

OCENA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Adriany Olejniczak

pt. „*Projektowanie, synteza i właściwości farmakologicznie aktywnych soli organicznych zawierających jony występujące w przyrodzie*”

Przedłożona do oceny praca doktorska została wykonana przez mgr inż. Adrianę Olejniczk w Instytucie Technologii i Inżynierii Chemicznej Politechniki Poznańskiej w Zakładzie Technologii Chemicznej. Promotorem pracy jest dr hab. inż. Michał Niemczak, prof. PP.

Podstawą wydania opinii jest pismo Pani Dziekan Wydziału Technologii Chemicznej Ewy Kaczorek z dnia 26 maja 2026 r. (RD-10/1/2026).

Zaproponowana w dysertacji tematyka jest nowoczesna i aktualna. Przedmiotem niniejszych badań było opracowanie innowacyjnych układów jonowych charakteryzujących się zoptymalizowanymi parametrami fizykochemicznymi, biologicznymi i farmakokinetycznymi, mających na celu poprawę profilu terapeutycznego oraz zwiększenie biodostępności substancji czynnych przeznaczonych do aplikacji doustnej i miejscowej.

Sole substancji czynnych *API-salts* (*Active Pharmaceutical Ingredient-salts*), czyli jonowe formy substancji czynnych zachowując identyczny rdzeń farmakoforowy charakteryzują się korzystniejszymi parametrami rozpuszczalności, biodostępności i stabilności chemicznej. Czwartorzędowe sole amoniowe API-QAS (ang. *Active Pharmaceutical Ingredient-Quaternary Ammonium Salt*) zastosowane w pracy wykazują działanie bakteriobójcze i grzybobójcze, są stosowane na szeroką skalę jako środki dezynfekcyjne. Wykaz leków zawierających w swoim składzie długołańcuchowe czwartorzędowe sole amoniowe dopuszczone do obrotu w krajach europejskich i USA umieszczony w pracy (tabela A27) wskazuje na obecność na rynku tych substancji w formie pastylek do ssania, areozoli i innych aktywnych płynów.

Długotrwałe stosowanie API-QAS spowodowało powstanie oporności na te związki wśród szczepów bakteryjnych, jak również grzybów. Aby zwalczyć problem oporności wśród mikroorganizmów prowadzone są intensywne badania nad syntezą nowych skutecznie działających soli. Racjonalne szukanie środków biologicznie czynnych polega na takim projektowaniu struktury związku, aby oddziaływał on z wybranym receptorem biologicznym. Dobór odpowiedniej pary jonowej stanowi istotne narzędzie projektowania układów API-QAS, pozwalające na optymalizację właściwości chemicznych, farmaceutycznych i biologicznych bez modyfikacji struktury samej substancji czynnej. Poprzez zmianę budowy kationu QAS lub rodzaju anionu API możliwe jest dostosowanie układu do określonych zastosowań, m.in. w celu poprawy biodostępności, stabilności, właściwości terapeutycznych oraz uzyskania korzystnych efektów biologicznych.

Rozprawa doktorska została podzielona tradycyjnie na następujące zasadnicze części: wstęp literaturowy obejmujący 37 stron, część opisującą hipotezę badawczą i cel badań (4 strony), część doświadczalną (19 stron), omówienie wyników badań (76 stron) oraz podsumowanie i wnioski (2 strony). Na końcu pracy zamieszczono również bibliografię oraz dorobek naukowy doktorantki.

Cennym uzupełnieniem pracy jest również obszerny Aneks (75 stron), zawierający szczegółowe dane tabelaryczne zawierające, m.in.: wykaz zastosowanych odczynników, analizy widm, informacje dotyczące zsyntezowanych związków wraz z uzyskanymi wydajnościami oraz charakterystyką ich właściwości fizykochemicznych. W Aneksie zamieszczono również szczegółowe dane dotyczące przeprowadzonych badań dokowania molekularnego.

