



Poznań, 5.08.2026 r.

RECENZJA

pracy doktorskiej Pani mgr inż. Agaty Kowalskiej

p.t.: „**Synteza, charakterystyka i ocena potencjału aplikacyjnego nanostruktur rdzeń-powłoka Au@SiO₂ jako wielofunkcyjnych platform do dostarczania substancji biologicznie aktywnych**”

przygotowanej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego
pod kierunkiem Promotora pracy dr hab. Beaty Grobelnej, prof. UG
oraz Promotora pomocniczego dr Elżbiety Adamskiej

Współczesna farmakoterapia, pomimo dysponowania licznymi substancjami czynnymi o potwierdzonym działaniu, nadal mierzy się z problemami ograniczonej rozpuszczalności i stabilności substancji aktywnych, ich niewystarczającej biodostępności, niekorzystnej biodystrybucji oraz toksyczności ogólnoustrojowej. Jednym z intensywnie rozwijanych sposobów rozwiązania tych problemów jest projektowanie nanometrycznych systemów dostarczania substancji biologicznie aktywnych. Szczególnie interesującą grupę stanowią nanostruktury typu rdzeń-powłoka, których „modularna” budowa umożliwia połączenie właściwości odmiennych materiałów w jednym układzie oraz niezależne kształtowanie funkcji rdzenia i powierzchni. Zastosowanie rdzenia składającego się z cząstek złota i krzemionkowej powłoki jest w tym kontekście uzasadnione zarówno korzystnymi właściwościami optycznymi i powierzchniowymi nanocząstek złota, jak i stabilnością, hydrofilowością, biogodnością oraz podatnością na funkcjonalizację krzemionki. Tematyka rozprawy Pani mgr inż. Agaty Kowalskiej jest zatem aktualna, interdyscyplinarna i ważna zarówno z poznawczego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia.

Recenzowana praca doktorska została wykonana w Katedrze Chemii Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem dr hab. Beaty Grobelnej, prof. UG, której dorobek obejmuje projektowanie, syntezę, modyfikację powierzchniową i charakterystykę funkcjonalnych nanomateriałów. Należy podkreślić, że Pani Profesor zapewniła Doktorantce bardzo dobre wsparcie merytoryczne, widoczne w spójnej koncepcji badań oraz szerokim i właściwie dobranym zakresie zastosowanych metod. Wysoki poziom naukowy dysertacji oraz publikacja wyników w renomowanych czasopismach potwierdzają

umiejętne ukierunkowanie rozwoju Doktorantki. Na szczególne uznanie zasługuje stworzenie warunków do realizacji interdyscyplinarnych badań łączących chemię materiałową, nanotechnologię, analitykę i ocenę biologiczną. Promotorem pomocniczym rozprawy jest dr Elżbieta Adamska, współautorka wszystkich trzech publikacji stanowiących podstawę dysertacji. Zakres jej udziału, obejmujący między innymi współtworzenie koncepcji, nadzór, przygotowanie i charakterystykę hydrożeli oraz współudział w opracowaniu publikacji, potwierdza właściwie realizowaną funkcję promotora pomocniczego.

Rozprawa doktorska ma postać spójnego tematycznie zbioru trzech publikacji naukowych opublikowanych w latach 2025–2026 w czasopismach: „Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine”, „Dalton Transactions” oraz „Scientific Reports”. Wszystkie artykuły uzyskały po 140 punktów według wykazu ministerialnego, a ich łączny współczynnik wpływu, według danych podanych w rozprawie, wynosi 11,81. Pani mgr inż. Agata Kowalska jest pierwszą autorką każdej z prac. Deklaracje wkładu autorskiego wskazują na jej wiodącą rolę w opracowaniu koncepcji badań, metodyki, syntezy i charakterystyce nanostruktur oraz koniugatów, analizie danych, wizualizacji wyników i przygotowaniu pierwotnych wersji manuskryptów. Doktorantka pozyskała ponadto finansowanie na realizację badań, między innymi jako kierownik projektu UGrants-start 5 oraz trzech projektów wspierających rozwój młodych naukowców. Tak szeroki zakres odpowiedzialności jednoznacznie potwierdza jej samodzielność naukową.

