



Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Klaudii Szafran
„Właściwości fizykochemiczne wieloskładnikowych filmów wybranych
substancji bioaktywnych osadzonych na nośniku PET w aspekcie
zastosowań medycznych”

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Klaudii Szafran została przygotowana w Katedrze Zjawisk Międzyfazowych Instytutu Nauk Chemicznych Wydziału Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Rozprawa ma formę liczącą 229 stron monografii, a przedstawione w niej wyniki badań zostały już opublikowane w pięciu obszernych artykułach w czasopismach o międzynarodowym obiegu i wysokich współczynnikach oddziaływania. Rozprawa doktorska dotyczy preparatyki nowych biozgodnych materiałów, które mogłyby być wykorzystywane jako stenty naczyń krwionośnych, czy szerzej i bardziej ogólnie, implanty stosowane w rozmaitych procedurach medycznych. Podstawowym modyfikowanym przez Doktorantkę materiałem jest poli(tereftalan etylu) PET, zaś na podłożach wykonanych z tego materiału osadzone są trójskładnikowe monowarstwy utworzone z DOPC (fosfolipid), cyklosporyny (CsA) (lek cytostatyczny) i galusanu laurylu (LG) (przeciwutleniacz).

Rozprawa doktorska zachowuje tradycyjny podział na wprowadzającą czytelnika w tematykę część literaturową oraz obszerną część badawczą prezentującą w systematyczny sposób najważniejsze wyniki przeprowadzonych eksperymentów.

Na początku pracy doktorskiej Autorka określa cztery główne cele przeprowadzonych badań oraz liczne cele cząstkowe. Cele główne to: 1) szczegółowa charakterystyka monowarstw Langmuira utworzonych z DOPC, CsA i LG, 2) scharakteryzowanie oddziaływań pomiędzy tymi cząsteczkami w monowarstwach dwu i trójskładnikowych, 3) opracowanie technik skutecznego transferu badanych monowarstw na stałe podłoża i 4) scharakteryzowanie wpływu osadzenia monowarstw organicznych na tych podłożach na ich właściwości fizykochemiczne.

Część literaturową rozpoczyna Doktorantka od omówienia pojęcia biokompatybilności oraz analizy czynników wpływających na biokompatybilność. Autorka podkreśla fakt, że to przede wszystkim powierzchnia biomateriału ma kontakt z tkanką, a więc dążąc do optymalizowania biokompatybilności nowych materiałów należy przede wszystkim skupić się na modyfikacjach powierzchni, wpływając w odpowiedni sposób na chropowatość, czy też hydrofobowość. Autorka zauważa, że niekorzystne oddziaływania implantów na otaczającą tkankę wynikają często z korozji tych materiałów, czy też z uwalniania toksycznych molekuł organicznych w przypadku materiałów polimerowych. Dlatego też, by zapobiegać korozji, czy ogólnie degradacji biomateriałów, często pokrywa się ich powierzchnię ochronnym filmem organicznym. Film taki może zapobiegać degradacji powierzchni materiału poprzez izolowanie jej od otoczenia, natomiast odpowiedni dobór materiału filmotwórczego może jednocześnie



