



UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

Recenzja

osiągnięcia naukowego pt. „Nowe pochodne borowo-dipirometanowe oraz formułacje liposomalne fotouczulaczy porfirynoidowych jako obiecujące kierunki rozwoju terapii fotodynamicznej” oraz całokształtu aktywności naukowej, dydaktycznej i organizacyjnej dr. n. farm. Jarosława Piskorza, przygotowana w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk farmaceutycznych.

Pan dr n. farm. Jarosław Piskorz jest absolwentem Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (UMP), który ukończył na kierunku Farmacja w 2010 r. Pracę magisterską zatytułowaną „Zbadanie reaktywności nowych pochodnych diaminomaleonitrylowych i dimerkaptomalenitrylowych w syntezie porfirynaz i norftalocyjanin o potencjalnym zastosowaniu w medycynie”, wykonał pod opieką naukową dr. Tomasza Goślińskiego w Katedrze i Zakładzie Technologii Chemicznej Środków Leczniczych. Zainteresowania naukowe dr. J. Piskorza związkami makrocyklicznymi i ich właściwościami fizykochemicznymi oraz fotodynamicznymi, stanowiły podstawę rozprawy doktorskiej pt. „Porfirynazy posiadające skondensowany pierścień diazepinowy: synteza, właściwości fizykochemiczne oraz aktywność fotodynamiczna względem komórek nowotworowych”, której promotorem była prof. dr hab. Jadwiga Mielcarek i dr hab. Tomasz Gośliński. Stopień doktora nauk farmaceutycznych został nadany J. Piskorzowi przez Radę Wydziału Farmaceutycznego UMP dnia 10.12.2014 r. Od października 2014 r. do chwili obecnej J. Piskorz pracuje w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej macierzystej Uczelni; początkowo na stanowisku asystenta, a od 2015 r. na stanowisku adiunkta.

Ocena osiągnięcia naukowego

Przedstawione przez dr. Jarosława Piskorza osiągnięcie naukowe pt. „Nowe pochodne borowo-dipirometanowe oraz formułacje liposomalne fotouczulaczy porfirynoidowych jako obiecujące kierunki rozwoju terapii fotodynamicznej”, stanowi cykl pięciu oryginalnych prac opublikowanych, w latach 2017–2021, w renomowanych czasopismach, znajdujących się w bazie JCR, tj. *Dyes and Pigments*, *Journal of Inorganic Biochemistry*, *Bioorganic Chemistry*, *ChemMedChem*. Sumaryczny współczynnik oddziaływania *impact factor* cyklu wynosi 19,599, co przekłada się na 375 pkt MNiSW/MEiN (w tym 75 pkt. za prace opublikowane do 31.12.2018 r. oraz 300 pkt. za prace opublikowane od 01.01.2019 r.). W czterech publikacjach dr J. Piskorz jest pierwszym autorem, w pracy H.3 jest jednym z dwóch równorzędnych pierwszych autorów. We wszystkich publikacjach dr J. Piskorz jest autorem korespondującym. Ranga czasopism, na łamach których zostały drukiem ogłoszone prace, stanowiące podstawę cyklu, świadczy o wysokim poziomie badań zrealizowanych przez Habilitanta. O wartości naukowej ocenianego cyklu świadczy ponadto fakt, że artykuły wchodzące w jego skład były dotychczas cytowane blisko 30 razy.

Katedra i Zakład Chemii Organicznej

PL 30-688 Kraków, ul. Medyczna 9, tel. +48 12 620 55 00

www.farmacja.cm.uj.edu.pl

Badania wchodzące w zakres osiągnięcia habilitacyjnego są oparte na solidnych podstawach konsekwentnie i systematycznie budowanych przez Habilitanta od początku jego kariery naukowej, stanowiąc ich logiczne dopełnienie. W oparciu o analizę oświadczeń Habilitanta oraz oświadczeń współautorów stwierdzam, że udział dr. J. Piskorza w powstanie przedłożonego osiągnięcia jest wiodący. Habilitant inspirował powstanie hipotez badawczych, tworzył koncepcje prac oraz planował i uczestniczył w poszczególnych etapach realizacji badań, dotyczących syntezy i analizy spektralnej, opracowania formulacji i analizy fizykochemicznej oraz oceny aktywności fotodynamicznej. Powyższe dane wskazują, że pod względem formalnym osiągnięcie habilitacyjne przedstawione przez dr. J. Piskorza spełnia wymogi ustawy.