Należy również podkreślić, że dorobek Doktorantki wykracza wyraźnie poza publikacje wchodzące do cyklu. Obejmuje siedem dalszych artykułów naukowych, w tym prace pierwszoautorskie i przeglądowe, dwa rozdziały w monografiach, publikację w recenzowanych materiałach konferencyjnych, liczne wystąpienia ustne i posterowe oraz trzy zgłoszenia patentowe. Dwa zgłoszenia dotyczą bezpośrednio wyników rozprawy: koniugatu Au@SiO_2 z antybiotykiem oraz nanonośnika Au@SiO_2 z L-DOPA. Aktywność publikacyjna, patentowa, konferencyjna i projektowa Pani mgr inż. Agaty Kowalskiej jest bardzo dobra i wskazuje na konsekwentnie rozwijany, rozpoznawalny profil badawczy.

Przedłożona rozprawa liczy 78 stron (bez artykułów i oświadczeń) i została przygotowana w języku polskim. Otwierają ją streszczenia w języku polskim i angielskim, po których zamieszczono wykaz skrótów oraz część wprowadzającą. Następnie przedstawiono cel i zadania badawcze, rozbudowaną metodykę, omówienie badań własnych, podsumowanie, perspektywy dalszych badań, wykaz 76 pozycji literaturowych oraz dorobek naukowy Doktorantki. Kolejną część stanowią pełne teksty trzech publikacji oraz oświadczenia współautorów. Układ pracy jest logiczny i pozwala śledzić rozwój koncepcji od syntezy podstawowego układu Au@SiO_2 , poprzez ocenę jego właściwości funkcjonalnych i sprzęganie z lekami, aż do inkorporacji nanostruktur w matryce hydrożelowe.

Część teoretyczna obejmuje zagadnienia dotyczące architektury rdzeń-powłoka, metod otrzymywania i właściwości nanocząstek złota, roli krzemionki jako materiału powłokowego, funkcjonalizacji powierzchni, immobilizacji i kontrolowanego uwalniania leków oraz zastosowania hydrożeli jako matryc dla nanostruktur. Dobór zagadnień jest prawidłowy i pozostaje w bezpośrednim związku z częścią eksperymentalną. Autorka wykazuje dobrą znajomość literatury oraz umiejętność syntetycznego przedstawienia interdyscyplinarnej problematyki obejmującej chemię materiałów, chemię powierzchni, nanomedycynę i badania biologiczne. Część ta jest napisana zasadniczo poprawnie, choć występują w niej drobne uchybienia językowe i redakcyjne, powtórzenia oraz miejscami zbyt kategoryczne sformułowania dotyczące potencjalnych zastosowań terapeutycznych, które na obecnym etapie zostały potwierdzone przede wszystkim w modelach *in vitro* lub *ex vivo*.

Głównym celem pracy było zaprojektowanie, optymalizacja syntezy i funkcjonalizacja nanostruktur Au@SiO₂, przeprowadzenie ich kompleksowej charakterystyki fizykochemicznej oraz ocena możliwości wykorzystania nanostruktur jako uniwersalnej platformy do immobilizacji i kontrolowanego uwalniania substancji biologicznie aktywnych. Cel ten uzupełniono o inkorporację nanostruktur do hydrożeli na bazie kwasu hialuronowego i hydroksyetylocelulozy. Zadania badawcze zostały sformułowane jasno i obejmują pełny ciąg prac: od otrzymania nanocząstek Au i SiO₂, poprzez budowę oraz funkcjonalizację układu rdzeń-powłoka, aż do oceny jego właściwości nośnikowych i aplikacyjnych.

