UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY Z ODDZIAŁEM MEDYCYNY LABORATORYJNEJ
Zakład Chemii Leków
15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2D
Tel. (85) 748-57-06, FAX (85) 748-58-66
arkadiusz.surazynski@umb.edu.pl

dr hab. n. farm. Arkadiusz Surażyński **Białystok, 28.06.2021.**

Recenzja

dotycząca wniosku o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk farmaceutycznych dr n. farm. Małgorzacie Annie Paduszyńskiej (Dawgul), adiunktowi, w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej, Wydziału Farmaceutycznego z OML, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Pani Małgorzata Anna Paduszyńska jest absolwentką kierunku Farmacja, Wydziału Farmaceutycznego z OML Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Studia magisterskie ukończyła w 2009 roku. W 2012 podjęła pracę w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej, Wydziału Farmaceutycznego z OML, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego jako asystent. Praca ta zaowocowała uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych na podstawie rozprawy pt. „Badanie peptydów przeciwdrobnoustrojowych pod kątem ich potencjalnego zastosowania w gronkowcowych infekcjach skórnych" pod kierunkiem prof. dr hab. Wojciecha Kamysza. Od 2017 roku jest zatrudniona na stanowisku adiunkta w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej, Wydziału Farmaceutycznego z OML, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Ocena osiągniecia naukowego

Przedmiotem oceny znaczącego osiągnięcia naukowego jest cykl 7 prac współautorskich, w których Habilitantka opisuje wyniki badań nad biologiczną oceną grupy krótkich lipopeptydów charakteryzujących się wysoką aktywnością przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą oraz przeprowadzenie oceny ich potencjału jako alternatywy lub uzupełnienia środków

konwencjonalnych stosowanych w ramach profilaktyki i zwalczania infekcji związanych z biofilmem.

Zagadnienia te są szczególnie ważne, gdyż pomimo wysokiego poziomu rozwoju nauk medycznych i farmaceutycznych, choroby infekcyjne pozostają jedną z głównych przyczyn zgonów pacjentów na świecie. Wynika to ze zdolności przystosowawczych mikroorganizmów do przetrwania w niekorzystnych warunkach, na które składają się nabywanie cech oporności na substancje przeciwdrobnoustrojowe oraz zjawisko formowania biofilmu.

Wieloletnie badania nad krótkimi lipopeptydami charakteryzującymi się aktywnością przeciwdrobnoustrojową pozwoliły na podsumowanie wyników i przedyskutowanie ich potencjalnego zastosowania w farmakoterapii. Osiągnięcia naukowe pt. „Krótkie kationowe lipopeptydy – ocena właściwości biologicznych pod kątem potencjalnego zastosowania w walce z biofilmem bakteryjnym" stanowi cykl 7 pełnotekstowych artykułów naukowych (**4.1-4.7**, z czego jedna to praca poglądowa, a 6 pozostałych to oryginalne prace doświadczalne), opublikowanych w latach 2014-2020 o łącznym współczynniku oddziaływania *Impact Factor* = **26.305**, (**450** punków MNiSW). Pewnym mankamentem wpływającym na całokształt mojej oceny jest fakt, iż wg deklaracji samej Autorki, a także oświadczeń współautorów, wiodącą rolę Habilitantka pełniła jedynie w 2 pracach doświadczalnych i pracy poglądowej (udział procentowy 70-80%), w pozostałych 4 pracach doświadczalnych, Jej udział szacowany jest na 30-35%. Niemniej jednak osiągniecie naukowe w zakresie badań biologicznych należy uznać jako indywidualny wkład Habilitantki do rozwoju przedmiotowej dyscypliny naukowej.