Kierunki badawcze zaprezentowane przez dr. J. Piskorza w cyklu koncentrują się na rozwoju nowych metod, służących poprawie skuteczności fotosensybilizatorów aktywnych w zakresie światła widzialnego i bliskiej podczerwieni dla rozwoju terapii fotodynamicznej, celem walki z chorobami nowotworowymi i infekcyjnymi o podłożu bakteryjnym. Podjęty temat jest niezwykle ważny i wysoce aktualny w świetle wciąż niedoskonałej terapii przeciwnowotworowej oraz wzrastającej oporności patogenów bakteryjnych na antybiotyki. Dla realizacji tego celu dr. J. Piskorz zaproponował dwie strategie. Pierwsza z nich polegała na opracowaniu nowych formulacji liposomalnych jako nośników dla fotouczulaczy z grupy porfirazyn dla poprawy skuteczności terapii fotodynamicznej w walce z rakiem (publikacje H.1–H.3). Druga strategia polegała na zaprojektowaniu i syntezy nowych fotosensybilizatorów z grupy pochodnych borowodipirometanowych (BODIPY) oraz ocenie ich aktywności fotodynamicznej *in vitro* względem wybranych patogenów bakteryjnych i linii komórek nowotworowych (publikacje H.4, H.5).

Jako przedmiot badań dla opracowania nowych formulacji liposomalnych, stanowiących podstawę pierwszych trzech publikacji cyklu H.1–H.3, Habilitant wybrał zróżnicowane strukturalnie syntetyczne porfirynoidy 1–6. Porfirazyny z podstawnikami 4-bromobenzylowymi i bifenylilowymi (związek 1 i 2), zostały opisane w publikacji H.1. Pochodne tribenzoporfirazynowe 3–5, zawierające rozgałęzione podstawniki dendrymetyczne, ujawniono w publikacji Młynarczyk *i współ.* (*ChemPlusChem* 2016, 81, 460), której Habilitant jest współautorem. Natomiast *S-seco*-porfirazynową pochodną 6, z jednym otwartym pierścieniem pirolu, opisano w publikacji H.3. Wybór analizowanych porfirynoidów jest racjonalny i oparty na potrzebie poznania różnorodnych aspektów związanych z możliwością opracowania formulacji liposomalnych celem potencjalnego zastosowania badanych preparatów. Nowe formulacje liposomalne zostały opracowane przez Habilitanta metodą hydratacji cienkiej warstwy lipidowej oraz ekstruzji przez membrany poliwęglanowe, stosując w tym celu pochodne fosfatydylocholiny (POPC) i fosfatydyloetanoloaminy (DOPC) oraz L- α -fosfatydylo-DL-glicerol (PG) lub chlorek N-[1-(2,3-dioleoiloksy)propylo]-N,N,N-trimetyloaminowy (DOTAP), jako modyfikatorów zapewniających odpowiednio ładunek ujemny lub dodatni powierzchni liposomów. Realizacja podjętej w ramach habilitacji oceny aktywności fotodynamicznej związków 1–6 oraz ich postaci liposomalnych była możliwa dzięki współpracy z zespołem prof. Krystyny Konopki oraz prof. Nejata Duzgunesa z University of Pacific, San Francisco. Określenie aktywności biologicznej porfirynoidów, w modelu *in vitro* na liniach komórek nowotworowych płaskonabłonkowego raka jamy ustnej (CAL 27, HSC-3) oraz gruczolakoraka szyjki macicy (HeLa), jak i przeprowadzona analiza, wskazują na możliwość poprawy aktywności fotocytotoksycznej syntetycznych porfirynoidów na drodze inkorporacji w liposomy oraz możliwość sterowania właściwościami fotocytotoksycznymi względem komórek nowotworowych, dzięki modyfikowaniu powierzchni liposomów odpowiednim ładunkiem. Habilitant udowodnił korzystne właściwości liposomów obdarzonych ładunkiem dodatnim (POPC:DOTAP) dla ujawnienia wyższej aktywności fotocytotoksycznej porfirazyn (związki 1, 2) i tribenzoporfirazyn 3–6, w porównaniu do związków w postaci wolnej (publikacje H.1–H.3). Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że w przypadku związku 3 zaobserwowano 25–50-krotny wzrost aktywności po inkorporacji w liposomy kationowe. Przeprowadzone badania pozwoliły ponadto zaklasyfikować liposomalną postać związku 4 jako jedną z najaktywniejszych formulacji, zawierających fotouczulacz z grupy porfirynoidów wobec komórek nowotworowych (IC_{50} wynosi 7 nM, 13 nM i 42 nM, odpowiednio wobec linii CAL 27, HSC-3 i HeLa). Analizując ten materiał badawczy, można się zastanawiać dlaczego nie przeprowadzono oceny właściwości fotocytotoksycznych związków inkorporowanych w postaci liposomalne wobec komórek prawidłowych.