Na szczególne uznanie zasługuje rozbudowany i komplementarny warsztat badawczy. Do charakterystyki materiałów wykorzystano między innymi metody: (i) mikroskopowe do oceny morfologii i struktury nanomateriałów (TEM, SEM), (ii) określania właściwości koloidalnych (DLS – wyznaczanie rozmiaru hydrodynamicznego i polidispersyjności cząstek; ELS – pomiar potencjału zeta), (iii) spektroskopowe (UV-Vis – analiza właściwości optycznych i potwierdzenie obecności nanocząstek złota; FT-IR – identyfikacja grup funkcyjnych i ocena składu chemicznego powierzchni), (iv) analizy termicznej (TGA/DTG – ocena stabilności termicznej oraz zmian masy materiału w funkcji temperatury) oraz (v) oceny właściwości powierzchniowych: pomiary kąta zwilżania – określenie hydrofilowości lub hydrofobowości powierzchni. Właściwości funkcjonalne oceniano za pomocą badań przenikalności w komorach Franza, testów cytotoksyczności, analiz antyoksydacyjnych, badań oddziaływania z DNA techniką switchSENS, testów aktywności przeciwdrobnoustrojowej, pomiarów homeostazy oksydoredukcyjnej oraz badań immunologicznych. W przypadku hydrożeli przeprowadzono także pomiary nawilżenia i przesnaskórkowej utraty wody na modelu skóry wieprzowej. Zestawienie metod fizykochemicznych, biologicznych i aplikacyjnych jest mocną

stroną rozprawy i świadczy o umiejętności prowadzenia złożonych badań na pograniczu kilku specjalności.

Badania własne zostały podzielone na cztery wzajemnie uzupełniające się etapy. W pierwszym opracowano procedurę otrzymywania nanostruktur Au@SiO₂ z wykorzystaniem redukcji chemicznej i procesu zol-żel. Obrazy TEM potwierdziły uzyskanie dobrze zdefiniowanej architektury rdzeń-powłoka, z rdzeniem złotym o średnicy około 20 nm i powłoką krzemionkową o grubości około 30–40 nm. Po powleczeniu średnica hydrodynamiczna wzrosła do około 100–140 nm, a wartości potencjału zeta w zakresie od –30 do –35 mV wskazywały na dobrą stabilność koloidalną. Wyniki spektroskopii FT-IR, UV-Vis, analiz termicznych i pomiarów kąta zwilżania potwierdziły obecność krzemionkowej powłoki, zachowanie właściwości plazmonowych rdzenia oraz wysoką hydrofilowość powierzchni.

W drugim etapie oceniono właściwości funkcjonalne bazowych nanostruktur. W komorze Franza nie wykryto nanostruktur w fazie akceptorowej powyżej wyznaczonej granicy oznaczalności, co wskazuje na ich ograniczoną zdolność przechodzenia przez zastosowany model bariery skórnej. Badania na liniach HaCaT i HDF wykazały korzystny profil biogodności, a powłoka krzemionkowa ograniczała bezpośrednie oddziaływanie metalicznego rdzenia ze środowiskiem biologicznym. Zaobserwowano zależny od czasu wzrost aktywności antyoksydacyjnej oraz brak istotnego oddziaływania Au@SiO₂ z DNA, podczas gdy niepowlekanе nanocząstki złota tworzyły stabilne addukty z dwuniciowym DNA. Uzupełniające, nieopublikowane jeszcze badania PBMC wskazują także na brak silnej odpowiedzi prozapalnej. Wyniki te tworzą spójny obraz materiału o dobrym profilu bezpieczeństwa na etapie badań przedklinicznych.

