki umiejętności interdyscyplinarnej współpracy Autorki z zespołami biologów z Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach oraz Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, którzy dostarczyli informacje na temat właściwości biologicznych oraz bezpieczeństwa nowych adduktów.

Z kolei dyskusje z zespołem z Uniwersytetu Bolońskiego, specjalizującym się w modelowaniu molekularnym, umożliwiły uzyskanie wglądu w zależności między budową amifilowych fullerenów a sposobem ich oddziaływania z kinazami tyrozynowymi. Ocenę wybranych parametrów fizycznych przeprowadzono we współpracy z naukowcami z Instytutu Chemii Medycznej w Madrycie.

Wyniki badań uzyskane w ramach współpracy pozwoliły wykazać, że opracowane przez Doktorantkę addukty fullerenów o zmodyfikowanych właściwościach amifilowych

wykazują zdolność generowania tlenu singletowego. Ponadto, mogą znaleźć zastosowanie w terapii fotodynamicznej celowanej przeciwko nowotworom skóry (publikacja P-1).

Natomiast heksakisaminowa pochodna fullerenu C60 modyfikowana D-glukozaminą, może stanowić cenny nośnik siRNA (publikacja P-2). Jak wykazano w przeprowadzonych badaniach, stabilizacja siRNA w strukturze dodatnio naładowanych aminofullerenów następuje przy udziale oddziaływań typu elektrostatycznego z ujemnie naładowanymi grupami fosforanowymi nośnika kodu genetycznego.

Interesującym wątkiem badawczym było uzyskanie amfifilowych fullerenów, równocześnie modyfikowanych resztami serinolu oraz alkoholu propargylowego (TBC60ser) oraz ich zastosowanie, zgodnie z koncepcją chemii bioortogonalnej w reakcji typu *click*, do celów wizualizacji i analizy dystrybucji fullerenów w organellach i strukturach komórkowych (publikacja P-3).

Uzyskane rezultaty wskazują także, że heksakis-diglikynometanofulleren (HDGF) może modyfikować funkcję kinaz kinazowych, na przykład kinazę Brutona (publikacja P-4).

Ostatecznie, koniugat gadofullerenu Gd@C82, opracowany przez Autorkę, połączony za pomocą łącznika triazolowego z erlotynibem – inhibitorem receptora naskórkowego czynnika wzrostu o cechach kinazy tyrozynowej – otwiera perspektywy zastosowania nanokompleksów typu Gd@C82EDA-ERL jako substancji o właściwościach diagnostyczno-terapeutycznych. Właściwości cytotoksyczne tego koniugatu potwierdzono zarówno metodami *in vitro*, jak i *in vivo* w modelu *Drosophila melanogaster*.

Podsumowując, pozytywnie oceniam przedłożoną do oceny dysertację. Doktorantka z sukcesem zrealizowała założony cel pracy. Zakres zastosowanych metod syntezy, metod analitycznych i spektralnych wykorzystanych do analizy nowootrzymanyh fullerenów oraz badań biologicznych jest prawidłowy i nie budzi zastrzeżeń. Zaprezentowane wyniki badań stanowią wkład Doktorantki w poszerzenie wiedzy nt nanokompleksów opartych na modyfikowanych amfifilowych fullerenach, jako związków o wysokim potencjale terapeutyczno-diagnostycznym w walce z rakiem.

Przedstawione wyniki, a także dyskusja, potwierdzają, że Doktorantka doskonale posługuje się nowoczesnymi technikami badawczymi, wykazuje cenną umiejętność nawiązywania współpracy oraz prezentuje zdolność twórczej analizy uzyskanych wyników. Szczególnie wartościowe jest krytyczne omówienie zalet, jak i ograniczeń związanych z możliwością rozwoju fullerenów w kontekście skutecznej walki z rakiem. Stanowi to dowód wysokiej dojrzałości naukowej Kandydatki.

Warto podkreślić, iż wyniki badań opublikowane w pracach P1–P5 powstały w ramach dwóch projektów finansowanych ze środków Narodowego Centrum Nauki.

Pomimo staranności z jaką opracowano rozprawę, uważam, że ułatwieniem w analizie rozprawy byłoby ujednolicenie numeracji związków w całej pracy, jak też wprowadzenie informacji o wydajności z jaką izolowano związki pośrednie oraz nowe pochodne fullerenowe. Dodatkowym ułatwieniem byłoby odwołanie się w dyskusji do konkretnych numerów rycin. W pracy pojawiły się również drobne błędy dotyczące m.in. numeracji rycin, nazwy Amerykańskiej Agencji ds. Żywności i Leków, a także drobne błędy nomenklaturowe. Dodatkowo zauważyłem błędy w strukturach związków zaprezentowanych na rycinie 16 i 19.

Lektura przedłożonej do oceny rozprawy skłoniła mnie do zdefiniowania poniższych problemów, mogących być punktem wyjścia i zaproszenie do dyskusji z Doktorantką:

- 1) jedną z konsekwencji stosowania związków amfifilowych jest akumulacja fosfolipidów w różnych organellach, w tym w lizozomach, co może przyczyniać się do rozwoju fosfolipidozy; czy ten aspekt bezpieczeństwa został uwzględniony przy projektowaniu nowych pochodnych fullerenowych oraz jakimi „manipulacjami strukturalnymi” można ograniczyć ryzyko wystąpienia fosfolipidozy?
- 2) czy istnieje możliwość przeprowadzenia ilościowej oceny przenikalności nowych pochodnych fullerenowych przez błony biologiczne oraz ich dystrybucji do wybranych struktur komórkowych?
- 3) cząsteczki wykazujące cechy inhibitorów kinazy tyrozynowych mogą hamować ich aktywność w sposób odwracalny lub nieodwracalny; ibrutinib jest nieodwracalnym inhibitorem kinazy Brutona; czy podjęto próbę ustalenia sposobu hamowania czynności kinazy przez pochodną HDGF?
- 4) bloki budulcowe do procesu koniugacji fullerenów z erlotynibem zostały otrzymane w reakcji tzw. chemii klik (strona 55); czy prowadząc tego typu reakcję w temperaturze pokojowej można oczekiwać wysokiej wydajności izolacji pochodnej ERL-COOH?
- 5) w jaki sposób prowadzono ocenę efektywności koniugacji erlotynibu do cząsteczki gado-fullerenu?

Wyniki przedstawione przez Doktorantkę oceniam jako niezwykle interesujące i nowatorskie, stanowiące istotny krok w kierunku optymalizacji nowych struktur o pożądanej aktywności przeciwnowotworowej oraz właściwościach diagnostycznych. Zaprezentowany w rozprawie problem naukowy, zastosowany warsztat badawczy oraz umiejętność analizy uzyskanych wyników świadczą o wysokim poziomie poznawczym i oryginalności opracowania. Dodatkowym potwierdzeniem wartości naukowej i aktualności tych badań jest fakt, iż opublikowane prace zostały już cytowane 52 razy, co świadczy o ich szerokim uznaniu w środowisku naukowym.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska autorstwa mgr Julii Korzuch spełnia warunki określone w art. 192 ust. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz. U. z 2023 r. poz. 742, ze zm.). W związku z powyższym, wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Chemii Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach o dopuszczenie mgr Julii Korzuch do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora. Równocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Julii Korzuch.

Kraków, 01.07.2025 r.

Prof. dr hab. n. farm. Paweł Zajdel
Kierownik Katedry i Zakładu Chemii Organicznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków
 pawel.zajdel@uj.edu.pl