Badania przeprowadzone w ramach publikacji nr 4.2 oraz 4.3 obejmowały ocenę biologicznej aktywności nowosyntezowanych 40 lipopeptydów, zawierających jedną lub dwie reszty następujących kwasów tłuszczowych: oktanowego, dekanowego, dodekanowego, tetradekanowego oraz heksadekanowego, sprzężonych z krótkimi łańcuchami, zawierającymi od 1 do 4 reszt aminokwasowych. Wszystkie łańcuchy peptydowe posiadały ładunek dodatni warunkowany obecnością reszt lizyny. Dla otrzymanych związków została przeprowadzona ocena aktywności mikrobiologicznej. Wśród lipopeptydów, posiadających w swojej budowie jedną resztę kwasu tłuszczowego, najwyższą aktywność prezentowały związki zawierające kwas heksadekanowy. W przypadku lipopeptydów zawierających dwie reszty kwasów tłuszczowych, najlepsze aktywności wykazywały związki, mające kwas dekanowy oraz dodekanowy. Otrzymane wyniki wskazują bezpośredni związek pomiędzy długością łańcucha alkilowego, a aktywnością mikrobiologiczną.

Oznaczenia toksyczności, w tym przypadku aktywności hemolitycznej, wykazały, że w większości przypadków, szczególnie wśród lipopeptydów zawierających jedną resztę kwasu tłuszczowego, lipopeptydy o najsilniejszych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych mają także silne działanie hemolityczne. Wśród lipopeptydów zawierających dwie reszty kwasu tłuszczowego, związki z resztami kwasu oktanowego okazały się najbezpieczniejsze wobec ludzkich erytrocytów.

Do badań przeprowadzonych w ramach publikacji nr 4.4 Habilitantka wytypowała dziewięć związków, które wykazały się najbardziej obiecującymi właściwościami przeciwdrobnoustrojowymi we wcześniejszych badaniach. Lipopeptydy te otrzymała za pomocą innowacyjnej metody syntezy z wykorzystaniem podwyższonej temperatury w celu zwiększenia wydajności procesu i obniżenia jego kosztów. Otrzymane związki przebadała pod kątem aktywności biologicznej w stosunku do biofilmu bakteryjnego, zwracając uwagę na właściwości hamujące jego rozwój. Lipopeptydy wykazały zróżnicowane działanie przeciwbakteryjne w zależności od badanego szczepu. Większość związków była bardziej aktywna wobec szczepów Gram-dodatnich, natomiast słabe działanie w stosunku do bakterii Gram-ujemnych. Autorka wykazała, że suplementacja pożywki mikrobiologicznej lipopeptydami powodowała ograniczenie rozwoju biofilmu bakteryjnego zarówno na powierzchni polistyrenowej, jak i soczewkach kontaktowych. Najwyższą aktywność lipopeptydy wykazały wobec biofilmu gronkowcowego. Otrzymane wyniki są bardzo obiecujące z uwagi na fakt, że gronkowce należą do najczęstszych czynników etiologicznych infekcji związanych z biofilmem. Otrzymane wyniki potwierdzają wysoką aktywność lipopeptydów w stosunku do biofilmu tworzonego przez bakterie Gram-dodatnie oraz zdolność związków do zapobiegania tworzeniu się struktur zarówno na powierzchni hydrofobowej, jak i hydrofilowej. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa jest porównywalna z aktywnością endogennych AMPs przy znacznie niższych kosztach otrzymywania wynikających z krótszego łańcucha peptydowego i mniejszego zużycia substratów oraz innych materiałów niezbędnych do syntezy. Ponadto związki otrzymano za pomocą zoptymalizowanej metody syntezy, która pozwala na ograniczenie czasu otrzymywania peptydów, a tym samym na dalszą redukcję kosztów.