Trzeci etap obejmował immobilizację amoksycyliny, mupirocyny i L-DOPA. Wykazano, że powłoka krzemionkowa umożliwia wiązanie związków o odmiennych właściwościach fizykochemicznych. Dla amoksycyliny uzyskano uwolnienie około 50% leku po siedmiu dniach, natomiast dla hydrofobowej mupirocyny (MUP) około 11,5%, co wskazuje na silniejsze oddziaływanie tego związku z nośnikiem i wyraźnie wydłużony profil uwalniania. Najbardziej przekonujące wyniki biologiczne uzyskano dla układu Au@SiO₂/MUP, który zachował aktywność przeciwdrobnoustrojową mupirocyny i ograniczał powstawanie kolonii satelitarnych. W przypadku amoksycyliny efekt nośnika nie był jednoznacznie korzystny, dlatego interpretacja wyników tego układu wymaga większej ostrożności. Dla L-DOPA uzyskano wprawdzie niewielką wydajność załadunku, wynoszącą około 3%, lecz wykazano kontrolowane uwalnianie, możliwość dalszego spowolnienia procesu przez modyfikację PVP oraz korzystny wpływ układu na wybrane markery stresu oksydacyjnego w komórkach SH-SY5Y.

W ostatnim etapie nanostruktury Au@SiO₂ inkorporowano do hydrożeli HA i HEC (na bazie kwasu hialuronowego oraz hydroksyetylocelulozy). Analizy SEM, pomiary zwilżalności

i badania termiczne wykazały, że rodzaj polimeru wpływa na dystrybucję nanostruktur, mikrostrukturę, właściwości powierzchniowe i stabilność układu. Najkorzystniejsze wyniki aplikacyjne uzyskano dla hydrożelu na bazie kwasu hialuronowego, w którym wprowadzenie Au@SiO_2 zwiększało nawilżenie modelowej skóry i ograniczało TEWL. Wykazano także możliwość modulowania kinetyki uwalniania nanostruktur poprzez dobór matrycy polimerowej. Należy jednak zaznaczyć, że doświadczenia te dotyczyły uwalniania samych nanostruktur, a nie nanostruktur uprzednio załadowanych lekiem. Z punktu widzenia pełnego potwierdzenia koncepcji podwójnego systemu „lek–nanonośnik–hydrożel” celowe byłoby zatem wykonanie kolejnych badań z koniugatami Au@SiO_2 /substancja aktywna.

Do najważniejszych osiągnięć i nowatorskich aspektów rozprawy zaliczam:

- opracowanie powtarzalnej metody otrzymywania stabilnych i hydrofilowych nanostruktur Au@SiO_2 o dobrze zdefiniowanej architekturze rdzeń-powłoka;
- wykazanie, że krzemionkowa powłoka poprawia stabilność i profil bezpieczeństwa biologicznego nanocząstek złota oraz ogranicza ich bezpośrednie oddziaływanie z DNA;
- potwierdzenie możliwości immobilizacji na jednej platformie związków o zróżnicowanej budowie i hydrofilowości, w tym dwóch antybiotyków oraz L-DOPA;
- uzyskanie szczególnie obiecującego układu Au@SiO_2 /MUP o przedłużonym uwalnianiu i zachowanej aktywności przeciwdrobnoustrojowej;
- wykazanie kontrolowanego uwalniania L-DOPA i potencjalnego działania ochronnego nanosystemu w warunkach stresu oksydacyjnego, przy jednoczesnym rzetelnym wskazaniu ograniczenia wynikającego z niskiego stopnia załadunku;
- otrzymanie kompozytów hydrożelowych Au@SiO_2 /HA i Au@SiO_2 /HEC oraz wykazanie wpływu matrycy na właściwości powierzchniowe, kinetykę uwalniania i parametry bariery skórnej;
- nadanie wynikom wyraźnego wymiaru aplikacyjnego, potwierdzonego zgłoszeniami patentowymi.

Otrzymane wyniki są aktualne i wartościowe, a Doktorantka wykazała się umiejętnością prowadzenia wieloetapowych badań, integrowania danych uzyskanych różnymi technikami i współpracy ze specjalistami z zakresu chemii materiałów, mikrobiologii oraz biologii komórki. Publikacja wyników w trzech recenzowanych czasopismach o międzynarodowym

zasięgu potwierdza ich wartość naukową. Na uznanie zasługuje także właściwe wskazanie perspektyw dalszych badań, obejmujących zwiększenie pojemności nośnika, modyfikację powierzchni, zastosowanie krzemionki mezoporowatej, ocenę przechodzenia przez barierę krew–mózg, badania biodystrybucji i metabolizmu oraz optymalizację procesu z użyciem DoE i RSM (metodologii planowania eksperymentu, w szczególności metod powierzchni odpowiedzi).

