

Prof. dr hab. Krzysztof Szczubiałka  
Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii  
Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii  
Gronostajowa 2, 30-387 Kraków  
E-mail: [szczubia@chemia.uj.edu.pl](mailto:szczubia@chemia.uj.edu.pl)  
Tel. 12 686 2535

Kraków, 24 maja 2021

**Recenzja dorobku naukowego i rozprawy habilitacyjnej**  
**Pana Dr inż. Marka Brzezińskiego**  
**pt. „Mikro- i nanocząstki polilaktydowe jako potencjalne nośniki leków w**  
**terapiach przeciwnowotworowych”**

Przedmiotem niniejszej recenzji jest dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny Pana Dr inż. Marka Brzezińskiego. Podstawą sporządzenia recenzji była uchwała Rady Naukowej Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych (CBMiM) Polskiej Akademii Nauk w Łodzi powołująca mnie na recenzenta w postępowaniu habilitacyjnym Pana Dr inż. Marka Brzezińskiego, o której zostałem poinformowany w piśmie CBMiM z dnia 25 marca 2021 oraz kompletna dokumentacja habilitacyjna.

**Informacje ogólne o Habilitancie**

Pan Dr inż. Marek Brzeziński ukończył studia magisterskie w roku 2008 na Wydziale Chemii Politechniki Łódzkiej. Pracę magisterską pt. „Badanie produktów utleniania 3,4-propylenodioksytiofenu (PRODOT) i 3,4-dimetoksytiofenu (DMT) techniką radiolizy niskotemperaturowych szkliv organicznych” wykonał pod kierownictwem Pana Prof. dr hab. Andrzeja Marcinka. W roku 2014 Kandydat obronił pracę doktorską pt. „Modyfikowane polilaktydy zdolne do samoorganizacji. Synteza i właściwości” wykonaną pod kierunkiem Pana Dr hab. Tadeusza Bieli, prof. CBMiM.

Podczas studiów doktoranckich Kandydat został zatrudniony początkowo jako chemik, potem jako asystent w Zakładzie Chemii Polimerów CBMiM Polskiej Akademii Nauk w Łodzi.

W latach 2015-2017 Kandydat w ramach prestiżowego stypendium Humboldta odbył staż podoktorski w Wolnym Uniwersytecie Berlińskim, gdzie pod kierunkiem prof. Sebastiana Seifferta i prof. Marcelo Calderóna pracował nad mikrożelowymi kapsułami polimerowymi.

Po powrocie ze stażu podoktorskiego Habilitant został zatrudniony jako adiunkt w Zespole Polimerów Reaktywnych i Supramolekularnych CBMiM, gdzie pracuje do chwili obecnej.

### **Omówienie dorobku naukowego Habilitanta przedstawionego w publikacjach habilitacyjnych**

Zainteresowania naukowe Habilitanta koncentrują się wokół syntezy nano- i mikrocząstek polilaktydowych, w szczególności mogących znaleźć zastosowanie do dostarczania substancji stosowanych w terapii antynowotworowej. Bazowym materiałem zastosowanym przez Habilitanta był polilaktyd (PLA), polimer znany i badany od wielu lat, ale nadal niezwykle atrakcyjny ze względu na swoje liczne zalety (m.in. biogodność, biodegradowalność, niska cena), otwierające przed nim wiele zastosowań biomedycznych. Habilitant w sposób bardzo twórczy i innowacyjny wykorzystał ten polimer do otrzymania różnorodnych struktur polimerowych: nanocząstek, mikrosfer, mikrokapsuł i miceli utworzonych przez polimery gwiaździste. Do ich syntezy Habilitant używał głównie metod mikroprzepływowych i (nano)wytrącania. Aby nadać badanym polilaktydom zdolność do samoorganizacji i/lub oczekiwane właściwości biologiczne Habilitant wykorzystał cały wachlarz metod, od zastosowania zjawiska stereokompleksowania zachodzącego pomiędzy łańcuchami polilaktydów otrzymanych z izomerów L i D, po funkcjonalizację jednego lub dwóch końców łańcuchów polimerowych odpowiednimi grupami funkcyjnymi (ureido-[2]-pirymidynonowymi, terpirydynowymi, hydroksyprolinowymi i cyklodekstrynowymi). Samoorganizacja otrzymanych polimerów oparta była więc na wiązaniach wodorowych, wiązaniach koordynacyjnych metal-ligand i kompleksowaniu typu gość-gospodarz. W niektórych układach Habilitant zastosował ciekawe kombinacje tych oddziaływań, np. połączenie stereokompleksowania z kompleksowaniem koordynacyjnym przez grupy terpirydynowe i wiązaniem wodorowym pomiędzy grupami ureido-[2]-pirymidynonowymi. Habilitant badał uwalnianie z otrzymanych agregatów zarówno substancji modelowych ((S)-(+)-4-(3-amino-pirolidino)-7-nitrobenzofurazan (NBD), czerwień nilowa), jak i doksorubicyny