Część literaturowa pracy została opracowana w sposób uporządkowany, logiczny i kompleksowy, stanowiąc solidne podstawy teoretyczne dla realizowanych badań eksperymentalnych. We wstępie pracy przedstawiono zagadnienia związane z projektowaniem i charakterystyką nowych układów jonowych stosowanych jako potencjalne formy farmaceutyczne. Omówiono wpływ budowy kationów i anionów na właściwości fizykochemiczne otrzymywanych układów, ze szczególnym uwzględnieniem pochodnych zawierających kationy nikotynamidu oraz lidokainy. Przedstawiono również znaczenie związków pochodzenia naturalnego jako źródeł anionów w projektowaniu soli API-QAS oraz ich potencjalny wpływ na właściwości biologiczne i aplikacyjne nowych form jonowych. Ponadto scharakteryzowano kluczowe właściwości farmakologiczne substancji leczniczych, ze szczególnym uwzględnieniem leków o działaniu przeciwzapalnym i przeciwbakteryjnym, analizując zależność pomiędzy strukturą chemiczną, mechanizmem działania oraz przeznaczeniem terapeutycznym. Omówiono również główne drogi podawania leków, przedstawiając mechanizmy ich działania, korzyści wynikające z poszczególnych sposobów aplikacji oraz ograniczenia wpływające na skuteczność terapii i biodostępność substancji czynnych.

W następnej kolejności we wstępie literaturowym omówiono znaczenie barier biologicznych ograniczających skuteczność terapii farmakologicznej oraz strategie ich pokonywania z wykorzystaniem projektowanych soli organicznych. Szczególną uwagę poświęcono zastosowaniu nowych układów jonowych w poprawie właściwości farmakokinetycznych substancji czynnych podawanych drogą doustną i przezskórną, uwzględniając mechanizmy transportu, ograniczenia biodostępności oraz możliwości zwiększenia efektywności terapeutycznej.

Przedstawiono również zastosowanie metod obliczeniowych *in silico* w procesie projektowania i optymalizacji nowych soli farmaceutycznych. Omówiono wykorzystanie predykcji właściwości ADME (wchłanianie, dystrybucja, metabolizm i wydalanie) oraz metod modelowania molekularnego, w tym dokowania molekularnego, do oceny potencjalnej aktywności biologicznej projektowanych układów, ze szczególnym uwzględnieniem właściwości przeciwzapalnych i anestetycznych. Ponadto scharakteryzowano zagadnienia związane z ekotoksycznością substancji farmaceutycznych, zwracając uwagę na konieczność oceny ich wpływu na organizmy środowiskowe oraz uwzględniania aspektów bezpieczeństwa ekologicznego podczas projektowania nowych, innowacyjnych form terapeutycznych.

Tematyka pracy jest bardzo szeroko opisywana w literaturze, tak więc wybór cytowanych pozycji to trudne wyzwanie. Doktorantka odwołuje się do bardzo aktualnych 297 pozycji literaturowych. Na szczególne podkreślenie zasługuje również wysoki poziom opracowania

graficznego części literaturowej. Istotnym walorem pracy są liczne, starannie przygotowane schematy i ilustracje, które w przejrzysty sposób wspierają przedstawienie oraz ułatwiają zrozumienie omawianych procesów i mechanizmów. Całość przeglądu literaturowego potwierdza bardzo dobrą znajomość aktualnego stanu wiedzy w analizowanym obszarze, umiejętność selekcji i krytycznej interpretacji dostępnych źródeł oraz właściwe przygotowanie Doktorantki do prowadzenia interdyscyplinarnych badań naukowych.

Przeprowadzona analiza literatury oraz badania wstępne pozwoliły na sformułowanie hipotezy badawczej, zgodnie z którą projektowanie soli organicznych typu API-QAS, poprzez odpowiedni dobór kationów i anionów o określonych właściwościach biologicznych, umożliwia otrzymanie wielofunkcyjnych układów jonowych o zwiększonej aktywności terapeutycznej. Zakłada się, że struktura tych układów pozwala na zachowanie lub synergiczne wzmocnienie aktywności biologicznej składników oraz optymalizację właściwości fizykochemicznych, takich jak rozpuszczalność, lipofilowość i zdolność przenikania przez bariery biologiczne. Przyjęto również, że modyfikacja struktury QAS umożliwia kontrolowanie właściwości farmakokinetycznych i farmakodynamicznych projektowanych soli, prowadząc do poprawy biodostępności i skuteczności terapeutycznej przy zachowaniu korzystnego profilu bezpieczeństwa, obejmującego ograniczoną cytotoksyczność i ekotoksyczność.

Głównym celem niniejszej pracy było zatem opracowanie innowacyjnych układów jonowych charakteryzujących się zoptymalizowanymi parametrami fizykochemicznymi, biologicznymi i farmakokinetycznymi, mających na celu poprawę profilu terapeutycznego oraz zwiększenie biodostępności substancji czynnych przeznaczonych do aplikacji doustnej i miejscowej.