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Chemii

zdecydowanie zwiększyć biogodność takiego materiału. Dodatkowo w filmie organicznym osadzonym na powierzchni biomateriału można umieścić cząsteczki leków, które uwalniane w miejscu zastosowania implantu przyczyniają się do uzyskania zakładanych efektów terapeutycznych. Następnie Autorka podaje informacje dotyczące zastosowań PET do produkcji implantów oraz o problemach związanych z biogodnością tego polimeru. Zwiększenie biogodności można uzyskać osadzając na powierzchni PET naturalny polisacharyd chitozan. Jednakże grupy aminowe obecne w cząsteczkach chitozanu są w warunkach fizjologicznych protonowane i przyjmują ładunek dodatni. Gromadzenie się dodatniego ładunku na powierzchni biomateriału może przyczyniać się do powstawania skręplin i innych efektów ubocznych. Dlatego też wskazane byłoby osadzenie chitozanu na powierzchni PET wraz z innymi biomolekułami niwelującymi efekty uboczne chitozanu. Takimi molekułami mogłyby być fosfolipidy, jako podstawowe molekuły budujące błony komórkowe. Z fosfolipidów łatwo można utworzyć monowarstwę Langmuira i przenieść ją za pomocą techniki Langmuira-Blodgett na powierzchnię badanego materiału. Jeżeli taka monowarstwa utworzona jest na roztworze chitozanu, to następuje adsorpcja tego polimeru do monowarstwy fosfolipidowej i możliwy jest transfer zaadsorbowanych cząsteczek chitozanu wraz z fosfolipidem na modyfikowane podłoże stałe. Autorka zauważa, że fosfolipidy występujące w błonach komórkowych mają najczęściej w swoich cząsteczkach nienasycone łańcuchy węglowodorowe, zaś grupą najbardziej rozpowszechnionych fosfolipidów są fosfatydylocholiny, stąd dobór do badań fosfatydylocholiny dioleinowej DOPC. W dalszej części wstępu literaturowego autorka zauważa, że wszczepiony materiał jest ciałem obcym względem organizmu i że często może dochodzić do odrzucenia takiego implantu. By tego uniknąć stosuje się leki cytostatyczne, a jednym z najczęściej stosowanych jest cyklosporyna A (CsA). CsA jest cyklicznym oligopeptydem, wykazującym aktywność powierzchniową, trudno rozpuszczalnym w wodzie. Liczne doniesienia literaturowe wskazują, że z samych cząsteczek CsA można utworzyć stabilne monowarstwy Langmuira. Korzystając z tych właściwości CsA Doktorantka proponuje umieszczenie cząsteczek CsA w filmie zwiększającym biogodność materiałów wykonanych z PET. Jednakże mechanizm działania CsA związany jest z wydzielaniem się aktywnych form tlenu, które mogą powodować peroksydację DOPC. By temu zapobiec Autorka proponuje zastosować w filmach pokrywających PET również galusan laurylu. Związek ten ma silne właściwości przeciwutleniające, a jako, że sam tworzy monowarstwę Langmuira może być z powodzeniem wykorzystany do tworzenia powłok na powierzchni biomateriałów. W ten sposób Autorka doprowadza czytelnika do badanych układów, czyli trójskładnikowych monowarstw Langmuira utworzonych z DOPC, CsA i LG. Do tych monowarstw z roztworu wodnego adsorbuje się chitozan, a całość przenoszona jest na odpowiednie stałe podłoża.

W dalszej części rozprawy (str. 32 – 62) Doktorantka zwięźle opisuje podstawy teoretyczne zastosowanych technik eksperymentalnych. Największą część rozprawy (str. 62 do 175) zajmuje opis i dyskusja otrzymanych wyników. Należy tu podkreślić, że wzajemna proporcja długości części literaturowej i eksperymentalnej wynosi mniej więcej 1:2 i zdaniem recenzenta jest to rozsądna proporcja.

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



Część eksperymentalna rozpoczyna się od szczegółowej charakterystyki jedno, dwu i trójskładnikowych monowarstw Langmuira utworzonych przez badane cząsteczki, czyli: DOPC, CsA i LG. Monowarstwy tworzą na wodzie jak i na wodnym roztworze chitozanu. Ponieważ chitozan dobrze rozpuszcza się w środowisku kwaśnym konieczny był niewielki dodatek (0,1%) kwasu octowego. Dlatego też, by rozróżnić, co jest wpływem kwasu octowego, a co chitozanu, monowarstwy badano również na 0,1% roztworze kwasu octowego, czyli w sumie do badań zastosowano trzy subfazy: woda ultraczysta, 0,1% roztwór kwasu octowego oraz roztwór chitozanu o stężeniu 0,1 mg/ml przygotowany na bazie 0,1% roztworu kwasu octowego. Dla monowarstw utworzonych na tych subfazach rejestrowano izotermy ciśnienia powierzchniowego (π) – w funkcji średniej powierzchni cząsteczkowej (A). Z przebiegu izoterm obliczano moduł ściśliwości, C_S^{-1} , po czym wykresowano krzywe $C_S^{-1}-\pi$ i dyskutowano elastyczność uzyskanych monowarstw i ich stan fizyczny. Fakt, że wszystkie trzy składniki badanych monowarstw tworzą stabilne monowarstwy Langmuira pozwolił na przeprowadzenie analizy termodynamicznej i wyznaczenie dwuwymiarowych nadmiarowych funkcji mieszania, czyli nadmiarowej powierzchni cząsteczkowej A_E i nadmiarowej energii mieszania Gibbsa ΔG_E . Wykreślenie zależności tych funkcji od składu mieszanych monowarstw pozwoliło na dyskusję wzajemnych oddziaływań pomiędzy cząsteczkami w badanych układach. Ponadto stosując metodę drgającej elektrody Kelvina Doktorantka wyznaczyła izotermy potencjału powierzchniowego podczas kompresji badanych monowarstw (krzywe $\Delta V-A$), a korzystając z modelu Helmholtza wyznaczyła również tak zwany efektywny moment dipolowy. Analiza potencjału powierzchniowego pozwoliła na bardziej zaawansowaną dyskusję zmian konformacji badanych cząsteczek i ich wzajemnej orientacji podczas kompresji monowarstw. Wyniki te zostały opublikowane w postaci dwóch artykułów w prestiżowych czasopismach (Langmuir 37 (2021) 5601-5616 i Colloids Surfaces A 652 (2022) 129843).