(DOX), powszechnie stosowanego leku przeciwnowotworowego. Stosując różne metody ich otrzymywania, funkcjonalizację polilaktydu różnymi grupami na jednym lub obu końcach łańcucha polimerowego i różne kombinacje oddziaływań stabilizujących otrzymane agregaty Habilitant uzyskał kontrolę nad profilem uwalniania doksorubicyny oraz uzyskał bardzo ciekawe i ważne efekty. Wykazał bowiem zwiększenie toksyczności doksorubicyny uwalnianej z nanocząstek polilaktydowych względem odpornych na nią komórek raka szyjki macicy HeLa i KB-V1 w porównaniu z wolną doksorubicyną (publikacja H4). Zaobserwował również (publikacja H5) zwiększenie toksyczności doksorubicyny uwalnianej z miceli polilaktydowych z rdzeniem cyklodekstrynowym w porównaniu z wolną doksorubicyną wobec komórek HeLa (w przypadku komórek białaczki K562 efekt ten nie jest już tak oczywisty ze względu na dość duży błąd pomiarowy).

Godnym zauważenia jest fakt, że Habilitant swobodnie porusza się w zastosowaniach technik mikrofluidalnych. Jest to technika o ogromnych możliwościach praktycznych, bardzo intensywnie rozwijana na świecie. Mam nadzieję, że Habilitant będzie ją nadal stosował i rozwijał w swojej dalszej pracy naukowej, zwłaszcza że w Polsce nie ma zbyt wielu grup naukowych zajmujących się mikrofluidyką.

W trakcie lektury autoreferatu nasunęły mi się jednakże pewne komentarze i wątpliwości, zarówno dotyczące stosowanej przez Habilitanta nomenklatury, jak i merytoryczne. Pan Marek Brzeziński w autoreferacie kilkakrotnie użył określenia „grupy ureido-[2]-pirydynowe”, podczas gdy w rzeczywistości są to grupy „ureido-[2]-pirymidynonowe”. Pirydyna i pirymidynon to jednak dwa różne, choć obydwa zawierające azot heterocykliczne związki. Podobna uwaga dotyczy publikacji H6, opisującej polilaktydy funkcjonalizowane raczej hydroksyproliną, a nie proliną. Co prawda hydroksyprolina powstaje z proliny w procesie posttranslacyjnej enzymatycznej modyfikacji, niemniej jednak jest to odrębny aminokwas, posiadający swoje skróty jedno- i trzyliterowy, nadający białku specyficzne właściwości, więc nie powinien być traktowany jedynie jako pochodna proliny (analogicznie jak tyrozyna nie powinna być nazywana hydroksyfenyloalaniną). Również termin „puste w środku” kapsuły budzi moje zastrzeżenia. Kapsuły te nie są przecież puste, lecz wypełnione gazem. Pewnym usprawiedliwieniem użycia przez Habilitanta tego terminu jest jednak jego dość powszechne występowanie w literaturze, choć istnieje również bardziej poprawne, lecz nieco mniej powszechne, określenie „gas-filled microcapsules”. Po trzecie, IC50 to nie „połowa maksymalnego stężenia hamującego (IC50)”, lecz stężenie hamujące wzrost 50% komórek. Co do uwag merytorycznych - obawiam się, że na podstawie faktu, że mikrokapuśki opisane w publikacji H2 rozpadają się w 1 M roztworze NaOH nie można

wnioskować, że będą się też rozpadały w dwunastnicy i dalszych odcinkach jelita, gdyż pH które tam panuje jest bardzo słabo zasadowe – nie przekracza 8-8,5. Mam też wątpliwości co do celowości stosowania toksycznych jonów  $\text{Co}^{2+}$  i  $\text{Ni}^{2+}$  do sieciowania mikrosfer mających w założeniu dostarczać lek. Z kolei uwalnianie doksorubicyny opisane w publikacji H6 było badane tylko przez 100 h - byłoby bardzo interesujące zbadać jaki jest późniejszy jego przebieg. Uwagi te mają w większości charakter polemiczny i nie wpływają w żaden sposób na moją wysoką ocenę jakości naukowej badań Habilitanta.