Zaplanowano również kompleksową analizę bezpieczeństwa otrzymanych soli organicznych, obejmująca ocenę ich cytotoksyczności wobec ludzkich komórek jelitowych oraz badania ekotoksyczności z wykorzystaniem modelowego organizmu wodnego *Artemia franciscana*. Uzyskane wyniki umożliwiły określenie możliwości zastosowania tych układów jako innowacyjnych farmaceutycznych form jonowych, charakteryzujących się wysoką aktywnością terapeutyczną, regulowaną biodostępnością oraz zmniejszonym oddziaływaniem na środowisko.

W rozdziale omówienie wyników badań przedstawiono wyniki badań wraz z ich interpretacją w odniesieniu do hipotezy badawczej oraz szczegółowych celów. Przygotowano również w celach porównawczych równomolowe mieszaniny nikotynamidu NA z kwasem nikotynowym NIK oraz kokryształów NA z kwasem salicylowym SAL oraz *p*-aminobenzoesowym PABA ([NA][NIK], [NA][SAL] i [NA][PABA]. Zaproponowano zarówno leki stosowane doustnie jak i do stosowania miejscowego na skórę.

Syntezę rozpoczęto od otrzymania bromków N-alkilnikotynamidu, stanowiących prekursorów do dalszego projektowania soli o potencjalnych właściwościach farmakologicznych. Związki te uzyskano w wyniku reakcji czwartorzędowania nikotynamidu odpowiednio dobranymi bromoalkanami, otrzymując szereg homologiczny zawierający podstawniki alkilowe o długości od etylowego do tetradecylowego. Strukturę chemiczną otrzymanych pochodnych potwierdzono z wykorzystaniem metod spektroskopowych,

obejmujących UV, FT-IR oraz spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H i ^{13}C NMR. Dla otrzymanych bromków wyznaczono współczynniki podziału oktanol–woda ($\log K_{ow}$), których wartości wskazywały na zróżnicowany charakter hydrofilowo-lipofilowy badanych układów. Parametry te mają istotne znaczenie w kontekście ich potencjalnego zastosowania jako platform do projektowania nowych substancji aktywnych. Ponadto oceniono toksyczność otrzymanych związków wobec modelowego organizmu wodnego *Artemia franciscana*, wyznaczając wartości EC_{50} . Uzyskane wyniki wskazują, że bromki N-alkilnikotynamidu mogą pełnić funkcję wartościowych półproduktów w syntezie nowych układów farmaceutycznych, bez generowania problematycznych toksycznych produktów ubocznych.

W ramach przeprowadzonych badań otrzymano dwa szeregi homologiczne QAS z wykorzystaniem pochodnych witamin z grupy B. W pierwszym etapie nikotynamid (NA) poddano reakcji czwartorzędowania, otrzymując bromki N-alkilnikotynamidu. Do dalszych badań wybrano związki zawierające łańcuchy alkilowe od heksylowego do dodecyłowego. Następnie, w wyniku wymiany jonowej, otrzymano sole zawierające aniony pochodzące od kwasu nikotynowego (NIK; serie N1–N4) lub kwasu p-aminobenzoowego (PABA; serie P1–P4).

Struktury otrzymanych soli potwierdzono metodami UV, FT-IR oraz ^1H i ^{13}C NMR. Sole z anionem nikotynianowym (N1–N4) charakteryzowały się większą lipofilowością niż analogiczne p-aminobenzoesany (P1–P4). Związki N3, N4 oraz P4 osiągały wartości $\log K_{ow}$ uznawane za korzystne dla doustnych postaci leków.

Aktywność przeciwzapalną soli N1–N4 i P1–P4 oraz układów referencyjnych [NA][NIK] i [NA][PABA] oceniono metodą hamowania denaturacji albuminy jaja kurzego. Najwyższą aktywność wykazały sole P2 i P3, przewyższając skutecznością referencyjny lek przeciwzapalny DFC-Na. Wyniki dokowania molekularnego do COX-2 wskazały, że wszystkie badane ligandy wiążą się preferencyjnie w głównym kanale aktywnym enzymu, oddziałując z kluczowymi resztami katalitycznymi R120, Y385 i S530 oraz resztami stabilizującymi S353, L352 i V523.