Drugi nurt badań dr. J. Piskorza, zmierzający do udoskonalenia metody terapii fotodynamicznej koncentrował się na opracowaniu nowych fotouczulaczy z grupy pochodnych borowo-dipirometanowych. Prace te są twórczym rozwinięciem zainteresowań Habilitanta w zakresie projektowania, syntezy oraz analizy zależności między strukturą a aktywnością biologiczną fotosensybilizatorów. Dr J. Piskorz otrzymał siedem nowych fotouczulaczy z grupy BODIPY, potwierdził ich strukturę, stosując zaawansowane metody spektroskopowe i wysokorozdzielczą spektrometrię mas oraz poddał wnikliwej analizie właściwości absorpcyjne, emisyjne oraz zdolność generowania tlenu singletowego (Φ_{Δ}).

Novum zastosowanych modyfikacji strukturalnych polegało na wprowadzeniu w położeniu *mezo* rdzenia BODIPY fragmentów ftalimido- i amino-alkoksylowych oraz w położeniu 2 i 6 dwóch atomów jodu (publikacja H.4). W oparciu o zrealizowane badania dr J. Piskorz wykazał korzystny wpływ, wynikający z wprowadzania do rdzenia BODIPY atomów jodu (tzw. efekt ciężkiego atomu), na zdolności generowania tlenu singletowego. Na uwagę zasługuje fakt, że związek **9** charakteryzował się większą zdolnością generowania tlenu singletowego od różu bengalskiego. Ocena aktywności fotocytotoksycznej związków **7–9**, wobec referencyjnych drobnoustrojów bakteryjnych, wrażliwych na leki i stosowanych w oznaczaniu lekowrażliwości wg EUCAST – Gram-dodatnich bakterii *Staphylococcus aureus* (ATTC 25923) i Gram-ujemnych bakterii *Escherichia coli* (ATTC 25922), wykazała ich zdolność do hamowania wzrostu bakterii *S. aureus*, przy braku aktywności wobec bakterii Gram-ujemnych.