W kolejnej pracy Habilitantka przeprowadziła badanie aktywności czterech komercyjnie dostępnych płynów do soczewek, płazich peptydów przeciwdrobnoustrojowych (citropiny 1.1 i temporyny A) oraz krótkich lipopeptydów (C16-KK-NH2 i C16-RR-NH2) w stosunku do

biofilmu bakteryjnego formowanego na soczewkach kontaktowych przez najczęstsze czynniki etiologicznych związane ze stosowaniem soczewek kontaktowych. Badane lipopeptydy wykazały wysoką aktywność wobec szczepów gronkowców i paciorkowców hodowanych na powierzchni soczewek kontaktowych. Działanie to może być wynikiem zapobiegania adhezji drobnoustrojów do kolonizowanej powierzchni poprzez oddziaływania elektrostatyczne z błoną drobnoustroju lub na zakłócanie dojrzewania biofilmu. Badane związki wykazały także zdolność do eliminacji dojrzałego biofilmu. Jednakże pomimo obiecującej aktywności przeciwbiofilmowej lipopeptydu C16-KK-NH2, Autorka zrezygnowała z kontynuacji badań z wykorzystaniem tego związku z uwagi na jego wysoką toksyczność wobec komórek ludzkich keratynocytów.

Na podstawie wyników badań aktywności antybiofilmowej oraz wstępnej oceny toksyczności lipopeptydów Habilitantka wytypowała lipopeptyd (C10)2-KKKK-NH2 jako najbardziej obiecujący związek do kontynuacji badań nad aktywnością przeciwbiofilmową. Lipopeptyd ten wykazał zdolność do poprawy skuteczności komercyjnie dostępnych płynów do soczewek w stosunku do biofilmu bakteryjnego formowanego na soczewkach kontaktowych. Związek wykazał także silną aktywność w stosunku do biofilmu formowanego przez bakterie Gram-dodatnie na powierzchni polistyrenowej, silniejszą w porównaniu z chloramfenikolem, ciprofloksacyną, gentamycyną oraz neomycyną. Ponadto Autorka zaobserwowała, że aktywność metaboliczna bakterii obniżona po ekspozycji na płyny oraz roztwory lipopeptydu stosowane oddzielnie, po ich usunięciu z medium, wracają do poziomu aktywności metabolicznej kontroli pozytywnej, co sugeruje, że populacja biofilmu zostaje odnowiona. Natomiast w sytuacji, kiedy wytworzony na soczewkach biofilm poddała ekspozycji na płyny suplementowane lipopeptydem efekt antybakteryjny utrzymywał się także po ich usunięciu.

W kolejnej pracy (4.7) poświęconej badaniom aktywności połączeń lipopeptydu (C10)2-KKKK-NH2 oraz (C12)2-KKKK-NH2 z gentamycyną, Habilitantka wykazała silne działanie synergistyczne badanych substancji w stosunku do biofilmu gronkowcowego, który był niewrażliwy na działanie samego antybiotyku. Dodatkowo, dzięki takiemu połączeniu, wartość aktywnego stężenia lipopeptydu (C10)2-KKKK-NH2 wobec biofilmu zostało zredukowane znacznie poniżej stężeń oznaczonych jako toksyczne wobec komórek ludzkich. Podobne zjawisko wykazało badanie wykorzystujące działanie lipopeptydu (C12)2-KKKK-NH2. Związek ten zastosowany samodzielnie nie wykazuje aktywności, natomiast w połączniu z gentamycyną działa przeciwbakteryjnie wobec biofilmu. Otrzymane wyniki sugerują duży

potencjał lipopeptydów jako środków wspomagających standardową terapię infekcji związanych z biofilmem. Brak synergizmu pomiędzy związkami w stosunku do hodowli wolnopływających, w zestawieniu z silną interakcją wobec biofilmu, zachęca do dalszego poszukiwania skutecznych kombinacji obejmujących związki, które nie wykazują interakcji w badaniu FIC.

Badania te dają również perspektywę poszerzania badań o pochodne charakteryzujące się brakiem toksyczności wobec komórek eukariotycznych i niską aktywnością mikrobiologiczną.