Kolejne rozdziały rozprawy prezentują wyniki eksperymentów związanych z przenoszeniem monowarstw na podłoża stałe i optymalizacją tego procesu. Ten cykl tematyczny rozpoczyna omówienie wyników eksperymentów dotyczących stabilności badanych monowarstw. Dyskutowana jest ewolucja ciśnienia powierzchniowego w czasie przy ustalonej powierzchni cząsteczkowej jak i eksperymenty odwrotne – ewolucja powierzchni cząsteczkowej w czasie przy ustalonej wartości ciśnienia powierzchniowego. Ponadto stabilność monowarstw była badana dynamicznie podczas rejestracji izoterm $\pi-A$ w cyklach kompresji/ekspansji. Przeprowadzone eksperymenty pozwoliły ustalić optymalne warunki transferu monowarstw na podłoża stałe za pomocą techniki Langmuira-Blodgett (LB). Monowarstwy były przenoszone na podłoża PET (niemodyfikowane, i modyfikowane plazmą powietrzną), co było głównym celem podjętych badań oraz na mikię i złoto (szkło napyłone złotem oraz elektrody złote do mikrowągi kwarcowej). Podczas przenoszenia monowarstw za pomocą techniki LB dla każdego z zastosowanych podłoży wyznaczono współczynnik przeniesienia (TR) i przedyskutowano jego wartość. W dyskusji Doktorantka skupiła się przede wszystkim na przypadkach, gdy TR wyraźnie przekracza 1, argumentując, że w takich przypadkach w związku z oddziaływaniem cząsteczek tworzących monowarstwę z podłożem stałym dochodzi do wzrostu uporządkowania cząsteczek i ściślejszego ich upakowania w płaszczyźnie monowarstwy niż na granicy faz woda/powietrze.



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Chemii

Współczynniki TR były wyznaczane przy zastosowaniu programu do obsługi wagi Langmuira, natomiast zastosowanie mikrowagi kwarcowej pozwoliło na niezależne wyznaczenie stopnia pokrycia powierzchni elektrody złotej i skonfrontowanie uzyskanych wartości ze współczynnikami TR. Jakość pokrycia elektrod złotych była następnie weryfikowana za pomocą voltamperometrii cyklicznej dla reakcji utleniania heksacyjanożelazianu(II) potasu do heksacyjanożelazianu(III) potasu. Doktorantka wykazała, że pokrycie elektrody złotej badanymi monowarstwami wyraźnie zmniejsza dostępność powierzchni elektrody dla jonów, co pozwoliło wyciągnąć wniosek o dosyć ścisłym pokryciu elektrod, chociaż nieliczne defekty w tym pokryciu umożliwiły ostatecznie dostęp jonów do elektrody.

