



UNIwersytet
Warszawski



Warszawa, dn. 5.09.2025

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Śliwińskiej, zatytułowanej
„Właściwości fizykochemiczne i aktywność biologiczna pochodnych chinolonów z
cieczkami jonowymi w postaci API-IL”**

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Śliwińskiej jest wynikiem pracy wykonanej na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej pod kierunkiem naukowym dr hab. inż. Anety Pobudkowskiej-Mireckiej, prof. uczelni.

Rozprawa doktorska składa się z 13 rozdziałów. Rozpoczyna ją przedstawienie celów pracy oraz hipotez badawczych. Kolejne rozdziały stanowią wprowadzenie do tematyki badawczej oraz przedstawienie podstaw teoretycznych. Następnie przedstawione są stosowane metody badawcze i procedury eksperymentalne oraz wyniki badań własnych. Całość kończy dyskusja, wnioski oraz podsumowanie. Bardzo dużą część pracy stanowią materiały uzupełniające, które w znacznej części mogłyby być włączone do głównego rozdziału związanego z prezentacją wyników badań własnych. Być może wyodrębnienie ich w ten sposób miało sprzyjać większej przejrzystości prezentowanego materiału. Bibliografia jest stosunkowo obszerna i zawiera 136 pozycji literaturowych. W pracy, jako oddzielne rozdziały, przedstawione zostały: wykaz skrótów, spis schematów, spis tabel oraz spis wykresów. Dodatkowo praca doktorska zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim. Całość liczy 217 stron. Dysertacja jest napisana w sposób bardzo zwięzły, choć obfituje w bogaty materiał eksperymentalny. Znacząca część wyników prezentowanych w pracy została już opublikowana. Doktorantka jest autorką 4 publikacji naukowych, które dotyczą tematyki rozprawy: i) *Journal of Chemical&Engineering Data* (**2024**, 69, 4038), ii) *International Journal of Pharmaceutics*, (**2025**, 682, 125987), iii) *Journal of Solution Chemistry* (**2022**, 51, 556), iv) *Journal of Solution Chemistry* (**2021**, 50, 652). W trzech z nich jest ona pierwszym autorem, zaś w dwóch, najbliższych związanych tematycznie z rozprawą, jest ona także autorem korespondencyjnym.

Praca doktorska dotyczy obszernych badań fizykochemicznych i biologicznych wybranych aktywnych składników farmaceutycznych (API) z wykorzystaniem

Prof. dr hab. Michał K. Cyrański
Pasteura 1
02-093 Warszawa
e-mail: mkc@chem.uw.edu.pl
Tel: 22 55 26 360

zsyntezowanych w ramach pracy cieczy jonowych (IL) jak również syntezy i badania ich soli (API-IL). Szczególny nacisk położony jest na ich rozpuszczalność, profile uwalniania, aktywność przeciwdrobnoustrojową oraz cytotoksyczność a także możliwe efekty synergiczne wynikające z połączenia tych dwóch grup związków chemicznych. Badania obejmowały analizę kalorymetryczną, wyznaczanie równowag fazowych ciało stałe - ciecz w układach dwuskładnikowych oraz stałe kwasowości. Tematyka rozprawy doktorskiej ma istotne znaczenie aplikacyjne, gdyż nakreśla nowe perspektywy badawcze w zakresie opracowywania innowacyjnych form leków, zwłaszcza dla trudno rozpuszczalnych substancji czynnych.

Pierwsza część pracy obejmuje zagadnienia dotyczące: i) rozpuszczalności farmaceutycznych substancji aktywnych, ii) metod zwiększania rozpuszczalności – poprzez tworzenie soli, modyfikację postaci krystalicznej, zastosowanie nośników, formułacji lipidowych i układów koloidalnych oraz rozdrabnianie mechaniczne, iii) charakterystyki chemioterapeutyków, iv) budowy i właściwości cieczy jonowych, v) tworzenia połączeń między substancją czynną a cieczą jonową wraz z przykładami ich właściwości fizykochemicznych i biologicznych. W pracy analizowano następujące chinolony: chlorowoderek lomeflokscyny, cynoksacynę, cyprofloksacynę, flumechinę, kwas nalidyksowy, norfloksacynę, ofloksacynę oraz sparfloksacynę. Jednak w części poświęconej charakterystyce chemioterapeutyków omówiono jedynie kwas nalidyksowy. Choć zrozumiałe jest, że część literaturowa koncentruje się na najistotniejszych aspektach pracy, warto byłoby również przedstawić właściwości pozostałych chinolonów, zwłaszcza sparfloksacyny – związku, który podobnie jak kwas nalidyksowy posłużył do tworzenia soli z cieczami jonowymi. Ponieważ w dyskusji wyników odniesiono się do rozpuszczalności poszczególnych chinolonów w kontekście ich budowy (m.in. sztywności pierścieni wynikającej z wiązań sprzężonych) oraz oddziaływań międzycząsteczkowych, wskazane byłoby również zaprezentowanie ich struktur krystalicznych. Znane są one dla cynoksacyny (*Acta Cryst.* **1985**, C41, 1825), cyprofloksacyny (*CrystalGrowth&Design* **2010**, 10, 1866), kwasu nalidyksowego (*Acta Cryst.* **1976**, B32, 600; *Acta Cryst.* **1980**, B36, 497; *Cryst. Growth&Des.* **2012**, 12, 4963 – bardzo interesująca praca poświęcona polimorfom kwasu), norfloksacyny (*Cryst. Growth&Des.* **2006**, 6, 2699; *CrystEngComm* **2012**, 14, 2520), ofloksacyny (*Cryst. Growth &Des.* **2010**, 10, 1866; *CrystEngComm.* **2012**, 14, 2520) oraz sparfloksacyny (*J. Med. Chem.* **1990**, 33, 1645). Znane są również liczne struktury kompleksów, soli oraz kokryształów, które tworzą te substancje. Podstawy teoretyczne poświęcone są i) opisowi równowag fazowych uwzględniając równania korelacyjne w oparciu o teorię stężenia lokalnego oraz ii) wyznaczaniu stałych kwasowości. Uważam, że ta część pracy jest przedstawiona zwięźle i poprawnie. Również zastosowane metody