Aktywność przeciwdrobnoustrojową N1–N4 i P1–P4 oceniono wobec bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych oraz grzybów, wyznaczając wartości MIC i MBC/MFC. Skuteczność rośla wraz z wydłużaniem łańcucha alkilowego, a najwyższą aktywność wykazywały związki N4 i P4 z dodecyłowym podstawnikiem. Najbardziej aktywne sole poddano badaniom przeciwbiofilmowym wobec *S. aureus* i *P. aeruginosa*. Przy stężeniu równym MIC oba związki całkowicie hamowały tworzenie biofilmu przez *S. aureus*, natomiast P4 całkowicie, a N4 w około 95% ograniczała tworzenie biofilmu przez *P. aeruginosa*.

Mechanizm działania N4 i P4 badano na komórkach *S. aureus*, *P. aeruginosa* oraz *C. albicans*. Analizy spektrofotometryczne, fluorescencyjne i mikroskopowe wykazały, że związki te uszkadzają błonę komórkową, powodując uwalnianie składników wewnątrzkomórkowych, zmiany morfologiczne i śmierć komórek. Mechanizm ten jest charakterystyczny dla amfifilowych kationowych QAS.

Potencjał absorpcyjny określono metodą GIT-PAMPA. Wszystkie badane związki wykazywały wysoką przepuszczalność przez sztuczną błonę. Aktywność powierzchniową

oceniono na podstawie pomiarów napięcia powierzchniowego. Najwyższe wartości ciśnienia powierzchniowego, mogące sprzyjać zwiększeniu przepuszczalności błon biologicznych, osiągnęły związki N3, N4 i P4.

Rozpuszczalność soli oceniono w wodzie, symulowanym płynie żołądkowym SGF (pH 1,2) oraz PBS (pH 7,4). Wszystkie QAS najlepiej rozpuszczały się w wodzie, a najslabiej w SGF. Najbardziej aktywne związki N4 i P4 wykazywały najwyższą stabilność właśnie w środowisku SGF, przewyższając pod tym względem układy referencyjne [NA][NIK] i [NA][PABA]. Cytotoksyczność N1–N4, P1–P4, układów referencyjnych oraz BAC oceniono na linii komórek HIEC-6. Głównym czynnikiem determinującym toksyczność była długość łańcucha alkilowego. Związki pozbawione łańcucha alkilowego oraz sole N1 i P1 charakteryzowały się bardzo wysoką biokompatybilnością, natomiast wydłużenie łańcucha zwiększało cytotoksyczność, zachowując jednak korzystny profil bezpieczeństwa dla potencjalnych zastosowań doustnych.

Ekotoksyczność oceniono wobec *Artemia franciscana*. Większość badanych soli wykazywała jedynie łagodny efekt toksyczny. Najmniejszą toksyczność wykazała sól N1, natomiast najwyższą N4, co potwierdziło zależność pomiędzy długością łańcucha alkilowego a wzrostem toksyczności środowiskowej.

Predykcja właściwości ADME wykazała, że długość łańcucha alkilowego istotnie wpływa na właściwości farmakokinetyczne QAS. Szczególnie związki N3 i N4 osiągały wysoką przepuszczalność, przewyższającą wartość dla DFC-Na, co wskazuje na korzystny potencjał do przenikania przez bariery biologiczne.

Uzyskane wyniki potwierdzają, że projektowanie API w postaci soli QAS stanowi skuteczną strategię poprawy właściwości fizykochemicznych i biologicznych. Odpowiedni dobór długości łańcucha alkilowego oraz rodzaju anionu umożliwia modulowanie lipofilowości, aktywności przeciwzapalnej i przeciwdrobnoustrojowej, właściwości przeciwbiofilmowych, przepuszczalności, stabilności oraz bezpieczeństwa biologicznego. Szczególnie związki N4 i P4 wykazały najbardziej korzystny profil właściwości, co czyni je obiecującymi kandydatami do dalszych badań nad nowymi doustnymi substancjami leczniczymi.

W drugim rozdziale omówienia wyników zostały przebadane leki do zastosowania miejscowego na skórę. W badaniach opracowano szereg homologiczny salicylanów N-alkilnikotynamidu (S1–S7) do potencjalnego zastosowania skórniego. Związki otrzymano dwuetapową metodą zgodną z zasadami zielonej chemii, z użyciem etanolu w reakcji wymiany anionowej. Struktury potwierdzono metodami UV, FT-IR oraz ^1H i ^{13}C NMR. Właściwości soli oceniono w porównaniu z nikotynamidem (NA), kwasem salicylowym (SAL) oraz kokryształem [NA][SAL].