Dużo wysiłku i uwagi poświęciła Doktorantka charakterystyce warstw LB osadzonych na stałych podłożach, jako, że dopiero te układy można uznać za „prawdziwy” modyfikowany biomateriał. Dwie główne techniki zastosowane do charakteryzowania otrzymanych materiałów to mikroskopia sił atomowych (AFM) oraz spektrometria mas jonów wtórnych z analizatorem czasu przelotu (TOF-SIMS). Badania wykonane za pomocą techniki AFM dla podłoży PET modyfikowanych plazmą powietrzną wykazały znaczną chropowatość powierzchni tych materiałów oraz tworzenie się nanodomen niezależnie od składu przenoszonych monowarstw. Natomiast w przypadku transferu badanych warstw na mikę otrzymane warstwy LB były praktycznie atomowo gładkie i nie zaobserwowano w nich wspomnianych domen. Znaczną gładkość monowarstw zaobserwowano również dla podłoży złotych, chociaż tutaj obserwacje utrudniały charakterystyczne dla tego podłoża uskoki. Dużo wysiłku poświęciła Doktorantka charakterystyce otrzymanych materiałów za pomocą techniki spektrometrii mas TOF-SIMS. Technika AFM umożliwia wizualizację powierzchni podłoży stałych przed i po wyniesieniu na nie monowarstw LB. Otrzymuje się informacje o jakości pokrycia podłoża: o homogeniczności pokrycia, występowaniu defektów, czy agregatów. AFM nie daje jednak informacji o tym, jaki materiał został przeniesiony na powierzchnię. To, że na granicy faz woda/powietrze mamy trójskładnikową monowarstwę o konkretnej proporcji DOPC, CsA i LG wcale nie oznacza, że po transferze techniką LB na podłoże stałe wszystkie te cząsteczki zostaną przeniesione i że zostanie zachowana ich wzajemna proporcja. Zastosowanie techniki TOF-SIMS pozwoliło w pierwszej kolejności potwierdzić obecność wszystkich trzech molekuł na powierzchni podłoża PET w przypadku transferu monowarstwy trójskładnikowej zbudowanej z DOPC, CsA i LG. Dokładna analiza pików fragmentacyjnych pozwoliła również dowiedzieć, że cząsteczki LG lokują się na stałym podłożu w pobliżu cząsteczek DOPC, o co dokładnie chodziło Doktorantce. LG jako przeciwutleniacz powinien organizować się w pobliżu cząsteczek DOPC, by chronić wiązania podwójne przed peroksydacją związaną z aktywnymi formami tlenu generowanymi przez obecną w biomateriale cyklosporynę. Dokładna analiza fragmentacji CsA pozwoliła z kolei wyciągnąć wniosek, że cząsteczki DOPC i LG tworzą wystarczająco hydrofobowe środowisko dla cyklosporyny, co umożliwia przyjęcie przez nią korzystnej terapeutycznie konformacji zamkniętej. Wyniki tych badań zostały opublikowane w dwóch obszernych artykułach: *Pharmaceutics*, 14 (2022) 2815 i *J. Phys. Chem. B* 126 (2022) 6936-6947.

Ostatnia również dosyć obszerna część rozprawy doktorskiej dotyczy badania całkowitej swobodnej energii powierzchniowej otrzymanych

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



biomateriałów. Wielu uczonych twierdzi, że rozmaite niekorzystne cechy polimeru PET jako materiału do produkcji implantów wynikają ze zbyt niskiej energii powierzchniowej. Jeżeli więc stosowana obróbka polimeru i późniejsze jego pokrycie filmem organicznym skutkowałyby zwiększeniem energii powierzchniowej, to byłoby to z korzyścią dla potencjalnych zastosowań. Dla wyprodukowanych przez siebie biomateriałów Doktorantka mierzyła wartości kątów zwilżania z zastosowaniem trzech cieczy testowych: wody ultraczystej, formamidu i diiodometanu. Badania te pozwoliły wyznaczyć składowe całkowitej swobodnej energii powierzchniowej badanych biomateriałów oraz dowieść, że obróbka PET za pomocą plazmy powietrznej oraz późniejsze pokrycie tego materiału trójskładnikową monowarstwą organiczną zwiększa całkowitą swobodną energię powierzchniową badanych materiałów. Omawiane wyniki zostały opisane w dwóch artykułach: *Pharmaceutics*, 14 (2022) 2815 oraz w pracy będącej w recenzji w czasopiśmie *Molecules*.