badawcze i procedury eksperymentalne w mojej ocenie przedstawione zostały w sposób klarowny.

W ramach pracy opracowano i zoptymalizowano procedury syntezy następujących cieczy jonowych: bromku trietyloheksyloamoniowego (N6Br), bromku trietylodecyloamoniowego (N10Br), bromku trietylo-(6-hydrokseyheksylo)amoniowego (N6OHBr) oraz bromku trietylo-(10-hydroksydecylo)amoniowego (N10OHBr). Związki te posłużyły do wytworzenia soli z kwasem nalidyksowym (N6NAL, N10NAL, N6OHNAL, N10OHNAL) i sparfloksacyną (N6SPAR, N10SPAR, N6OHSPAR, N10OHSPAR) w syntezach dwuetapowych. Doktorantka zsyntezowała także sole sodowe kwasu nalidyksowego (NaNAL) oraz sparfloksacyny (NaSPAR). Układy te poddano analizom fizykochemicznym i biologicznym, w tym kalorymetrycznym z użyciem różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), co pozwoliło wyznaczyć temperatury i entalpie przemian fazowych. Układy chinolonowe charakteryzowały się wysokimi temperaturami topnienia, znacznie wyższymi niż cieczy jonowych. Sole API miały niższe temperatury topnienia niż odpowiadające im niemodyfikowane chinolony, ale wyższe niż amoniowe ciecze jonowe. Różnice te zinterpretowano w oparciu o budowę elektronową związków, ich elastyczność, oddziaływania międzycząsteczkowe oraz uporządkowanie strukturalne. W niektórych przypadkach topnieniu towarzyszył rozkład termiczny, co utrudniało dokładne określenie entalpii topnienia i ocenę odwracalności przemian. W dyskusji wyników doktorantka analizuje produkty rozkładu (np. schemat 8), jednak nie wspomniała o wykonaniu analiz termogravimetrycznych, co rodzi pytanie o podstawę przeprowadzonej interpretacji. Termogramy norfloksacyny i sparfloksacyny wykazały również przemiany inne niż typowe topnienie, sugerując obecność przemian polimorficznych zachodzących pod wpływem ogrzewania. W przypadku norfloksacyny zidentyfikowano znaną odmianę polimorficzną. Wyniki te są bardzo interesujące z punktu widzenia poznawczego. Szczególnie istotna jest część poświęcona wyznaczaniu równowag fazowych ciało stałe/ciecz dla wszystkich analizowanych układów w wodzie i alkoholach, przeprowadzona przez doktorantkę metodami dynamiczną (dynamiczno-wizualną) oraz spektrofotometryczną. Chinolony wykazują niską rozpuszczalność w wodzie i alkoholach, natomiast ciecze jonowe cechuje wysoka rozpuszczalność, szczególnie w wodzie. Modyfikacja chinolonów poprzez tworzenie soli z amoniowymi cieczami jonowymi (API-IL) znacząco zwiększyła ich rozpuszczalność – nawet do 10 000 razy w wodzie, 300 razy w etanolu i 150 razy w 1-oktanolu dla związków pozbawionych grup hydroksylowych. Z kolei API-IL zawierające grupy hydroksylowe wykazywały średnio ponad 20-krotny wzrost rozpuszczalności we wszystkich rozpuszczalnikach, przewyższając również rozpuszczalność soli sodowych. Są to wyniki o dużym znaczeniu aplikacyjnym, wskazujące na potencjał soli API-IL jako obiecującej alternatywy w formulacjach leków nowej generacji, zwłaszcza tam, gdzie dotychczasowe