Analiza lipofilowości salicylanów N-alkilnikotynamidu wskazuje, że związki z najkrótszymi podstawnikami alkilowymi (S1–S3) mogą mieć ograniczoną przydatność w preparatach miejscowych. Mimo podobieństwa strukturalnego do kationu nikotynamidu, badane ciecze jonowe wykazały odmienne właściwości fizykochemiczne, co potwierdza znaczenie doboru par kation–anion w projektowaniu tych układów. Potencjał przeciwzapalny związków oceniono na podstawie zdolności do stabilizacji albuminy i hamowania jej denaturacji

termicznej. Wykazano zależność między długością łańcucha alkilowego w kationie a efektem stabilizującym, przy czym uzyskane wyniki nie w pełni odpowiadały danym literaturowym.

Dokowanie molekularne przeprowadzono w celu oceny interakcji QAS S1–S7 z enzymem COX-2. Analiza typu „blind docking” wykazała, że wszystkie ligandy wiążą się w tej samej kieszeni aktywnej C1, obejmującej kluczowe reszty katalityczne R120, Y385 i S530 oraz stabilizujące S353, L352 i V523, tworzące kanał enzymatyczny.

Aktywność przeciwdrobnoustrojową salicylanów N-alkilolidokainy (S1–S7) oceniono wobec bakterii Gram-dodatnich (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *C. acnes*), Gram-ujemnych (*P. aeruginosa*) oraz grzybów (*C. albicans*) poprzez wyznaczenie parametrów MIC i MBC/MFC. Największą skuteczność wobec *C. acnes* wykazały związki z najdłuższymi łańcuchami alkilowymi (S5–S7) oraz SAL. Związki S1–S4 działały jedynie na *S. epidermidis* i *S. aureus*, wykazując efekt bakteriostatyczny. Kokryształ [NA][SAL] hamował wzrost badanych mikroorganizmów, lecz nie wykazywał działania bakteriobójczego wobec *C. acnes*. Wykazano, że wydłużenie łańcucha alkilowego kationu zwiększało aktywność biologiczną związków.

Przenikalność i retencję wybranych związków oceniono po 6 i 24 godzinach inkubacji metodą SKIN-PAMPA. Ciecze jonowe mogą zwiększać penetrację skóry poprzez zaburzenie organizacji lipidów warstwy rogowej naskórka, jednak mechanizm ten nie jest w pełni poznany. Wyniki wskazują, że niewielkie modyfikacje strukturalne (kation–anion) istotnie wpływają na transport przez barierę skórną, a kluczowe znaczenie mają właściwości fizykochemiczne związków oraz ich interakcje z lipidami skóry. Pomiary kąta zwilżania związków S1–S7 wykonano na parafilmie jako modelu hydrofobowej powierzchni skóry. Wykazano, że związki referencyjne (NA, SAL, [NA][SAL]) oraz S1–S3 nie wykazywały aktywności powierzchniowej. Natomiast S5–S7, zawierające dłuższe łańcuchy alkilowe, poprawiały zwilżanie powierzchni, co może sprzyjać skuteczniejszej aplikacji i działaniu terapeutycznemu.

Rozpuszczalność soli S1–S7 w buforze PBS oceniono jako modelu środowiska jonowego skóry. Wykazano zależność między długością łańcucha alkilowego kationu a rozpuszczalnością (związki S1–S4) charakteryzowały się bardzo dobrą rozpuszczalnością, natomiast jej spadek obserwowano wraz z wydłużaniem łańcucha, osiągając minimum dla **S7**. Wzrost hydrofobowości kationu ograniczał rozpuszczalność soli w środowisku wodnym.

Ekotoksyczność związków S1–S7 oraz substancji referencyjnych ([NA][SAL], NA, SAL) oceniono wobec *Artemia franciscana*. Badane sole wykazały niski potencjał toksyczny. S1, S2 i NA sklasyfikowano jako „Stosunkowo nieszkodliwe”, natomiast pozostałe związki jako „Praktycznie nietoksyczne”, z wyjątkiem S6, określonego jako „Słabo toksyczny”. Wydłużanie łańcucha alkilowego prowadziło do wzrostu hydrofobowości i wystąpienia efektu „cut-off” ograniczającego dalszy wzrost toksyczności.