Rozprawa doktorska Pani mgr Klaudii Szafran jest przygotowana bardzo starannie. Czytając ten bardzo długi przecież manuskrypt nie natknąłem się na żadne rażące literówki, czy też błędy stylistyczne. Rysunki, schematy i tabele w pracy są również bardzo starannie przygotowane. Natomiast czytając liczący 229 stron manuskrypt natknąłem się na kilka wątpliwych stwierdzeń czy interpretacji, z którymi bym polemizował. Kwestie te omawiam w osobnym podrozdziale recenzji. Moje uwagi krytyczne w żadnym stopniu nie umniejszają wartości recenzowanej rozprawy, natomiast mogą być punktem wyjścia do dyskusji podczas publicznej obrony doktoratu.

Uwagi, sugestie i pytania recenzenta

Zdecydowanie nie podoba mi się zastosowanie programu Spartan do generowania podstawowych rysunków (rys. 2, rys. 4, rys. 6, rys. 21, rys. 35, rys. 36). Spartan jest rozbudowanym programem umożliwiającym obliczenia kwantowo-mechaniczne, czy chociażby optymalizację geometrii cząsteczek. Jednakże w cytowanych rysunkach wcale nie o to chodzi, są one jedynie przedstawieniem wzorów strukturalnych w postaci reprezentacji „stick and balls”. Rysunki te może wyglądają atrakcyjnie, ale wcale nie ułatwiają czytelnikowi zobaczenia i zrozumienia struktury omawianych związków organicznych. O ile jeszcze przedstawiony na rys. 2 mer PET jest czytelny, to już struktura cyklosporyny przedstawiona na Rys. 4 jest zupełnie nieczytelna (do czego wróć jeszcze za chwilę). Nie rozumiem co przedstawia schemat na Rys. 21 wykonany również za pomocą programu Spartan. Część A ilustruje CsA na subfazie zawierającej kwas octowy. Moim zdaniem dwie struktury rozdzielone strzałką są identyczne, podobnie nieczytelna jest część b tego rysunku. Podobnie nie jestem entuzjastą rysunków 35 i 36, choć zdaję sobie sprawę, że skoro pojawiają się one w publikacji w czasopiśmie *Langmuir*, to przeszły proces recenzji i zostały zaakceptowane przez recenzentów. Zestawienie koło siebie cząsteczek DOPC, LG i CsA narysowanych w reprezentacji „stick and balls” i zaznaczenie przerywanymi liniami pewnych obszarów oddziaływań może sugerować, że struktury te zostały wspólnie zoptymalizowane w jakimś polu siłowym i że proponowane oddziaływania wynikają z jakiś obliczeń, a tak nie jest.

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



Rysunek 8 również wykonany za pomocą programu Spartan przedstawia wzory strukturalne DPPC i DOPC (tym razem wzory kreskowe). Zdaniem recenzenta rysunek ten powinien być przygotowany inaczej, a wzór DPPC jest po prostu koślawy. Skoro badane są monowarstwy Langmuira to dobrze byłoby narysować obie cząsteczki pionowo. Łańcuchy węglowodorowe w cząsteczce DPPC powinny być narysowane w konformacji *all-trans*, natomiast we wzorze DOPC wiązania podwójne powinny zachowywać geometrię *cis*, przez co łańcuchy powinny być wyraźnie wygięte. Ogólnie cząsteczka DOPC powinna być ilustrowana tak jak na rys. 1 w publikacji *Pharmaceutics*, 14 (2022) 2815.

Cyklosporyna

Jak już wspomniałem struktura cyklosporyny przedstawiona na rys. 4 jest zupełnie nieczytelna. Bardzo dobrze natomiast jest zilustrowana w publikacji *J. Thermal. Anal. Calorimetry* 138 (2019) 4513-4521, i szkoda, że Autorka nie przeniosła tego rysunku do rozprawy. Moim zdaniem w rozdziale dotyczącym cyklosporyny ogólnie brakuje informacji o jej strukturze: o składzie aminokwasowym, sekwencji i wynikających z nich właściwościach fizycznych. CsA tworzy monowarstwy Langmuira, co nie jest właściwością każdego cyklicznego oligopeptydu. Z czego wynika aktywność powierzchniowa CsA?