metody zwiększania rozpuszczalności są niewystarczające. W tym kontekście budzi jednak ciekawość, dlaczego badaniom poddano wyłącznie sole API-IL z kwasem nalidyksowym i sparfloksacyną. Rozumiem, że wybrano chinolony o najniższej rozpuszczalności, niemniej cynoksacyna i ciprofloksacyna mają rozpuszczalność niższą niż sparfloksacyna (wykresy 55–56). Można przypuszczać, że sole tych związków będą przedmiotem dalszych badań w przyszłości. Kolejny etap analiz obejmował wyznaczenie stałych kwasowości substancji czynnych API w dwóch temperaturach: 298,2 K (laboratoryjnej) i 310,2 K (fizjologicznej). Uzyskane dane są istotne, jednak zastanawia brak wyników dla kwasu nalidyksowego i sparfloksacyny. Następnie badano profile uwalniania. W celu charakterystyki próbek lipidowych faz kubicznych zawierających układy chinolonowe zastosowano technikę rozpraszania rentgenowskiego pod małymi kątami (SAXS) oraz woltamperometrię pulsową różnicową (DPV) do określenia profili uwalniania substancji czynnych. Dobór modyfikacji strukturalnych API-IL, takich jak długość łańcucha alkilowego czy obecność grupy hydroksylowej, pozwalał modulować właściwości lipidowych faz ciekłokrystalicznych, wpływając na retencję i szybkość uwalniania substancji czynnej, a tym samym na profil farmakokinetyczny leku. Szkoda, że analizę ograniczono jedynie do sparfloksacyny i jej soli z cieczami jonowymi jako układów modelowych. Jaki był powód braku uwzględnienia w analizie soli sodowej sparfloksacyny? Metodologia badawcza jest bardzo interesująca i warto byłoby ją zastosować również do innych układów. Dopełnieniem badań były testy biologiczne obejmujące aktywność przeciwdrobnoustrojową oraz cytotoksyczność. Przeprowadzono je dla soli kwasu nalidyksowego i sparfloksacyny z cieczami jonowymi, ich klasycznych soli sodowych oraz dla samych cieczy jonowych. Stwierdzono, że amoniowe ciecze jonowe wykazują niską aktywność przeciwbakteryjną wobec trzech szczepów: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus*, natomiast aktywność API-IL wynika z obecności farmaceutycznego składnika aktywnego. Połączenie go z przeciwnem o znanej aktywności biologicznej może prowadzić do efektów synergistycznych, zwiększając działanie przeciwdrobnoustrojowe. Badania cytotoksyczności wykazały niewielki wpływ badanych substancji na przeżywalność komórek linii *Vero*, choć zaobserwowano, że wydłużenie łańcucha bocznego kationu IL zwiększa cytotoksyczność, prawdopodobnie w wyniku silniejszych interakcji z błonami komórkowymi. Są to istotne analizy wskazujące na duży potencjał aplikacyjny tego typu układów.

Rozprawa doktorska przygotowana została niezwykle starannie i to zarówno pod względem edytorskim jak i graficznym, co wystawia bardzo dobre świadectwo osobowości doktorantce. Dodatkowo przedstawione analizy, choć z dużą ilością szczegółów są opisane poprawnym językiem naukowym. Zwyczajowo recenzenci w swoich opiniach wskazują drobne niedociągnięcia w tekście. W omawianej pracy takich przypadków jest jednak stosunkowo niewiele. Przykładem są: błąd w strukturze chlorowodoru lomefloksacyny

na schemacie 7 (brak jednego wiązania podwójnego), literówki na stronach 21 („zwiększa” zamiast „większa”) i 55 („wykresie” zamiast „wykres”), brak kropki na stronie 25 (15 linijka) oraz brak wskazania, do czego odnosi się odnośnik pod Tabelą 1. Te drobne niedociągnięcia w żaden sposób nie umniejszają wysokiej wartości recenzowanej dysertacji. Uważam, że wyniki uzyskane przez doktorantkę stanowią istotny wkład w rozwój chemii, w szczególności fizycznej chemii organicznej, i są inspiracją do prowadzenia dalszych badań.

Podsumowując, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Śliwińskiej zawiera istotne elementy nowości naukowej. Doktorantka jasno sformułowała problem badawczy, wykazała się szeroką wiedzą w zakresie prezentowanej tematyki oraz wysokim poziomem warsztatu badawczego. Uzyskane przez nią wyniki stanowią znaczący wkład w rozwój chemii, w szczególności fizycznej chemii organicznej układów złożonych z cieczy jonowych i związków aktywnych farmaceutycznie, i są inspiracją do dalszych badań. Tematyka pracy jest bardzo ciekawa i posiada duży potencjał aplikacyjny. W mojej ocenie praca doktorska mgr inż. Agnieszki Śliwińskiej spełnia wymagania formalne określone w obowiązującej ustawie (Dz. U. 2024 poz. 1571 z późn. zm.). W związku z tym wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Warszawskiej o dopuszczenie doktorantki do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.



Michał K. Cyrański