Opracowano również syntezę QAS na bazie lidokainy, która obejmowała dwa etapy: czwartorzędowanie lidokainy 1-bromoalkanami (bromoetanem, bromooktanem i bromotetradekanem) oraz wymianę anionu bromkowego na salicylan lub p-aminobenzoesan. Otrzymano salicylany N-alkilolidokainy (SL1–SL3) oraz p-aminobenzoesany N-alkilolidokainy (PL1–PL3) z podstawnikami: etylowym (SL1, PL1), oktylowym (SL2, PL2) i tetradecylowym (SL3, PL3).

Największą lipofilowość wykazały SL2 i SL3, co odpowiada ich niskiej rozpuszczalności w wodzie i PBS. Wyniki potwierdzają możliwość regulacji lipofilowości układów jonowych na bazie lidokainy poprzez modyfikacje strukturalne. Rozpuszczalność [LID][Cl], QAS BL1–BL3, [LID][SAL], SL1–SL3, [LID][PABA] oraz PL1–PL3 oceniono w wodzie i PBS (pH 7,4). Najwyższą rozpuszczalność wykazał [LID][Cl] („Bardzo rozpuszczalny”), natomiast [LID][SAL] i [LID][PABA] sklasyfikowano jako „łatwo rozpuszczalne”, z niewielkim spadkiem rozpuszczalności [LID][SAL] w PBS. [LID][Cl] wykazał stabilną aktywność, jednak nie przewyższał najaktywniejszych pochodnych. Na działanie przeciwzapalne wpływały głównie długość łańcucha alkilowego oraz rodzaj anionu, przy czym szczególnie korzystny efekt wykazywał anion salicylanowy.

Dokowanie molekularne przeprowadzono w celu oceny interakcji QAS SL1–SL3 i PL1–PL3 z enzymem COX-2, uwzględniając związki referencyjne [LID][Cl], BL1–BL3, [LID][SAL], [LID][PABA], SAL i PABA. Wszystkie ligandy wiązały się w tej samej kieszeni aktywnej C1, obejmującej kluczowe reszty R120, Y385, S530 oraz stabilizujące S353, L352 i V523. Potencjalną aktywność znieczulającą związków oceniono wstępnie metodami *in silico* poprzez dokowanie do kanału jonowego Nav1.7. Skuteczność wiązania zależała od powinowactwa ligandów oraz ich interakcji z kluczowymi resztami kanału, odpowiadającymi za stabilizację kompleksu. Wyniki są zgodne z mechanizmem działania lidokainy, polegającym na blokowaniu kanałów sodowych i hamowaniu przewodzenia impulsów nerwowych, jednak wymagają dalszej weryfikacji.

Przenikalność pochodnych lidokainy oceniono metodą SKIN-PAMPA po 6 i 24 h. Wykazano, że długość łańcucha alkilowego wpływa na równowagę między przenikaniem a retencją w skórze, natomiast rodzaj anionu moduluje transport. Krótkołańcuchowe pochodne szybko przenikały przez błonę, a długołańcuchowe wykazywały większą retencję, co wskazuje na ich potencjalne zastosowanie odpowiednio w systemach transdermalnych i miejscowych. Ekotoksyczność pochodnych lidokainy oceniono wobec *Artemia franciscana*. Modyfikacja lidokainy do soli organicznych (SL1–SL3, PL1–PL3) nie zwiększyła istotnie toksyczności. Związki te są dalej badane pod kątem aktywności biologicznej i bezpieczeństwa jako potencjalne wielofunkcyjne alternatywy dla obecnie stosowanych substancji.

Podsumowując, za najważniejsze elementy naukowe recenzowanej pracy uważam:

- Opracowanie koncepcji projektowania bioaktywnych układów jonowych typu API-QAS jako strategii umożliwiającej otrzymywanie nowych wielofunkcyjnych substancji o potencjale farmaceutycznym poprzez połączenie aktywnych biologicznie kationów i anionów pochodzenia naturalnego.
- Opracowanie efektywnej metodologii syntezy oraz identyfikacja nowych, nieopisanych wcześniej w literaturze czwartorzędowych soli amoniowych opartych na kationach N-alkilnikotynamidu i N-alkilolidokainy oraz anionach nikotynianowym, salicylanowym i p-aminobenzoosanowym, wraz z pełną charakterystyką strukturalną przy zastosowaniu metod spektroskopowych.
- Wykazanie, że przekształcenie znanych substancji aktywnych (m.in. nikotynamidu, kwasu nikotynowego, kwasu p-aminobenzoowego, kwasu salicylowego oraz lidokainy) w organiczne

układy jonowe prowadzi do istotnej modyfikacji ich właściwości fizykochemicznych, biologicznych oraz potencjału terapeutycznego.