Na stronie 94 można znaleźć następujące zdanie: „Co więcej, aminokwas MeBmt-1 jest eksponowany ponad pozostałą częścią cząsteczki CsA, i może penetrować błonę w głąb [223].”. Pokazuje ono jak bardzo brakuje omówienia struktury CsA. Po pierwsze mamy nietypowe, niebiałkowe aminokwasy, poza tym ich specyficzna struktura i wzajemne rozmieszczenie nadaje cząsteczce CsA właściwości amfifilowe.

Str 32.

„Pierwsze substancje amfifilowe stosowane jako monowarstwy Langmuira miały długie łańcuchy alkilowe. Były to kwasy tłuszczowe i fosfolipidy. Większość tych substancji w temperaturze pokojowej występuje w stanie stałym. Po wprowadzeniu do cieczy ich cząsteczki tworzą struktury koloidalne, w postaci micel i liposomów.”

Trzeba zauważyć, że jedną z „ulubionych” substancji badanych przez Langmuira i innych pionierów badań monowarstw był kwas oleinowy, który nie występuje w stanie stałym w temperaturze pokojowej. Poza tym zdanie „po wprowadzeniu do cieczy ich cząsteczki tworzą struktury koloidalne, w postaci micel i liposomów” jest nieprecyzyjne i błędne. Po pierwsza do jakiej cieczy? Wprowadzenie kwasów tłuszczowych i fosfolipidów do cieczy niepolarniej (np. heksan, czy chloroform) powoduje powstanie prawidłowych roztworów. Chodziło, więc zapewne o wodę. Jednakże bezpośrednio wprowadzenie długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, czy fosfolipidów do wody i późniejsze wytrząsanie takiego układu nie prowadzi do powstania micel, czy liposomów, tylko emulsji oleju w wodzie. Omawiane cząsteczki nie tworzą micel, bo się praktycznie nie rozpuszczają, czyli nie ma mowy o przekroczeniu cmc. Nie tworzą też liposomów, bo tu potrzebna jest bardziej skomplikowana procedura – np. hydratacja suchego filmu lipidowego.

Wydział Chemii

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



Str 32.

„Monowarstwa Langmuira tworzy się, gdy substancje amfifilowe zostaną umieszczone na granicy faz z roztworu przygotowanego w lotnym rozpuszczalniku niemieszającym się z wodą.”

Nie wystarczy, by rozpuszczalnik organiczny nie mieszał się z wodą. Konieczne jest również spełnienie warunku zwilżania cieczy cieczą, czyli spreadingu. Przykładowo n-heksan i n-heptan nadają się do tworzenia monowarstw Langmuira, natomiast n-oktan i dłuższe alkany już nie, bo po nakropieniu nie rozprzestrzeniają się po powierzchni wody.

Str. 34, rys. 10.

Schemat nie oddaje precyzyjnie idei stanów fizycznych monowarstwy Langmuira, ponieważ wynika z niego, że stany G, LE, LC i S różnią się tylko odległością pomiędzy cząsteczkami, natomiast konformacja łańcucha węglowodorowego i jego orientacja względem płaszczyzny monowarstwy, czy też normalnej do monowarstwy, nie ulega zmianie podczas kompresji.

Podobnie nie do końca prawidłowy jest przedstawiony pod schematem opis poszczególnych faz, ponieważ kompletnie nie uwzględnia zmian konformacji łańcucha węglowodorowego i zmian orientacji osi głównej cząsteczek podczas sprężania monowarstwy.

Opis stanu stałego:

„stałą (z ang. *condensed*, C), w której monowarstwa wykazuje największe upakowanie cząsteczek, przyjmując fazę odpowiadającą dwuwymiarowemu kryształowi.” jest błędny.

Dla wielu nasyconych surfaktantów periodyczne upakowanie łańcuchów węglowodorowych pojawia się już w stanie LC, z kolei zdarza się również, że stan S jest amorficzny.

Str. 39

Opis zjawisk leżących u podstaw mikroskopii kąta Brewstera jest nieprecyzyjny. Brakuje definicji kąta Brewstera – zarówno omówienia, co dzieje się, gdy wiązka niespolaryzowana pada na granicę faz pod kątem Brewstera, jak i wzoru łączącego współczynniki załamania światła z kątem Brewstera.