### **Dorobek publikacyjny Habilitanta**

Podstawą rozprawy habilitacyjnej jest cykl 8 publikacji w czasopismach z listy filadelfijskiej, z czego 6 dotyczy badań oryginalnych, a 2 to prace przeglądowe. Swój udział w tych publikacjach, w porozumieniu z pozostałymi współautorami, Habilitant ocenił na 45% (1 publikacja), 50% (4 publikacje), 60% (1 publikacja) i 70% (1 publikacja). Jest to w ogromnej większości wkład znacznie większy niż proporcjonalny do liczby autorów i świadczący o wiodącej roli Habilitanta w powstaniu tych publikacji. Rola Habilitanta w pracach oryginalnych dotyczyła wszystkich etapów powstawania publikacji tj. pracy koncepcyjnej, eksperymentalnej i opracowania manuskryptu. Wśród prac habilitacyjnych znajduje się również rzadko spotykana w chemii publikacja monoautorska świadcząca o samodzielności i dojrzałości naukowej Habilitanta.

W dokumentacji habilitacyjnej złożonej w październiku 2020 Pan dr inż. Marek Brzeziński deklaruje dorobek składający się z 28 publikacji cytowanych 392 razy (w tym 89 autocytowanych) oraz indeks Hirscha równy 10. Według bazy Scopus od momentu złożenia dokumentacji habilitacyjnej do dnia 24 maja 2021 Jego dorobek wzbogacił się o kolejne 4 publikacje, indeks Hirscha wzrósł do 12, a liczba cytowań do 497 (według bazy Web of Science do 490), z czego aż 87 dotyczy publikacji w *Macromolecules*, nie włączanej co prawda do prac habilitacyjnych, ale również związanej z polilaktydami i ich stereokompleksami. Dynamiczny wzrost liczby publikacji i ich cytowań wskazuje na utrzymujący się szybki rozwój naukowy Habilitanta.

Współczynnik IF prac habilitacyjnych Kandydata waha się od 2.4 do 4.4. Wartości te na pierwszy rzut oka mogą wydawać się niewysokie. Należy jednakże wziąć pod uwagę fakt, że czasopisma naukowe związane z tematyką rozwijaną przez Habilitanta ogólnie mają relatywnie niskie wartości współczynnika IF, np. w przypadku prestiżowego czasopisma *ACS Langmuir* wynosi on zaledwie 3,6. Ponadto wśród pozostałych publikacji są dwie, które ukazały się w *Macromolecules* (IF 5,9), jedna publikacja w *Progress in Polymer Science* (IF

24,52), a niedawno ukazała się publikacja w Carbohydrate Polymers (IF 7,2). Habilitant jest również współautorem (wraz z prof. Biela) rozdziału „Stereocomplex poly lactides” w monograficznym dziele „Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials” wydanym przez renomowane wydawnictwo Springer. Dorobek publikacyjny Habilitanta można więc uznać za całkowicie wystarczający, by uznać go za aktywnego i samodzielnego naukowca, prowadzącego badania na światowym poziomie.

### **Projekty badawcze**

Habilitant uczestniczył w kilku projektach badawczych, w tym w dwóch jako kierownik projektu, tj. w projekcie badawczym finansowanym przez Fundację Alexandra von Humboldta oraz w projekcie NCN Sonata 12. W pozostałych dwóch grantach (projekt OPUS NCN i projekt POIG NCBiR) uczestniczył odpowiednio jako główny wykonawca i wykonawca. Ponadto kierował 3 grantami dla młodych naukowców przyznanymi przez CBMiM. Działalność ta świadczy o zdolności Habilitanta do aktywnego pozyskiwania środków finansowych koniecznych do prowadzenia swoich badań oraz o umiejętności współpracy w ramach zespołów projektowych.