Powyższe wyniki badań posłużyły dr. J. Piskorzowi do zaprojektowania amoniowych pochodnych BODIPY i wyselekcjonowania analogu **13** – jodku 2,6-dijodo-1,3,5,7-tetrametylo-8-{4-[3-N,N,N-trimetyloamoniumpropoksy]-fenylo}-4,4'-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacenu, jako związku o wysokiej aktywności fotocytotoksycznej wobec szczepów bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych (publikacja H.5). Cennym uzupełnieniem zrealizowanych badań było wykazanie, w warunkach hipoksji, że mechanizm działania związku **13** jest uwarunkowany oddziaływaniem z tlenem cząsteczkowym. W materiałach nie dostrzegam jednak informacji na temat wpływu nowych związków z grupy BODIPY na komórki prawidłowe. Moim zdaniem poszerzona ocena aktywności *in vitro* wydaje się uzasadniona dla określenia bezpieczeństwa uzyskanych związków makrocyclicznych. W kontekście dalszego rozwoju przedklinicznego ważna wydaje się ponadto ocena właściwości farmakokinetycznych wiodących fotouczulaczy. Ten aspekt jest zachętą dla Habilitanta do realizacji dalszych prac nad niezwykle interesującymi fotosensybilizatorami z grupy BODIPY.

Oceniając osiągnięcie habilitacyjne stwierdzam, że zaplanowane i zrealizowane przez dr. J. Piskorza badania mają charakter poznawczy i wpisują się w próbę wyjaśnienia zjawisk natury chemiczno-fizycznych, odpowiedzialnych za aktywność fotocytotoksyczną związków makrocyclicznych, jednocześnie zawierając potencjał praktyczny, dotyczący możliwości zastosowania formułacji liposomalnych dla związków z grupy porfirynoidów oraz związków z grupy BODIPY, przyczyniają się do rozwoju metodologii w zakresie poszukiwania nowych fotosensybilizatorów. Otrzymane wyniki mogą być cenne dla przewidywania cytotoksyczności nowych fotouczulaczy z grupy porfirynoidów i BODIPY, również inkorporowanych w nanocząstki, o różnym składzie lipidów i różnym ładunku na powierzchni oraz szacowania ich preferencyjnego działania fotocytotoksycznego wobec zróżnicowanych komórek nowotworowych.

Badania eksperymentalne wykonane przez dr. J. Piskorza cechuje wysoki poziom merytoryczny i wyróżnia interdyscyplinarny charakter obejmujący syntezę, analizę spektralną, opracowanie formułacji, określenie parametrów fizykochemicznych formułacji oraz ocenę aktywności fotodynamicznej metodami *in vitro*. Ten szeroki warsztat metodyczny, doskonała interpretacja i przejrzysty sposób prezentacji uzyskanych wyników, potwierdzają wysokie kwalifikacje eksperckie dr. J. Piskorza w obszarze chemii medycznej oraz chemii fizycznej.

Habilitant konsekwentnie zrealizował postawione cele, wykazał się umiejętnością samodzielnego i zespołowego prowadzenia badań naukowych, z powodzeniem współpracując z zespołami zagranicznymi. Opisane wyniki posiadają wymagany aspekt nowości naukowej i wnoszą istotny wkład w rozwój nauk farmaceutycznych, wpisując się w badania nad poszukiwaniem substancji aktywnych biologicznie dla skutecznej terapii fotodynamicznej chorób nowotworowych i infekcji bakteryjnych.

Ocena aktywności naukowej realizowanej w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej

Początkowo zainteresowania naukowe dr. J. Piskorza, koncentrowały się wokół problemów badawczych zespołu prof. dr. hab. Tomasza Goślińskiego i dotyczyły fotouczulaczy o budowie porfirynoidowej jako narzędzi do terapii fotodynamicznej. W ramach studiów doktoranckich dr J. Piskorz odbył dwumiesięczny staż w University of Pacific, San Francisco (USA). Jako stypendysta programu ETIUDA NCN zrealizował trzymiesięczny staż podoktorski w tym samym ośrodku. Pracując w zespole prof. Krystyny Konopki oraz prof. Nejata Duzgunesa, Habilitant poszerzył warsztat metodyczny w zakresie oceny cytotoksyczności fotosensybilizatorów porfirynoidowych. Doświadczenie zdobyte podczas dwukrotnego pobytu w ośrodku amerykańskim ukształtowały dalszy rozwój dr. J. Piskorza i stanowiły znakomitą podstawę merytoryczną, umożliwiającą rozwinięcie współpracy niezbędnej do prac nad habilitacją. Efektem współpracy z zespołem badawczym z University of Pacific jest dziewięć wspólnych publikacji. Z czasem zainteresowania naukowe Habilitanta ewaluują, a skupienie się na fotouczulaczach z grupy BODIPY otworzyło perspektywę do samodzielnego rozwoju. Dr J. Piskorz jest aktualnie kierownikiem projektu pt. „Modyfikowane pochodne borowo-dipyrometanowe (BODIPY) o selektywnej aktywności fotodynamicznej względem komórek nowotworowych oraz bakteryjnych”, dla którego uzyskał dofinansowanie w ramach konkursu SONATA (2017–2022). Umiejętność pozyskiwania środków finansowych z instytucji zewnętrznych pozwoliła Habilitantowi na realizację badań na światowym poziomie. Prowadząc badania z prof. Petrem Zimicikiem (Uniwersytet Karola w Hradec Kralowe, Republika Czeska), dr. Michałem Falkowskim (Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy) i dr Martą Ziegler-Borowską (Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu), Habilitant rozszerza możliwość zastosowania fotouczulaczy z serii BODIPY, również inkorporowanych w nowoczesne nanocząstki, w terapii fotodynamicznej oraz jako sensorów elektrochemicznych.

Analizując całościowo dorobek naukowy dr. J. Piskorza, za uwagę zasługuje wysoka spójność tematyki badawczej w zakresie syntezy i analizy spektralnej różnych klas makrocyclicznych fotouczulaczy, oceny właściwości fotochemicznych fotouczulaczy w postaci wolnej i liposomalnej, metod otrzymywania i analizy metodami fizycznymi formulacji liposomalnych oraz oceny właściwości cytotoksycznych fotosensybilizatorów.

Aktywność naukowa Habilitanta jest szeroko udokumentowana publikacjami w renomowanych czasopismach naukowych. Całościowy dorobek naukowy dr. J. Piskorza obejmuje współautorstwo 29 prac, w tym 21 prac oryginalnych i 8 prac poglądowych. W ujęciu parametrycznym łączny współczynnik oddziaływania (IF) wynosi 84,233, co przekłada się na 1277 pkt MNiSW/MEiN. Prace dr. J. Piskorza były cytowane 444 razy, a indeks Hirscha wynosi 13 (*Web of Science*). Należy też zauważyć, że wśród prac dr J. Piskorz jest pierwszym autorem w 10 publikacjach, a drugim autorem w 7 publikacjach. Habilitant jest współautorem 1 patentu przyznanego przez Urząd Patentowy RP (nr 232838, 2019 r.). Ten bogaty dorobek uzupełniają streszczenia ze zjazdów krajowych (41) i międzynarodowych (23) oraz referat wygłoszony podczas 18-go *Blue Dunabe Symposium on Heterocyclic Chemistry* w Ljublanie (Słowenia). Ponadto dr J. Piskorz wygłosił 2 referaty w ramach seminariów w trakcie staży naukowych w University of the Pacific w San Francisco (USA).

Dorobek naukowy Habilitanta na etapie doktoratu obejmował 5 prac oryginalnych i 5 prac przeglądowych, a kumulatywny IF wynosił 27,783. Z uznaniem należy podkreślić, że po doktoracie dr J. Piskorz znacząco powiększył dorobek naukowy o pozycje liczące się w piśmiennictwie międzynarodowym.

Istotny w rozwoju naukowym dr. J. Piskorza był jego udział w realizacji kilku projektów badawczych finansowanych ze środków NCN (Miniatura – jako kierownik i 4 projektów jako wykonawca).

O rozpoznawalności badań realizowanych przez dr. J. Piskorza świadczy zaproszenie go do opracowania 14 recenzji manuskryptów proponowanych do publikacji, w latach 2015–2021, w renomowanych czasopismach naukowych m.in. *Inorg. Chem.*, *Int. J. Nanomed.*, *I. Inorg. Biochem.*, *ChemMedChem*, *J. Photochem. Photobiol. B*, wydawnictw o uznanej reputacji (Elsevier, Wiley, Taylor&Francis).