- Potwierdzenie, że długość łańcucha alkilowego w kationie stanowi kluczowy parametr strukturalny umożliwiający projektowanie lipofilowości, rozpuszczalności, przepuszczalności przez bariery biologiczne oraz ogólnych właściwości funkcjonalnych badanych układów, podczas gdy wpływ rodzaju przeciwnionu ma znaczenie uzupełniające.
- Wykazanie zależności pomiędzy strukturą chemiczną otrzymanych soli a ich aktywnością przeciwdrobnoustrojową i przeciwzapalną oraz potwierdzenie występowania efektu synergistycznego pomiędzy komponentami API-QAS, skutkującego poprawą aktywności biologicznej w porównaniu z substratami wyjściowymi.
- Opracowanie zależności struktura/właściwość w zakresie transportu przez bariery biologiczne na podstawie badań PAMPA oraz wskazanie możliwości precyzyjnego modulowania właściwości przenikania i retencji układów jonowych poprzez zmianę długości łańcucha alkilowego, co potwierdza ich potencjał w projektowaniu formulacji transdermalnych i miejscowych.
- Wykazanie za pomocą modelowania molekularnego potencjalnej zdolności badanych układów do oddziaływania z białkami COX-2 oraz Nav1.7 oraz potwierdzenie, że struktura kationu, szczególnie długość łańcucha alkilowego, wpływa na stabilność kompleksów ligand - białko i potencjalne właściwości przeciwzapalne oraz znieczulające.
- Potwierdzenie bezpieczeństwa środowiskowego opracowanych układów poprzez wykazanie braku istotnego wzrostu toksyczności wobec organizmu modelowego *Artemia franciscana* oraz wskazanie, że racjonalne projektowanie API-QAS umożliwia jednoczesną optymalizację aktywności biologicznej, biodostępności i profilu bezpieczeństwa.
- Opracowanie uniwersalnej platformy projektowania wielofunkcyjnych układów jonowych o kontrolowanych właściwościach, stanowiącej wartościową podstawę do rozwoju nowych generacji formulacji farmaceutycznych i biomedycznych o potencjalnym zastosowaniu aplikacyjnym.

Czytając pracę, zastanawiałam się nad kilkoma aspektami:

- Jakie znaczenie kliniczne ma zdolność hamowania tworzenia biofilmu?
- Dlaczego najwyższą stabilność badane związki wykazywały właśnie w środowisku SGF?
- Jak pogodzić wzrost aktywności biologicznej z jednoczesnym wzrostem cytotoksyczności przy wydłużaniu łańcucha alkilowego?
- Czy uzyskane wartości IC50 pozwalają uznać związki za bezpieczne kandydatów na leki?
- Jakie znaczenie mają wyniki predykcji ADME w kontekście dalszego rozwoju tych związków?
- Który z otrzymanych QAS uważa Pani za najbardziej perspektywiczny i dlaczego?
- Jakie są główne ograniczenia przedstawionych badań?
- Jakie byłyby kolejne etapy rozwoju najbardziej obiecujących związków przed badaniami klinicznymi?
- Proszę o przedstawienie głównych założeń przyjętej strategii syntezy QAS, które potwierdzają zgodność prowadzonych badań z zasadami zielonej chemii oraz koncepcją zrównoważonego rozwoju.

Dorobek naukowy Doktorantki należy ocenić jako bardzo wartościowy, szczególnie biorąc pod uwagę krótki okres jego realizacji. Aktywność badawcza wskazuje na dużą samodzielność i dojrzałość naukową. Doktorantka jest współautorką 9 publikacji w czasopismach z listy JCR, w tym 5 jako pierwszy autor, a kolejne prace znajdują się na etapie recenzji i przygotowania. Jej dorobek obejmuje również współautorstwo 11 monografii, 16 patentów oraz 23 zgłoszeń patentowych, co podkreśla wysoki potencjał aplikacyjny prowadzonych badań. Aktywnie uczestniczyła także w życiu naukowym, będąc współautorką 12 wystąpień ustnych oraz 18 prezentacji posterowych na konferencjach krajowych i zagranicznych.