### **Staż zagraniczne i współpraca międzynarodowa**

W roku 2014 Habilitant odbył 3 miesięczny staż finansowany przez European Science Foundation w zespole Prof. Sebastiana Seifferta (h-index 31) w Wolnym Uniwersytecie Berlińskim. W latach 2015-2017 w ramach prestiżowego stypendium Humboldta Kandydat odbył dwuletni staż podoktorski również w zespole Prof. Sebastiana Seifferta, pracując ponadto pod opieką Prof. Marcelo Calderóna (h-index 32). Współpraca z prof. Seiffertem zaowocowała dwiema publikacjami habilitacyjnymi (H1 i H3), natomiast z Prof. Calderónem trzema publikacjami habilitacyjnymi (H3, H4 i H6). Należy więc uznać, że Habilitantowi udało się nawiązać współpracę z naukowcami zagranicznymi o dużym dorobku naukowym i że ta współpraca jest niewątpliwie korzystna dla Jego rozwoju naukowego. Kandydat współpracuje również z Dr Martinem Danko ze Słowackiej Akademii Nauk w Bratysławie (1 publikacja). Wśród autorów publikacji Habilitanta występują również inni naukowcy ze Słowackiej Akademii Nauk w Bratysławie, a w publikacji, która ukazała się już w 2021, Habilitant jest jedynym polskim autorem w indyjsko-chińskim zespole naukowców. Kandydat odbył również dwa krótkoterminowe staże, jeden w zespole prof. Philippe Dubois, światowej sławy specjalisty w dziedzinie chemii polimerów i materiałów z University of Mons, drugi natomiast w zespole prof. Jaroslava Mosnáčka ze Słowackiej Akademii Nauk w Bratysławie.

### **Inne osiągnięcia naukowe**

Habilitant był edytorem specjalnego wydania czasopisma *Molecules* pod tytułem: "Polylactide-Based Materials: Synthesis and Biomedical Applications". Był też recenzentem ponad 40 artykułów naukowych przesłanych do wielu czasopism z dziedziny chemii polimerów i materiałów, w tym w *Small* i *Carbohydrate Polymers*.

### **Osiągnięcia dydaktyczne Habilitanta**

Habilitant był opiekunem czterech prac magisterskich (prowadzonych w ramach współpracy z Uniwersytetem Łódzkim), a obecnie jest promotorem pomocniczym pracy doktorskiej. W jej ocenie należy wziąć pod uwagę fakt, że jednostką macierzystą jest Habilitanta instytucja PAN, a nie uniwersytet czy politechnika, gdzie wykazanie się aktywnością dydaktyczną jest dużo łatwiejsze, a nawet nieuniknione. Działalność dydaktyczną Habilitanta oceniam jako wystarczającą do zdobycia doświadczenia dydaktycznego niezbędnego samodzielnemu naukowcowi.

### **Osiągnięcia organizacyjne**

Habilitant pracował w Komitecie organizacyjnym konferencji „Polymer for Advanced Technologies”, która odbyła się w 2011 w Łodzi.

### **Inne osiągnięcia Habilitanta**

W 2020 roku Habilitant został wyróżniony stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców. Habilitant ma również liczący się sukces na polu popularyzacji nauki – ciekawe wyniki dotyczące zwiększonej toksyczności doksorubicyny uwalnianej z nanocząstek polilaktydowych zostały opisane na stronie internetowej *Material Today News* pod tytułem „Trojan horse” nanoparticles transfer drugs into cells”.

### **Wnioski końcowe**

Podsumowując osiągnięcia naukowe i dydaktyczne Habilitanta opisane w przedstawionej mi dokumentacji, w szczególności w zbiorze publikacji stanowiących osiągnięcia habilitacyjne Kandydata, stwierdzam, że spełniają one wszystkie ustawowe wymagania stawiane osobom aplikującym o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Kandydat udowodnił, że jest świetnym ekspertem w dziedzinie chemii polimerów, w szczególności polilaktydów, a Jego interdyscyplinarne badania wniosły istotny wkład w rozwój tej dziedziny

nauki. Zawierają one wiele elementów nowości naukowej. Co również istotne, materiały, które Habilitant otrzymał i zbadał, posiadają duży potencjał aplikacyjny. Kandydat potrafi nawiązywać owocną współpracę w kraju i za granicą i jest w pełni ukształtowanym samodzielnym badaczem. Biorąc pod uwagę powyższe wnoszę o dopuszczenie Pana Dr inż. Marka Brzezińskiego do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.