Habilitant był wielokrotnie wyróżniany nagrodami Rektora Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (2014–2019), uzyskał stypendium doktorskie NCN w ramach konkursu ETIUDA (edycja 2013/14), stypendium Naukowe Miasta Poznania (2013 r.) oraz trzykrotnie, w latach 2012–2014, stypendium

naukowe współfinansowane ze środków Unii Europejskiej w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki.

Ocena osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzujących naukę

W ramach działalności dydaktycznej dr J. Piskorz prowadzi ćwiczenia laboratoryjne z przedmiotu Chemia analityczna, Chemia ogólna i nieorganiczna oraz zajęcia seminaryjne z Obliczeń chemicznych na kierunku Farmacja, ćwiczenia laboratoryjne i seminaria dla studentów kierunku Kosmetologia oraz Analityka kryminalistyczna i sądowa; ponadto ćwiczenia laboratoryjne ze spektrometrii mas dla studentów kierunku Analityka kryminalistyczna i sądowa.

Habilitant ma również osiągnięcia w kształceniu kadry naukowej; pełni funkcję promotora pomocniczego jednego ukończonego przewodu doktorskiego oraz wypromował trzech magistrów farmacji. Jego podopieczna uzyskała wyróżnienie w 56 Konkursie Prac Magisterskich Wydziału Farmaceutycznego UMP. Ponadto od 2017 r. sprawuje On opiekę nad Studenckim Kołem Naukowym Chemii Medycznej Fotosensybilizatorów, przyczyniając się do licznych wystąpień konferencyjnych członków Koła (5 konferencji zagranicznych).

Dr J. Piskorz angażuje się ponadto w działalność organizacyjną na rzecz macierzystej Uczelni. Uczestniczył On w pracach zespołu oceniającego wniosku w ramach wewnętrznych konkursów Szkoły Doktorskiej oraz Studenckich Badań Naukowych UMP. Organizował zajęcia w formie pokazu pt. „Od aspiryny do porfirazyny” dla uczniów szkoły średniej z Poznania. Uczestniczył w pracach nad przygotowaniem Poznańskiego Festiwalu Nauki i Sztuki (lata 2012–2014) oraz nadzorował program wymiany studentów SEP.

Działalność dr. J. Piskorza w zakresie popularyzacji nauki obejmuje udział w filmie promującym działalność młodych pracowników nauki UMP oraz wygłoszenie zaproszonych referatów na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu. Wartym podkreślenia jest fakt, że materiały promujące jeden z projektów dr. J. Piskorza, realizowanych we współpracy międzynarodowej, zostały upublicznione na stronie Narodowego Centrum Nauki.

Powyższe dokonania i osiągnięcia dr. J. Piskorza pozwalają stwierdzić, że aktywność dydaktyczna i organizacyjna na rzecz Wydziału i Uczelni oraz popularyzująca naukę jest satysfakcjonująca.

Wniosek końcowy

W mojej ocenie przedłożone osiągnięcie naukowe dr. n. farm. Jarosława Piskorza, całokształt dorobku naukowego, zakres badań realizowanych w ramach współpracy naukowej, w tym z ośrodkami zagranicznymi, osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne w pełni spełniają wymogi merytoryczne i formalne (art. 219 ust.1 pkt.2 oraz art. 211 ust.8 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce), stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne. Dlatego z pełnym przekonaniem przedkładam wniosek Komisji Habilitacyjnej, powołanej przez Kapitułę Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, o dopuszczenie dr. n. farm. Jarosława Piskorza do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Kraków, 24.01.2022 r.


Katedra i Zakład
Chemii Organicznej UJ CM
prof. dr hab. Paweł Zajdel
kierownik

Prof. dr hab. Paweł Zajdel
Kierownik Katedry i Zakładu Chemii Organicznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków
✉ : pawel.zajdel@uj.edu.pl