Podczas publicznej obrony prosiłabym Doktorantkę o odniesienie się do następujących zagadnień:

1. W badaniu w komorze Franza brak nanostruktur w fazie akceptorowej zinterpretowano jako brak przenikania przez barierę skórną. Czy analizowano retencję nanostruktur w poszczególnych warstwach skóry oraz wykonano bilans masy pozwalający odróżnić brak penetracji od zatrzymania materiału w błonie lub adsorpcji na elementach układu?
2. Dla bazowych nanostruktur Au@SiO₂ uzyskano wyraźnie różniące się wartości aktywności antyoksydacyjnej po 168 godzinach w publikacjach P2 i P3. Jak Doktorantka wyjaśnia skalę tej różnicy i w jaki sposób kontrolowano wpływ rozpraszania światła, stabilności dyspersji oraz efektywnego stężenia nanostruktur na wynik testu DPPH?
3. Wydajność załadunku L-DOPA wyniosła około 3%. Jaka minimalna pojemność nośnika byłaby, zdaniem Doktorantki, potrzebna do uzyskania praktycznie użytecznej formulacji i która z proponowanych strategii – zastosowanie krzemionki mezoporowatej, funkcjonalizacja grupami aminowymi lub karboksylowymi czy optymalizacja pH i składu rozpuszczalnika – ma największą szansę na znaczącą poprawę tego parametru?
4. Jak Doktorantka zaprojektowałaby dalszy etap badań nad kompletnym układem lek–Au@SiO₂–hydrożel, aby ocenić jednocześnie uwalnianie leku, uwalnianie nanonośnika, stabilność formulacji i efekt biologiczny w modelu rany lub choroby skóry?

Praca została przygotowana starannie i w sposób czytelny. Autorka nie ustrzegła się drobnych błędów językowych, interpunkcyjnych i terminologicznych, które nie wpływają na wartość naukową rozprawy. Wymagałyby natomiast korekty sformułowania sugerującego pełne potwierdzenie zastosowań terapeutycznych lub całkowity brak przenikania przez skórę, podczas gdy wyniki odnoszą się do określonych modeli i granic detekcji. Są to uwagi o charakterze dyskusyjnym i redakcyjnym, które nie zmieniają mojej jednoznacznie pozytywnej i bardzo wysokiej oceny rozprawy.



Podsumowując, rozprawa doktorska Pani mgr inż. Agaty Kowalskiej stanowi spójne, oryginalne i wartościowe naukowo opracowanie. Przedmiotem pracy jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego dotyczącego projektowania wielofunkcyjnych nanostruktur Au@SiO₂ i oceny ich przydatności jako platform nośnikowych substancji biologicznie aktywnych. Doktorantka wykazała ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie nauki chemiczne, opanowanie nowoczesnego warsztatu badawczego oraz umiejętność samodzielnego planowania, prowadzenia i interpretowania badań naukowych. Wyniki mają istotne walory poznawcze i aplikacyjne, a ich znaczenie wzmacniają publikacje międzynarodowe oraz zgłoszenia patentowe.

Stwierdzam, że recenzowana rozprawa spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, z późniejszymi zmianami. Wnoszę zatem o dopuszczenie Pani mgr inż. Agaty Kowalskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dyscyplinie nauki chemiczne.

Biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy rozprawy, kompleksowość przeprowadzonych badań, wiodący wkład Doktorantki w powstanie wszystkich publikacji, wyraźny potencjał aplikacyjny uzyskanych wyników oraz ich ochronę patentową, z pełnym przekonaniem wnoszę również o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Prof. dr hab. Izabela Nowak