„W powyższych warunkach odbicie światła od powierzchni fazy ciekłej nie występuje.”

Ostatecznie promień odbity ma zerową intensywność, co dzieje się na skutek ponownej polaryzacji, czyli tzw. efektu skrzyżowanych polaryzatorów.

„Po naniesieniu roztworu badanej substancji na fazę nośną i utworzeniu cienkiego filmu część promieniowania padającego ulega odbiciu w wyniku zmiany współczynnika refrakcji przy jednoczesnym braku zmiany (lub zmiany w niewielkim stopniu) wartości kąta Brewstera”

Monowarstwa modyfikuje współczynnik załamania światła subfazy n_2 , a więc siłą rzeczy modyfikuje kąt Brewstera θ , jako, że $\text{tg}\theta = n_2/n_1$. Podczas kompresji obserwujemy obraz, ponieważ realnie zmienia się kąt θ , a na urządzeniu ustawiony jest w stałej pozycji, typowej dla wody, czyli $53,2^\circ$.

„Światło odbite kierowane jest do kamery i na ekran monitora.”

Światło z mikroskopu nie jest kierowane na ekran monitora – po wzmocnieniu w matrycy ccd impuls elektryczny jest odbierany przez interfejs, a odpowiedni program przekształca ten impuls na obraz widoczny na monitorze.



Str. 63

„Technika Langmuira umożliwia utworzenie jednowarstwowego modelu błon biologicznych – monowarstwy, której właściwości, takie jak upakowanie cząsteczek, ściśliwość i stan fizyczny, są podobne do dwuwarstwy o takim samym składzie [218-220].”

Wielu autorów dodałoby jeszcze do tego zdania przed nawiasem kwadratowym: i przy ciśnieniu powierzchniowym około 30 mN/m.

Przy mniejszych (lub ewentualnie wyraźnie większych) wartościach ciśnienia powierzchniowego wymienione w cytowanym zdaniu wielkości fizyczne są wyraźnie różne dla monowarstw i dwuwarstw.

Str 94

„Natomiast, w środowisku hydrofobowym o niskiej stałej dielektrycznej, takim jak łańcuchy węglowodorowe (DOPC i/lub LG), zakłada się, że cząsteczka CsA ma strukturę krystaliczną [249, 250].”

Sformułowanie nieprawidłowe. Co znaczy ma strukturę krystaliczną? Taką jak w kryształach? Tylko w zależności od tego, czy CsA jest krystalizowana z cieczy polarnej czy też niepolarnej w kryształach utrwalona będzie albo konformacja zamknięta albo otwarta. Wydaje się, że w cytowanym fragmencie należało konsekwentnie pisać o konformacji zamkniętej/otwartej.

Str. 95

„Podczas sprężania monowarstwy pierścienie zbliżają się do siebie, tworząc sztywną monowarstwę, na co wskazuje zwiększony moduł ściśliwości (Rysunek 19, Tabela 6 [231]).”

Co autorka rozumie poprzez sformułowanie „sztywna monowarstwa”? w szczególności w odniesieniu do monowarstwy CsA. Jak widać na cytowanym tu rysunku 19 maksymalna wartość modułu ściśliwości dla monowarstwy CsA wynosi około 70 mN/m, a więc monowarstwa pozostaje podczas całej kompresji w stanie LE, czyli raczej nie jest „sztywna”. Podobnie w obrazach BAM nie zaobserwowano żadnych domen skondensowanych dla CsA.

Str. 112

„Izotermy sprężania i rozprężania przy wartości $\pi_0 = 10$ mN m⁻¹ wszystkich badanych monowarstw otrzymanych na granicy faz ciecz/powietrze pokrywają się praktycznie całkowicie.”

Przy zastosowanej skali osi X od 0 do 1000 Å²/cząsteczkę podobny wniosek można by wyciągnąć dla każdej monowarstwy Langmuira niezależnie od materiału, z którego ją utworzono. Przy tak dobranej skali czytelnik nie ma szans zaobserwować pętli histerezy w izotermach sprężania/rozprężania. Przygotowując ten wykres należało zdecydowanie inaczej pogrupować izotermy – np. Panel 1 CsA na wszystkich badanych subfazach, Panel 2 LG na wszystkich badanych subfazach, itd. Doprowadziłoby to do rysunku składającego się z 7 paneli, na których potencjalne pętli histerezy byłyby widoczne dla czytelnika.