Przedstawione w osiągnięciu naukowym rezultaty, zawierają istotne elementy nowości naukowej co pozwala na jego pozytywną ocenę merytoryczną. Wnioski przedstawione w podsumowaniu, zostały oparte na analizie wyników badań doświadczalnych i zostały opublikowane w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Ponadto uzyskane rezultaty poza dużą wartością poznawczą, mają również duże znaczenie aplikacyjne. Niewątpliwie Habilitantka posiada szeroką wiedzę na temat eksperymentalnych technik służących do oceny aktywności mikrobiologicznej oraz badania profilu bezpieczeństwa badanych związków. Metody badawcze zastosowane w pracach zostały wybrane w sposób właściwy i w pełni nadają się do realizacji postawionego celu badań.

Dorobek naukowy

Analiza bibliometryczna Biblioteki Głównej GUMed wskazuje na 42 pozycje powiązane z nazwiskiem Kandydatki co wskazuje na dużą aktywność naukową (prac punktowanych). Punktacja wszystkich prac wynosi 1139, a *Impact Factor* czasopism, w których się ukazały to 80.695.

Indeks-H tych prac wynosi 14, a liczba cytowań to odpowiednio 438 prac z autocytowaniami i 406 bez autocytowań. W 16 punktowanych pracach Habilitantka jest pierwszym autorem, a w 19 autorem korespondencyjnym. Jednak uwagę przykuwa fakt, iż duża część prac przypada na okres przed uzyskaniem stopnia doktora, jednakże oceniając całkowity dorobek Pani Paduszyńskiej stwierdzam, iż jest on wystarczający, a duża ilość cytowań i wysoki indeks Hirscha wskazują na znaczny odzew w środowisku naukowym i świadczą o potencjale naukowym Kandydatki.

Dr Paduszyńska rozwija swoje badania w ramach licznych współprac krajowych (Katedra Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, Katedra Technologii Chemicznej Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej, Instytut Inżynierii Materiałów

Polimerowych i Barwników (Oddział Piastów), Wojskowy Instytut Chemii i Radiometrii (Warszawa), Przedsiębiorstwo Sprzętu Ochronnego MASKPOL S.A. (Konieczki), Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii (Ośrodek Diagnostyki i Zwalczania Zagrożeń Biologicznych w Puławach) oraz międzynarodowych (Katedra Chemii Analitycznej i Medycznej, Wydziału Nauk Farmaceutycznych na Uniwersytecie w Perugii we Włoszech, Skin Research Laboratory, School of Pharmacy, Uniwersytet w Londynie oraz Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Kilonia, Niemcy).

Uczestniczyła również w krótkoterminowych stażach w instytucjach zagranicznych:

W Katedrze Chemii Analitycznej i Medycznej, Wydziału Nauk Farmaceutycznych, Uniwersytetu w Perugii, Włochy; Prof. Benedetto Natalini; 6-miesięczne stypendium w ramach The Life Long Learning Programme (02.2008 – 08.2008)

Miesięczny staż w laboratorium farmaceutycznym Homeofarm (2010);

Skin Research Laboratory, School of Pharmacy, Uniwersytet w Londynie, Wielka Brytania; dr Majella Lane; miesięczny staż (08.2011 – 09.2011)

Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Kilonia, Niemcy; prof. Jens M. Schroeder; dwumiesięczny staż (06.2014 –07.2014)

Aczkolwiek większość z tych aktywności dotyczyła okresu sprzed uzyskania stopnia doktora, bądź krótko po tym.

Z danych bibliometrycznych wynika, iż Habilitantka po uzyskaniu stopnia doktora prezentowała rezultaty swoich badań na 13 krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. W jednym przypadku było to wystąpienia ustne, w pozostałych prezentacje posterowe, w których 3 razy Habilitantka była osobą prezentującą.

Pani dr Paduszyńska wykazywała się dobrą skutecznością w zdobywaniu środków finansowych ze źródeł zewnętrznych, co pozwoliło Jej na prowadzenie badań na światowym poziomie. Środki na badania naukowe pochodziły z Narodowego Centrum Nauki (grant promotorski, OPUS), Narodowego Centrum Badań i Rozwoju, subwencji Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego, Polskiej Agencji Rozwoju Przedsiębiorczości (Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka) oraz wielokrotnie w ramach działalności statutowej Uniwersytetu Medycznego w Gdańsku. Autorka uczestniczyła w projektach zarówno jako kierownik jak i wykonawca. Autorka, mimo szerokiej współpracy, również z sektorem gospodarczym, niestety nie ma patentów, zgłoszeń patentowych, bądź wdrożeń technologicznych.

Należy podkreślić, iż Habilitantka brała czynny udział w komitetach redakcyjnych czasopism o zasięgu międzynarodowym:
Current Topics in Medicinal Chemistry (IF=3,218); Bentham Science; (Zredagowanie numeru specjalnego na temat peptydow przeciwdrobnoustrojowcych zawierający 9 artykułów przeglądowych.
Antibiotics (IF = 3,893); MDPI – numer specjalny pt.”Mechanisms of Antimicrobial Peptides on Pathogens”
Pani dr Paduszyńska wielokrotnie była powoływana na recenzenta artykułów w tematycznych periodykach naukowych o zasięgu międzynarodowym.

Działalność naukowa Habilitantki była wielokrotnie nagradzana zarówno przed jak i po doktoracie m.in.: Pani dr Paduszyńska otrzymała nagrodę za najlepszą pracę eksperymentalną na Forum Młodych Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego (03.2011, Łódź); Indywidualną Nagrodę Rektora GUMed III stopnia (2015); Zespołową Nagrodę Rektora GUMed I stopnia (2012, 2015, 2017) i II stopnia (2016, 2018).

Aktywność dydaktyczna, popularyzacja nauki i aktywność organizacyjna

W mojej opinii aktywność dydaktyczna Pani dr Paduszyńskiej spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego. Potwierdza to Jej duża aktywność, będąca nie tylko realizacją obowiązków pracownika dydaktycznego Uczelni, lecz także wykazywana:
w ramach przygotowania zagadnień i pytań testowych na egzamin wstępny dla kandydatów na studia magisterskie na kierunku Przemysł Farmaceutyczny i Kosmetyczny,
w ramach pełnienia funkcji opiekuna nadzorującego przebieg sześciomiesięcznej praktyki zawodowej studentów Wydziału Farmaceutycznego z Odziałem Medycyny Laboratoryjnej w aptece ogólnodostępnej i szpitalnej,
jako promotora pomocniczego pracy doktorskiej.
Niestety nie ma informacji o promotorstwie prac magisterskich.

Pani dr Paduszyńska jest członkiem 2 towarzystw naukowych:
Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego (od 2013 jako członek Zarządu Oddziału PTFarm Gdańsk) oraz Europejskiego Towarzystwa Dermatologii Eksperymentalnej (European Society for Dermatological Research, ESDR)
Działalność organizacyjna Kandydatki związana jest głównie z organizacją i współprowadzeniem wydarzeń o charakterze popularno-naukowym, dodatkowo

Pani dr Paduszyńska prowadzi stronę Gdańskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego na portalu Facebook.

Podsumowanie

W oparciu o analizę dotychczasowych osiągnięć Habilitantki stwierdzam, iż Jej dorobek naukowy, aktywność dydaktyczna i organizacyjna spełniają kryteria stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk farmaceutycznych. Przedstawione mi do oceny osiągnięcie naukowe będące serią siedmiu oryginalnych prac stanowi znaczny wkład w rozwój prezentowanej dziedziny, a Habilitantka wykazała się zdolnością zaplanowania i prowadzenia eksperymentu oraz umiejętnością pracy w zespole. Wnoszę zatem o przyjęcie wniosku i dopuszczenie **dr n. farm. Małgorzaty Anny Paduszyńskiej (Dawgul),** do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

ADIUNKT
Zakład Chemii Leków
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
dr hab. Arkadiusz Surażyński