Doktorantka wyróżnia się wysoką aktywnością naukową i aplikacyjną, czego potwierdzeniem są liczne nagrody, wyróżnienia konferencyjne oraz bogaty dorobek patentowy i zgłoszenia wynalazków. Jej osiągnięcia zostały docenione m.in. poprzez Stypendium Santander Universidades oraz wyróżnienia za prezentacje konferencyjne. Szczególne znaczenie ma zakwalifikowanie jej wynalazku do finału konkursu „EUREKA! DGP – Odkrywamy polskie wynalazki”, a także udzielony w związku z tym wywiad w czasopiśmie „Głos Politechniki” pt. „Żeby wygrać, trzeba patentować”. Publikacja ta podkreśla jej zaangażowanie w rozwój innowacyjnych rozwiązań. Była wykonawcą w programie LIDER XIII pod kierunkiem Promotora oraz kierowała Grantem PhD Boost dla doktorantów Szkoły Doktorskiej Politechniki Poznańskiej. Doktorantka rozwijała swoje kompetencje poprzez udział w szkole letniej w Katanii oraz staż w PozLab sp. z o.o. Research and Development Center (Selvita). Aktywności te pozwoliły jej poszerzyć wiedzę naukową, zdobyć doświadczenie w środowisku międzynarodowym i badawczo-przemysłowym oraz rozwinąć umiejętności aplikacyjne.

Podsumowując, przeprowadzone w ramach rozprawy doktorskiej badania stanowią kompleksowy i dobrze zaplanowany projekt naukowy, obejmujący szeroki zakres zagadnień oraz wymagający zastosowania różnorodnych metod badawczych. Doktorantka podjęła się realizacji ambitnego celu badawczego, konsekwentnie rozwijając kolejne etapy pracy i skutecznie łącząc poszczególne obszary analiz. Na uwagę zasługuje zarówno merytoryczna wartość uzyskanych wyników, jak i wysoki poziom przygotowania oraz opracowania samej rozprawy, która została przedstawiona w sposób uporządkowany, przejrzysty i starannie zredagowany (choć coś się w spisie treści pomieszało z numeracją). Dodatkowo Doktorantka przeprowadziła bardzo szeroki zakres badań eksperymentalnych, co wymagało nie tylko doskonałej znajomości warsztatu laboratoryjnego i metod analitycznych, ale również dużej systematyczności, skrupulatności oraz umiejętności właściwego planowania i organizacji kolejnych etapów eksperymentów.

Na podstawie oceny pracy doktorskiej Pani mgr inż. Adrian Olejniczak pt. „Projektowanie, synteza i właściwości farmakologicznie aktywnych soli organicznych zawierających jony występujące w przyrodzie” stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określone w art. 187 ust. 1-3 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, z dnia 20 lipca 2018 r. (t.j. Dz. U. 2022, poz. 574 z późn. zm.). Wnoszę więc do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Poznańskiej o dopuszczenie

Pani mgr inż. Adriany Olejniczak do dalszych etapów przewodu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauk chemicznych.

Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoką wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej, innowacyjność uzyskanych wyników, znaczący dorobek publikacyjny oraz imponujący dorobek patentowy osiągnięty w krótkim okresie działalności naukowej, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej. Przedstawiona praca stanowi przykład wartościowego i konsekwentnie zaplanowanego projektu badawczego, którego rezultaty wnoszą istotny wkład w rozwój wiedzy dotyczącej projektowania bioaktywnych układów jonowych opartych na czwartorzędowych solach amoniowych. Uzyskane wyniki mają znaczący potencjał aplikacyjny i mogą stanowić podstawę dalszych badań oraz przyszłych zastosowań. Ambitny cel naukowy postawiony przez Doktorantkę został zrealizowany na bardzo wysokim poziomie. Doktorantka wykazała się dużą samodzielnością w prowadzeniu badań, umiejętnością właściwego projektowania eksperymentów oraz krytycznej interpretacji rozbudowanego materiału doświadczalnego. Zaprezentowała wysokie kompetencje w zakresie chemii organicznej i metodologii badań naukowych. Całokształt osiągnięć potwierdza jej bardzo dobre przygotowanie do samodzielnej pracy badawczej oraz dalszego rozwoju kariery naukowej.