Wydział Chemii

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



W badaniach histerez (izotermy sprężania/rozprężania) przeprowadza się zwykle kilka następujących po sobie cykli sprężania/rozprężania. Daje to dużo więcej informacji o badanej monowarstwie, a przede wszystkim pozwala się zorientować, czy materiał monowarstwy jest tracony (rozpuszczanie w subfazie, tworzenie trójwymiarowych agregatów), czy też nie.

Str. 144

„Dodatkowo można stwierdzić, że CsA nie tworzy typowych wiązań chemicznych z cząsteczkami DOPC ani LG w monowarstwach trójskładnikowych.”

Co to są „typowe wiązania chemiczne”? Czy chodzi o wiązania kowalencyjne? Dlaczego CsA i DOPC, czy CsA i LG miałyby tworzyć takie wiązania?

Wydział Chemii

Str. 171

„Przeprowadzone w ramach doktoratu badania zwilżalności dowiodły, że zarówno cząsteczki DOPC, jak i LG nie mogą tworzyć ściśle upakowanych monowarstw, ponieważ są nachylone w stosunku do aktywowanej powierzchni polimeru.”

Jest to przykładowy cytat, ponieważ ta kwestia pojawia się w wielu miejscach rozprawy. Brakuje mi jednak oceny Autorki, czy to dobrze, czy źle? Czy chcemy na biomateriale mieć warstwę mniej lub bardziej upakowaną? Bo przecież zależy to od eksperymentatora i od doboru lipidów.

Ocena osiągnięć naukowych doktorantki

Zgodnie z przedstawionym na końcu rozprawy wykazem Pani mgr Klaudia Szafran jest współautorką 15 publikacji naukowych, z czego 9 ukazało się w indeksowanych czasopismach o międzynarodowym obiegu. Zgodnie z wykazem praca doktorska oparta jest na 11 współautorskich publikacjach, z czego olbrzymia większość wyników przedstawiona jest w pięciu artykułach: Langmuir 37 (2021) 5601-5616, J. Phys. Chem. B 126 (2022) 6936-6947, Colloids Surfaces A 652 (2022) 129843, Pharmaceutics, 14 (2022) 2815 i praca wysłana do Molecules. Sumaryczny współczynnik oddziaływania IF tych pięciu prac to 24,8, co daje średnio 4,95 na jedną pracę i jest wynikiem bardzo dobrym. Sumaryczny IF wszystkich prac, w których Pani mgr Klaudia Szafran jest współautorem wynosi około 48, co jest wynikiem wybitnym biorąc pod uwagę oceniany etap kariery naukowej. Doktorantka jest również współautorką pracy przeglądowej opublikowanej w prestiżowym czasopiśmie Advances in Colloid and Interface Science o współczynniku IF 15,19 i 200 punktach ministerialnych. Doktorantka jest również współautorką pięciu rozdziałów w monografiach naukowych. Pani mgr Klaudia Szafran aktywnie uczestniczyła w licznych międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych, zarówno przedstawiając wystąpienia ustne jak i postery. Podczas studiów doktoranckich odbyła półroczny staż naukowy w Katedrze Chemii Fizycznej Uniwersytetu w Saragossie. Ponadto Pani mgr Klaudia Szafran odznaczała się znaczną aktywnością organizacyjną w ramach macierzystej uczelni.

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Podsumowanie

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Klaudii Szafran spełnia wszystkie wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z (Dz. U. 2018, poz. 1668 z późn. zm.). Wnioskuje zatem do Rady Naukowej Instytutu Nauk Chemicznych UMCS o dopuszczenie mgr Klaudii Szafran do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoki poziom niniejszej rozprawy oraz wybitny dorobek naukowy Doktorantki, scharakteryzowany przeze mnie szczegółowo w niniejszej recenzji, wnioskuje do Rady Naukowej Instytutu Nauk Chemicznych UMCS o wyróżnienie recenzowanej rozprawy doktorskiej mgr Klaudii Szafran.

Wydział Chemii

Marcin Broniatowski

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl