

Załącznik 2a

Autoreferat

Dr Radosław Grzegorz Mrówczyński

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Centrum NanoBioMedyczne

Poznań 2019

Spis treści

1. Curriculum Vitae	2
1.1 Dane personalne	2
1.2 Wykształcenie	2
1.3 Zatrudnienie	2
1.4 Granty	3
1.5 Nagrody	3
1.6 Staże	3
2. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):	4
2.1 Tytuł osiągnięcia naukowego	4
2.2 Prace wchodzące w skład cyklu habilitacyjnego	4
2.3 Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	5
3. Inne osiągnięcia	32
3.1 Opis dorobku naukowego nie związanego z tematem habilitacji	32
3.1.1 Prace opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora	32
3.1.2 Prace opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora	33
3.2 Konferencje	34
3.2.1 Prezentacje	34
3.2.2 Plakaty	36
3.2.3 Prace pokonferencyjne	37
3.3 Działalność dydaktyczna	37
3.4 Działalność recenzencka i edytorska	37
3.5 Współpraca krajowa i międzynarodowa	38
3.6 Szkolenia	38
3.7 Profile naukowe	38
3.8 Plany na przyszłość	38
3.9 Podsumowanie działalności naukowo - badawczej	39
4. Bibliografia	40

1. Curriculum Vitae

1.1 Dane personalne

Imię i Nazwisko : Radosław Grzegorz Mrówczyński

Adres: Centrum NanoBioMedyczne, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Umultowska 85, 61-614 Poznań

Telefon: 662 056 999

Email: radoslaw.mrowczynski@amu.edu.pl

1.2 Wykształcenie

- 2010 - 2014 Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin, Niemcy - stopień doktora nauk chemicznych, specjalność chemia organiczna i bioorganiczna, data obrony 31.01.2014, ocena: magna cum laude. Promotor: prof. dr hab. Jürgen Liebscher
- 2008 - 2010 - Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii - specjalność: Chemia Biologiczna - magister
- 2006 - 2010 - Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii - Biotechnologia - licencjat
- 2005 - 2008 - Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii - specjalność: Chemia Biologiczna - licencjat

1.3 Zatrudnienie

- 04/2017 - obecnie - Centrum NanoBioMedyczne, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu - stażysta podoktorski, grant OPUS „Nowe, wielozadaniowe nanocząstki w skojarzonej geno- i fototerapii” numer 2016/21/B/ST8/00477. Kierownik grantu prof. dr hab. Stefan Jurga
- 07/2015 - 04/2017 - Centrum NanoBioMedyczne, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu - kierownik projektu SONATA „Nowe metody modyfikacji polidopaminy do syntezy multimodlanych nanomateriałów” numer 2014/13/D/ST5/02793.
- 06/2014 - 06/2015 - Centrum NanoBioMedyczne, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu - stażysta podoktorski, grant „Rozwój kształcenia w zakresie nanotechnologii na Politechnice Poznańskiej w oparciu o współpracę z Centrum NanoBioMedycznym UAM i Università degli Studi di Trieste” numer POKL.04.01.01-00-049/13.
- 03-05/2014 - Centrum NanoBioMedyczne, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu - pracownik naukowo-techniczny, grant PBS (Projekt Badań Stosowanych) „Nanomateriały o potencjalnym zastosowaniu w biomedycynie” numer PBS1/A9/13/2012. Kierownik grantu prof. dr hab. Stefan Jurga
- 04/2011 - 03/2014 - pracownik naukowy w National Institute of Research and Development for Isotopic and Molecular Technologies, Kluż Napoka, Rumunia, grant europejski POS-CCE METAVASINT numer 550/2010. Kierownik grantu prof. dr hab. Jürgen Liebscher
- 10/2010-03/2011 – pracownik naukowy w grupie prof. Jürgena Liebschera, Universität zu Berlin, Berlin, Niemcy

1.4 Granty

- Stażysta podoktorski w grantie NCN **OPUS** „Nowe, wielozadaniowe nanocząstki w skojarzonej geno- i fototerapii” numer 2016/21/B/ST8/00477. Kierownik grantu prof. dr hab. Stefan Jurga
- Kierownik grantu NCBiR **LIDER** „Synteza i właściwości nowych, hybrydowych magnetycznych nanocząstek oraz ocena ich zastosowania jako wielozadaniowych nośników leków w łączonej terapii przeciwnowotworowej” numer LIDER/11/0055/L-7/15/NCBR/2016. Planowane zakończenie grantu grudzień 2019 roku.
- Kierownik grantu NCN **SONATA 7** „Nowe metody modyfikacji polidopaminy do syntezy multimodlanych nanomateriałów” numer 2014/13/D/ST5/02793. Planowane zakończenie grantu marzec 2019 roku.
- Stażysta podoktorski w grantie „Rozwój kształcenia w zakresie nanotechnologii na Politechnice Poznańskiej w oparciu o współpracę z Centrum NanoBioMedycznym UAM i Università degli Studi di Trieste” numer POKL.04.01.01-00-049/13
- Pracownik naukowo-techniczny, grant PBS Projekt Badań Stosowanych „Nanomateriały o potencjalnym zastosowaniu w biomedycynie” numer PBS1/A9/13/2012.
- Pracownik naukowy w National Institute of Research and Development for Isotopic and Molecular Technologies, Kluż Napoka, Rumunia, grant europejski POS-CCE METAVASINT numer 550/2010. Kierownik projektu prof. dr hab. Jürgen Liebscher.

1.5 Nagrody

- Nominacja do Polskiej Nagrody Inteligentnego Rozwoju 2019 pod patronatem Prezesa Urzędu Patentowego RP w kategorii: Naukowiec Przyszłości. Nominacja za realizację projektu pt.: „Synteza i właściwości nowych, hybrydowych magnetycznych nanocząstek oraz ocena ich zastosowania jako wielozadaniowych nośników leków w łączonej terapii przeciwnowotworowej”.
- Stypendium Ministra dla Wybitnych Młodych Naukowców w 2017 roku
- Stypendium START przyznane przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej (FNP) w 2017 roku

1.6 Staże

- Stypendysta Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej w ramach programu Bekkera. Staż będzie realizowany od 02/2019 do 08/2019 roku w Catalan Institute of Nanoscience and Nanotechnology (ICN2) w grupie Dr. Daniela Ruiz-Moliny.
- 11/2017-12/2017 stypendium wyjazdowe w ramach stypendium START realizowane w grupie prof. Ashok Kakkara, Wydział Chemii, Uniwersytet McGilla
- 02/2015 - Uniwersytet w Trieście, prof. Maurizio Prato
- 11/2015 - Korea Basic Science Institute, Dr Hae Jin Kim

2. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

2.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

Osiągnięciem naukowym będącym podstawą ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego jest cykl ośmiu prac zatytułowany

Materiały oparte na polidopaminie w nanomedycynie

2.2 Prace wchodzące w skład cyklu habilitacyjnego

[A1] Radosław Mrówczyński, Lidia Magerusan, Rodica Turcu, Jürgen Liebscher „Diazotransfer at polydopamine—a new way to functionalization” *Polym. Chem.* 2014, 5, 6593

IF (2014) = 5.52

Punkty MNiSW = 45

Cytowania WoS: 11, Scopus: 12, Google Scholar: 10

[A2] Radosław Mrówczyński,* Justyna Jurga-Stopa, Roksana Markiewicz, Emerson L. Coy, Stefan Jurga, Anna Woźniaka „Assessment of polydopamine coated magnetic nanoparticles in doxorubicin delivery” *RSC Adv.* 2016, 6, 5936

IF (2016) = 3.108

Punkty MNiSW = 35

Cytowania WoS: 17, Scopus: 16, Google Scholar: 17

[A3] Radosław Mrówczyński*, Artur Jędrzak, Kosma Szutkowski, Bartosz F. Grześkowiak, Emerson Coy, Roksana Markiewicz, Teofil Jesionowski, Stefan Jurga „Cyclodextrin-Based Magnetic Nanoparticles for Cancer Therapy” *Nanomaterials* 2018, 8, 170

IF (2018) = 3.504

Punkty MNiSW = 35

Cytowania WoS: 3, Scopus: 3, Google Scholar: 5

[A4] Artur Jędrzak, Bartosz F. Grześkowiak, Emerson Coy, Jacek Wojnarowicz, Kosma Szutkowski, Stefan Jurga, Teofil Jesionowski, Radosław Mrówczyński* „Dendrimer based theranostic nanostructures for combined chemo-and photothermal therapy of liver cancer cells in vitro” *Colloids Surf. B* 2019, 173, 698

IF (2018) = 3.997

Punkty MNiSW = 35

Cytowania WoS: 0, Scopus: 0, Google Scholar: 1

[A5] Damian Maziukiewicz, Bartosz F. Grześkowiak, Emerson Coy, Stefan Jurga, **Radosław Mrówczyński*** „NDs@PDA@ICG conjugates for photothermal therapy of glioblastoma multiforme” *Biomimetics* 2019, 4, 3

IF = oczekuje

Punkty MNiSW = oczekuje

Cytowania WoS: 0, Scopus: 0, Google Scholar: 0.

[A6] **Radosław Mrówczyński**, L. Emerson Coy, Błażej Scheibe, Tomasz Czechowski, Maria Augustyniak-Jabłokow, Stefan Jurga, Krzysztof Tadyszak* „Electron Paramagnetic Resonance Imaging and Spectroscopy of Polydopamine Radicals” *J.Phys.Chem. B* 2015, 119, 10341

IF (2015) = 3.187

Punkty MNiSW = 30

Cytowania WoS: 15, Scopus: 14, Google Scholar: 16

[A7] **Radosław Mrówczyński***, Rokšana Markiewicz, Jürgen Liebscher „Chemistry of Polydopamine Analogues” *Polym. Inter.* **2016**, 65, 1288

IF (2016) = 2.07

Punkty MNiSW = 35

Cytowania WoS: 24, Scopus: 24, Google Scholar: 27

[A8] **Radosław Mrówczyński*** „Polydopamine-Based Multifunctional (Nano)materials for Cancer Therapy” *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2018, 10, 7541

IF (2018) = 8.097

Punkty MNiSW = 40

Cytowania WoS: 11, Scopus: 21, Google Scholar: 23

Sumaryczny IF = 29.483

Suma punktów MNiSW = 255

*** corresponding author (autor korespondencyjny)**

Mój wkład w powstanie w/w cyklu publikacji został opisany w załączniku nr 3. Oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie w/w publikacji, dołączone są do dokumentacji habilitacyjnej.

2.3 Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

WSTĘP

Rak jest szeroką nazwą przypisywaną dużej rodzinie chorób, które mają wspólne cechy, określane jako "sześć cech raka". Należą do nich wzrost i podział komórek bez odpowiednich sygnałów, ciągły wzrost i podział nawet przy odmiennych sygnałach, unikanie apoptozy, czyli zaprogramowanej śmierci komórki, nieograniczona liczba podziałów komórkowych, silny proces angiogenezy oraz inwazja na tkanki i tworzenie przerzutów.[1]

Światowa Organizacja Zdrowia przewiduje, że choroby nowotworowe będą w coraz większym stopniu odpowiedzialne za śmierć ludzi w najbliższej przyszłości. W 2012 roku odnotowano 14 milionów nowych przypadków zachorowań na różnego typu choroby nowotworowe. Szacuje się, że liczba ta wzrośnie o 70% w ciągu następnych dwóch dekad. Do najczęstszych typów chorób nowotworowych można zaliczyć raka jajnika, płuc, prostaty, trzustki, jelita grubego, wątroby oraz skóry.

Obecnie jednym z największych wyzwań jest walka z rakiem wątroby, gdyż brakuje rutynowych i skutecznych metod walki z tym nowotworem.[2] Bardzo często nie można wykonać resekcji guza ze względu na jego trudne umiejscowienie w wątrobie, co komplikuje dalsze leczenie. Ponadto, radioterapia będąca często stosowaną metodą leczenia, w przypadku innych nowotworów, okazuje się nieskuteczna ze względu na niską tolerancję promieniowania przez zdrowe komórki wątroby. W wyniku czego jedynym rozwiązaniem jest przeszczep nowego organu w miejsce tego zaatakowanego przez nowotwór. W związku z tym istnieje ogromna potrzeba opracowania nowych materiałów i metod, które pozwolą na skuteczną walkę z chorobami nowotworowymi, a w szczególności z rakiem wątroby.

Słowo teranostyka powstało ze złożenia dwóch słów terapia (leczenie) i diagnostyka (wykrywanie chorób) i oznacza nowe podejście do medycyny, mające na celu tworzenie nowych rozwiązań technologicznych umożliwiających jednoczesne wykrywanie i leczenie chorób.[3] Teranostyka zazwyczaj sięga do najnowszych technologii i materiałów, takich jak nanotechnologia, nanomateriały, biomateriały i biomimetyki, które pozwalają na jednoczesne wykrywanie procesów chorobowych w ciele pacjenta i podjęcie działań, które umożliwiają dostarczenie leków do obszarów objętych patologią. Taka ukierunkowana interwencja pozwala nie tylko na szybsze podjęcie leczenia, ale także umożliwia dostosowanie metod leczenia (w tym dawki leku) do indywidualnych potrzeb pacjenta. Teranostyka jako diagnostyka i terapia na poziomie molekularnym jest podstawą nowoczesnej medycyny precyzyjnej i/lub medycyny spersonalizowanej, zwanej także medycyną szytą na miarę.

W ostatnich dwóch dekadach nastąpił gwałtowny rozwój nanotechnologii, z którym związane są duże nadzieje w opracowaniu nowych narzędzi do walki z chorobami nowotworowymi. Zainteresowanie wykorzystaniem nanomateriałów do celów medycznych doprowadziło do rozwoju nowej gałęzi badań zwanej nanomedycyną.[4–6] W obszarze nanomedycyny można wyróżnić badania skupiające się nad zastosowaniem nanomateriałów jako nośników leków, zorientowanych na choroby onkologiczne, opracowanie nowych sensorów dla analityki medycznej oraz materiałów o właściwościach przeciwbakteryjnych. Istotnym obszarem nanomedycyny jest obrazowanie diagnostyczne, które można zdefiniować jako nieinwazyjną metodę identyfikacji i monitorowania choroby w ciele. Nanomateriały stosuje się m.in. w diagnostyce ze względu na wyjątkowe właściwości optyczne, magnetyczne i strukturalne, wynikające ze zmodyfikowanej w nanoskali mechaniki kwantowej. Jednak najprężniej rozwijanym obszarem nanomedycyny jest synteza nowych, wielozadaniowych nanonośników i opracowywanie metod leczenia z ich zastosowaniem. Wielozadaniowe nanonośniki najnowszej generacji mają przewagę nad nanomateriałami niższej generacji, ponieważ mogą służyć jako platforma do równoczesnego dostarczania leków

(np. chemioterapeutyków i materiałów genetycznych) i środków kontrastowych, co czyni je narzędziami teranostycznymi będącymi obecnie podstawą nanomedycyny.

Struktura wielozadaniowych teranostycznych nanomateriałów oparta jest głównie na nieorganicznych nanocząsteczkach, nanomateriałach węglowych, liposomach, micelach i polimerowych nanocząstkach, a także układach hybrydowych uzyskanych poprzez łączenie materiałów z wyżej wymienionych kategorii. Głównym wyzwaniem w zakresie wielozadaniowych nanomateriałów jest ich przygotowanie aby łączyły wszystkie pożądane cechy w jeden system.[7–9] Zatem właściwy wybór rdzenia do syntezy teranostycznego nanomateriału jest niezwykle istotny, ponieważ może on już zapewniać jeden z wymaganych atrybutów takiego materiału np. może być on środkiem kontrastującym w obrazowaniu magnetycznym rezonansie jądrowym (ang. Magnetic Resonance Imaging, MRI). Ponadto, powłoka nanocząstek winna zapewniać łatwą funkcjonalizację, biokompatybilność, stabilność koloidalną układu i dodatkowe cechy np. właściwości fototermiczne.

Kluczową sprawą jest dostarczanie „ładunku” do komórek nowotworowych z wykorzystaniem nanomateriałów. Jednym z głównych mechanizmów postulowanych w literaturze, według którego nanocząstki docierają do komórek rakowych i mogą się akumulować w zainfekowanych tkankach i komórkach, jest zjawisko zwiększonej przenikalności i retencji (ang. Enhance Permeability and Retention Effect, EPR).[10,11] W tym efekcie podwyższona porowatość naczyń krwionośnych w okolicach nowotworu spowodowana jest zwiększonym metabolizmem komórek rakowych i potrzebą podtrzymania zwiększonego wzrostu w stosunku do układu naczyniowego zdrowej tkanki. Poprzez utworzone pory nanocząstki mogą wnikać do przestrzeni śródmiąższowej nowotworu.

Najnowszym trendem w nanomedycynie jest otrzymywanie nanostruktur, które mogą nie tylko być zastosowane w równoczesnym leczeniu i diagnostyce, ale także pozwalają na zastosowanie więcej niż jednej metody leczenia w tym samym czasie. Dzięki temu przeprowadzone leczenie jest efektywniejsze oraz skutkuje rzadszą regresją chorób nowotworowych oraz poprawia komfort życia pacjentów. Obecnie takie podejście realizowane jest poprzez syntezę nanostruktur umożliwiających prowadzenie terapii skojarzonych np. łączenie chemioterapii z terapią fototermiczną, terapii genowej z terapią fototermiczną, czy chemioterapii z terapią genową.[12–15] Zasadniczo koszty przygotowania materiałów wielofunkcyjnych są wyższe niż koszty materiałów niższej generacji. Jednak w świetle ostatnich doniesień na temat stosunku kosztów do użyteczności oczywiste jest, że wielofunkcyjne nanohybrydy mają przewagę nad nanomateriałami niższej generacji, mimo że ich koszty produkcji są wyższe.[16] W związku z tym tanie i skuteczne metody syntezy multimodalnych nanomateriałów są wymagane, aby uczynić je rynkowymi. Dlatego dobór materiałów, z których konstruuje się wielozadaniowe nanonośniki, jest ważnym parametrem nie tylko z punktu inżynierskiego, aby wprowadzić pożądane cechy do nanopreparatu, ale ma także ważny aspekt ekonomiczny przekładający się na jego zastosowanie w terapii nowotworowej.

Magnetyczne nanocząstki tlenku żelaza (magnetytu, Fe_3O_4) to grupa nanomateriałów, które można stosunków tanio, łatwo i powtarzalnie uzyskać w różnych rozmiarach i kształtach za pomocą dobrze ustanowionych protokołów syntezy.[17,18] Ponadto, magnetyczne nanocząstki mogą być zebrane z zastosowaniem magnesu, co ułatwia etap oczyszczania materiałów. Jedną z najważniejszych cech magnetycznych nanocząstek Fe_3O_4 jest ich zdolność kontrastowania w obrazowaniu z zastosowaniem magnetycznego rezonansu jądrowego (MRI), co pozwala na pokrycie "diagnostycznej" części materiałów teranostycznych

budowanych na ich bazie.[19,20] Co więcej, z tą grupą materiałów związane są wielkie nadzieje, gdyż postuluje się, że magnetyczne nanocząstki mogą być kierowane z wykorzystaniem zewnętrznego pola magnetycznego do komórek lub tkanek objętych stanem patologicznym. Ponadto, nanocząstki superparamagnetyczne mogą być stosowane do generowania lokalnej hipertermii przez zastosowanie zmiennego pola magnetycznego, co ma pozwolić na uśmiercenie komórek nowotworowych.[21,22] Jednak ta metoda zwalczania komórek nowotworowych jest jeszcze daleka od praktycznych zastosowań klinicznych. Magnetyczne nanocząstki Fe_3O_4 przykuwają zainteresowanie wielu grup badawczych zajmujących się syntezą wielofunkcyjnych nanomateriałów, ponieważ pozwalają one w prosty sposób połączyć wiele pożądanых cech w jeden materiał.[23,24]

Polidopamina to polimer, który dopiero od niedawna stosowany jest w chemii materiałów, nanotechnologii i biomedycynie.[25–27] Dotychczas materiał ten znalazł zastosowanie m.in. w tworzeniu baterii litowo-jonowych, fotokatalizie, organokatalizie, oczyszczaniu wody z metali ciężkich i zanieczyszczeń organicznych, syntezie związków bakteriobójczych, biosensorach, drukowaniu molekularnym, inżynierii tkankowej oraz bioobrazowaniu.[28–36] Na podkreślenie zasługuje fakt, że jej właściwości adhezyjne są niezależne od typu pokrywanego materiału, dlatego można łatwo ją osadzić na powierzchniach hydrofobowych takich jak teflon, a także na szkłe, krzemie, materiałach węglowych oraz różnego typu cząstkach metalicznych.[37,38] Ponadto, pokrycie polidopaminą znacznie poprawia biokompatybilność otoczonych powierzchni, co jest szczególnie ważne w przypadku medycznego zastosowania otaczanych substratów.[39] Co więcej, koszt przygotowania powłoki polidopaminowej jest niski, ponieważ można uzyskać ją poprzez prosty protokół polegający na zanurzeniu substratu w zasadowym roztworze dopaminy z dostępem powietrza. Powierzchnie pokryte polidopaminą można następnie łatwo sfunkcjonalizować różnymi bio- i makromolekułami poprzez reakcję Michaela lub Schiffa pomiędzy grupami aminowymi lub tiolowymi a grupami chinonowymi obecnymi w strukturze polidopaminy. Istotną cechą polidopaminy jest absorpcja promieniowania w zakresie bliskiej podczerwieni i zdolność jego zamiany w ciepło z wysoką konwersją fototermiczną równą 40%. Dzięki temu przyciągnęła ona uwagę wielu grup naukowych jako potencjalny odczynnik do terapii fototermicznej.[40–42]

Terapia fototermiczna (ang. photothermal therapy, PTT) to jeden z typów terapii antyrakowej polegającej na wprowadzeniu nanomateriałów do zmienionego nowotworowo miejsca, a następnie naświetlaniu ich promieniowaniem elektromagnetycznym, najczęściej laserowym promieniowaniem podczerwonym.[43] Nanocząstki aktywowane promieniowaniem nagrzewają się, powodując śmierć komórek rakowych. Przeważnie materiałami używanymi, służącymi jako odczynniki fototermiczne, są materiały na bazie nanocząstek złota, materiały węglowe-grafen oraz nanorurki (single wall nanotubes).[44–49] Jednak dużym problemem w zastosowaniu tych materiałów jest ich toksyczność, gdyż różne badania wskazują, że nanocząstki złota mogą być toksyczne w zależności od stężenia i rozmiaru.[50,51] Także nanorurki węglowe są kwestionowane jako potencjalne materiały do zastosowań w nanomedycynie ze względu na podobieństwo do igieł azbestowych i związaną z tym toksycznością.[52]

Biorąc pod uwagę wyżej wymienione argumenty, w swoich badaniach skupiłem się na syntezie nowych nanomateriałów opartych na polidopaminie oraz ich zastosowaniu w nanomedycynie ze szczególnym uwzględnieniem skojarzonej chemio- i fototerapii raka wątroby. W swoich pracach postanowiłem uwzględnić zarówno aspekt ekonomiczny

i „inżynieryjny” syntezy materiałów poprzez wykorzystanie metod nie wymagających wysokich nakładów finansowych i skomplikowanej aparatury oraz substratów pozwalających na wprowadzenie kilku pożądanych cech do pojedynczego hybrydowego materiału. W syntezie materiałów wykorzystałem polidopaminę w połączeniu z superparamagnetycznymi nanocząstkami tlenku żelaza Fe_3O_4 , które powinny zapewnić magnetyczną separację nośnika, zdolności kontrastujące w MRI a powłoka polidopaminy-biokompatybilność i właściwości fototermiczne. W prowadzonych badaniach skorzystałem także z nanodiamentów-struktur węglowych, w przypadku których wzrasta zainteresowanie wykorzystaniem do celów medycznych.

W momencie podjęcia przeze mnie przedstawionej tematyki badawczej, w literaturze przedstawiono zaledwie kilka przykładów materiałów zbudowanych z magnetycznych nanocząstek tlenku żelaza i polidopaminy oraz ich zastosowania w nanomedycynie.

W pracy autorstwa Hashemi-Moghaddam i współpracowników pokazano, że magnetyczne nanocząstki tlenku żelaza Fe_3O_4 otoczone polidopaminą mogą adsorbować 5-fluorouracyl, jeden z używanych klinicznie leków przeciwnowotworowych. Wykazano także, że możliwe jest doprowadzenie otrzymanych materiałów do komórek nowotworowych z zastosowaniem zewnętrznego pola magnetycznego. W konsekwencji pozwoliło to na zwiększenie akumulacji otrzymanych układów wewnątrz masy guza i wydłużenie czasu życia zwierząt poddanych leczeniu.[53]

W innej publikacji autorstwa Wu i współpracowników zaproponowano klastry magnetyczne zbudowane z superparamagnetycznych nanocząstek pokrytych polidopaminą.[54] Otrzymane struktury miały około 50 nm i były pokryte około 4 nm warstwą PDA. W kolejnym kroku komórki raka wątrobowokomórkowego HepG2 i komórki raka szyjki macicy HeLa poddano inkubacji z syntetyzowanymi materiałami, a następnie podane naświetleniu wiązką laserową o długości fali 808 nm. W celu przeprowadzenia terapii fototermicznej autorzy wykorzystali silne właściwości fototermiczne oraz absorpcję w zakresie bliskiej podczerwieni polidopaminy. Otrzymane materiały odznaczały się także wysokimi zdolnościami kontrastującymi w MRI. Późniejsze badania tej samej grupy wykazały, że takie nanostruktury sfunkcjonalizowane za pomocą łańcuchów PEG-u i zielenią indocyjaninową (ICG) mogą być stosowane *in vivo* do skutecznego zabijania komórek raka wątroby poprzez hipertermię generowaną promieniowaniem podczerwonym. [55]

Nieco większe klastry magnetyczne otoczone polidopaminą również zostały wykorzystane *in vivo* w fototerapii raka szyjki macicy i raka płuc. Materiały te odznaczały się bardzo dobrymi właściwościami fototermicznymi, jednak ich właściwości kontrastujące w MRI znacznie się różniły między sobą mimo bardzo zbliżonej struktury. Ponadto, eksperymenty biologiczne prowadzono w różnych warunkach, dlatego trudno porównywać efektywność przeciwnowotworową opisanych nanostruktur.[56,57]

Należy podkreślić fakt, że żaden z omawianych materiałów zbudowanych na magnetycznych nanocząstkach otoczonych polidopaminą nie umożliwiał równoczesnego stosowania skojarzonej chemio- i fototerapii przeciwnowotworowej oraz nie brał pod uwagę modyfikacji powierzchni przygotowanych magnetycznych nanocząstek opłaszczonych polidopaminą. Ponadto, brak było doniesień o materiałach bazujących na bazie nanodiamentów otoczonych polidopaminą.

HYBRYDOWE MATERIAŁY ZBUDOWANE NA BAZIE POLIDOPAMINY.

Reakcja „Click” jako nowa metoda modyfikacji funkcjonalizacji nanostruktur pokrytych polidopaminą.

W pierwszym kroku nad projektowaniem nanomateriałów na bazie polidopaminy zauważyłem, że ugrupowania chinonowe obecne w tym materiale są dość wszechstronne i pozwalają na stosunkową prostą funkcjonalizację pokrytych powierzchni z wykorzystaniem szerokiego wachlarza substratów zawierających ugrupowania aminowe i tiolowe. Mimo to, nie podjęto prób rozszerzenia możliwości funkcjonalizowania polidopaminy o metody, które mogłyby wzmocnić jej wykorzystanie. Dlatego za cel badań obrałem sobie otrzymanie magnetycznego nanonośnika pokrytego polidopaminą, który mógłby być łatwo sfunkcjonalizowany innymi niż standardowo stosowane reakcje Michaela i Schiffa, ale także z wykorzystaniem szerokiej gamy substratów. Do takiego typu reakcji należy 1,3-dipolarna cykloaddycja Huisgena katalizowana jonami miedzi na +I stopniu utlenienia pomiędzy terminalnymi alkinami i organicznymi azydami.[58] W wyniku tej reakcji dochodzi do trwałego połączenia substratów poprzez utworzenie pierścienia 1,2,3 triazolowego. W związku z tym w czasie prac nad uzyskaniem nowej funkcjonalnej nanoplatformy opartej na polidopaminie musiałem rozwiązać problem wprowadzania ugrupowań azydowych bądź alkinowych na powierzchnię pokrytych polidopaminą nanomateriałów. Biorąc pod uwagę, że postulowano w literaturze, że w strukturze polidopaminy mogą znajdować się otwarte łańcuchowe formy dopaminy z wolnymi pierwszorzędowymi grupami aminowymi przeprowadziłem po raz pierwszy reakcję diazotransferu, co pozwoliło mi na zamianę grup aminowych na grupy azydowe i ich bezpośrednie wprowadzenie w strukturę polimeru.[A1] Był to pierwszy w literaturze światowej przykład otrzymania magnetycznej nanoplatformy pokrytej polidopaminą zawierającą ugrupowania azydowe. Co więcej, dzięki silnym właściwościom adhezyjnym polidopaminy ten sposób funkcjonalizacji może być z łatwością zastosowany na innych materiałach, co jest niezwykle istotne w procesie projektowania nowych zaawansowanych materiałów opartych na polidopaminie dla nanomedycyny oraz innych zastosowań. Na uwagę zasługuje fakt, że magnetyczne nanocząstki zostały wytworzone z wykorzystaniem taniej i powtarzalnej metody współstrącaniowej, w której do syntezy nanocząstek wykorzystałem sole żelaza II i III wstrzykiwane do zasadowego roztworu amoniaku. Otoczka polidopaminowa nanocząstek została otrzymana w wyniku polimeryzacji dopaminy w środowisku zasadowym buforu Tris-u o pH= 8.5 w temperaturze pokojowej. Proces polimeryzacji dopaminy można kontrolować poprzez zmianę stężenia substratu oraz czasu i temperatury reakcji.

Aby potwierdzić, że przeprowadzona reakcja diazotransferu zakończyła się sukcesem, zarejestrowano widmo w podczerwieni (FTIR) otrzymanego materiału. Na widmie widoczny był silny sygnał przy 2107 cm^{-1} , który jednoznacznie przypisano do grup azydowych. Dodałkowo, otrzymany materiał scharakteryzowano z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM) oraz dynamicznego rozpraszania światła (DLS). W kolejnym kroku azydpolidopaminę osadzoną na magnetycznych nanocząstkach wykorzystano w katalizowanej jonami miedzi cykloaddycji Huisgena należącej do reakcji typu Click. W przeprowadzonych syntezach przyłączono ugrupowania azydowe azydpolidopaminy i pochodne propargilowe, molekuł o znaczeniu biologicznym, takich jak prolina (aminokwas), dansyl (barwik fluorescencyjny), galaktoza (cukier, dający możliwość celowania do komórek nowotworowych) oraz biotyna. Przeprowadzone reakcje cykloaddycji doprowadziły do powstania pierścienia 1,2,3-triazolowego i kowalencyjnego przyłączenia wymienionych

molekuł do powierzchni magnetycznych nanocząstek. Otrzymane hybrydowe materiały zostały scharakteryzowane z wykorzystaniem dynamicznego rozpraszania światła (DLS), spektroskopii w podczerwieni, spektroskopii fotoelektronów w zakresie promieniowania X (XPS) oraz pomiarów magnetycznych. Średnica hydrodynamiczna materiałów z badań DLS wyniosła odpowiednio 194 nm, 114 nm, 186 nm, i 219 nm dla materiałów modyfikowanych biotyną, galaktozą, dansylem i proliną.

Modyfikacja powierzchni nanocząstek po reakcji 1,3-dipolarniej cykloaddycji Huisgena została potwierdzona z wykorzystaniem spektroskopii FTIR oraz XPS. W toku przeprowadzonych analiz zaobserwowano, że nie wszystkie grupy azydkowe zostały wykorzystane w reakcji Click, gdyż na widmie w podczerwieni otrzymanych hybrydowych układów ciągle widoczny był sygnał przy 2107 cm^{-1} . Badanie metodą XPS również wskazywało na obecność nieprzereagowanych grup azydkowych. Niepełne przereagowanie tych grup najpewniej było spowodowane dużymi zawadami sterycznymi w azydopolidopamine, co uniemożliwiło pełne ich wykorzystanie w reakcji z pochodnymi proagilowymi proliny, biotyny, galaktozy i dansylu.

Wykorzystanie polidopaminy do budowy nośnika leków.

W jednym z pierwszych etapów prac nad wykorzystaniem polidopaminy w nanomedycynie zbadałem wykorzystanie nanocząstek magnetytu opłaszczonych polidopaminą jako nośników leku do komórek nowotworowych raka szyjki macicy HeLa [A2]. Ten typ linii nowotworowej jest szeroko stosowanym standardem w nanomedycynie w ocenie efektywności terapii przeciwnowotworowej z wykorzystaniem nanomateriałów. Do tych badań ponownie wykorzystałem magnetyczne nanocząstki otrzymane w reakcji współstrącaniowej soli żelaza II i III w zasadowym roztworze amoniaku. Otrzymane nanocząstki pokryłem polidopaminą według procedury opisanej w pracy [A1].

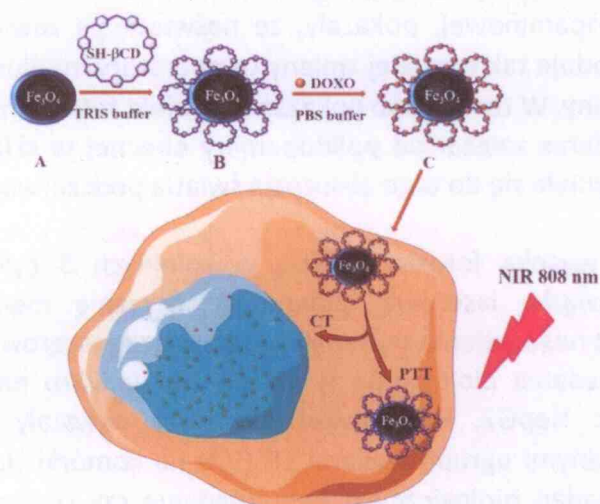
Następnie na powierzchnię magnetycznych nanocząstek osadziłem doksorubicynę, modelowy lek przeciwnowotworowy, który także może być stosowany w chemioterapii raka wątrobowokomórkowego. Załadunek leku przeprowadziłem w buforze fosforanowym o $\text{pH} = 7.4$ w temperaturze pokojowej. Dobór wartości pH nie był przypadkowy. Aby przyłączyć lek do nośnika wykorzystano oddziaływanie hydrofobowe pomiędzy doksorubicyną a polidopaminą osadzoną na powierzchni nanocząstek. W pH neutralnym chlorowodorek doksorubicyny zyskiwał bardziej hydrofobowy charakter, co pozwalało na wzmocnienie oddziaływania z nośnikiem. W $\text{pH} > 8$ pokazano, że doksorubicyna może silnie degradować, co mogło doprowadzić do fałszywych rezultatów. Załadunek doksorubicyny na powierzchnię nośnika z polidopaminą wyznaczyłem korzystając ze spektroskopii UV-Vis oraz standardowej metody krzywej kalibracyjnej. Załadunek dla otrzymanego nośnika wyniósł 0.46 mg doksorubicyny na miligram nośnika. Profil uwalniania leku z nośnika zbadano w roztworach buforowych o $\text{pH} = 4.5$ oraz 5.5 , które odzwierciedlały kwasowy charakter organelli komórek nowotworowych endosomów i lizosomów, w których zachodzi degradacja nanomateriałów i dochodzi do uwolnienia „ładunku”. Przeprowadzone analizy wykazały, że doksorubicyna uwalniała się w sposób zależny od pH , co zwiększało atrakcyjność i funkcjonalność otrzymanego nośnika. Niestety jego stabilność nie była zbyt duża w niskim pH i nie pozwalała na przeprowadzenie wiarygodnych pomiarów uwalniania doksorubicyny już po około 20 h. Mimo to zdecydowano się na przeprowadzenie testów biologicznych na poziomie *in vitro*, aby zbadać cytotoksyczność otrzymanego nanonośnika oraz jego aktywność w dostarczeniu leku do komórek

nowotworowych. Testy cytotoksyczności przeprowadzono z wykorzystaniem metod WST-1 i LIVE/DEAD zarówno dla pustego nośnika oraz nośnika z lekiem. Badania wykazały, że materiał bez leku nie wywoływał toksycznych efektów w komórkach raka szyjki macicy HeLa w szerokim zakresie stężeń. Po wprowadzeniu nośnika wraz z lekiem zaobserwowano wysoki spadek żywotności komórek HeLa, który był zależny od stężenia materiału, jak i czasu inkubacji, co potwierdziło założenie, że magnetyczne nanocząstki otoczone polidopaminą mogą efektywnie dostarczać lek przeciwnowotworowy do komórek rakowych. Wnikanie nośnika wraz z lekiem do komórek HeLa było obserwowane wykorzystując konfokalną mikroskopię fluorescencyjną.

Polidopamina w syntezie hybrydowych materiałów dla skojarzonej chemio- i fototerapii raka wątrobowokomórkowego.

Mając na względzie wyniki opisane w publikacji [A2], w dalszej pracy skupiłem się na zbudowaniu teranostycznego nanonośnika, który pozwalałby na zwiększenie załadunku leku przeciwnowotworowego oraz przeprowadzenie skojarzonej chemio- i fototerapii raka wątrobowokomórkowego oraz wykazywały właściwości kontrastujące w MRI. Fundusze na realizację badań pozyskałem w ramach grantu LIDER.

Grupą związków szeroko wykorzystywaną do enkapsulacji molekuł o charakterze hydrofobowym, w tym leków przeciwnowotworowych, są cyklodekstryny.[59,60] W swoich badaniach założyłem kowalencyjne dołączenie β -cyklodekstryn do nośnika, aby uniknąć ich niekontrolowanego uwalniania się i tym samym potencjalnej utraty załadowanej substancji czynnej. W tym celu wykorzystałem tiolowaną pochodną β -cyklodekstryny (SH- β CD), którą dołączono do powierzchni magnetycznych nanocząstek opłaszczonych polidopaminą w reakcji tio-Michaela korzystając z akceptorowych właściwości grup chinonowych w polidopaminie.



A. Fe_3O_4 @PDA B. Fe_3O_4 @PDA@SH- β CD C. Fe_3O_4 @PDA@SH- β CD@DOXO

Rys. 1 Schematyczne przedstawianie procesu syntezy magnetycznych materiałów opłaszczonych polidopaminą i sfunkcjonalizowanych ugrupowaniami β -cyklodekstryn oraz ich zastosowanie w skojarzonej chemio- i fototerapii raka wątroby *in vitro*.

Dla ułatwienia, w tej części materiały będą adresowane z uwzględnieniem opisów zawartych na Rys.1.

Obecność grup SH- β CD na powierzchni nanomateriału **B** została potwierdzona na widmie FTIR, gdzie widoczne były sygnały przy 1078 and 1152 cm^{-1} , które przypisano do drgań pochodzących od wiązań C-O i C-O-C obecnych w SH- β CD.

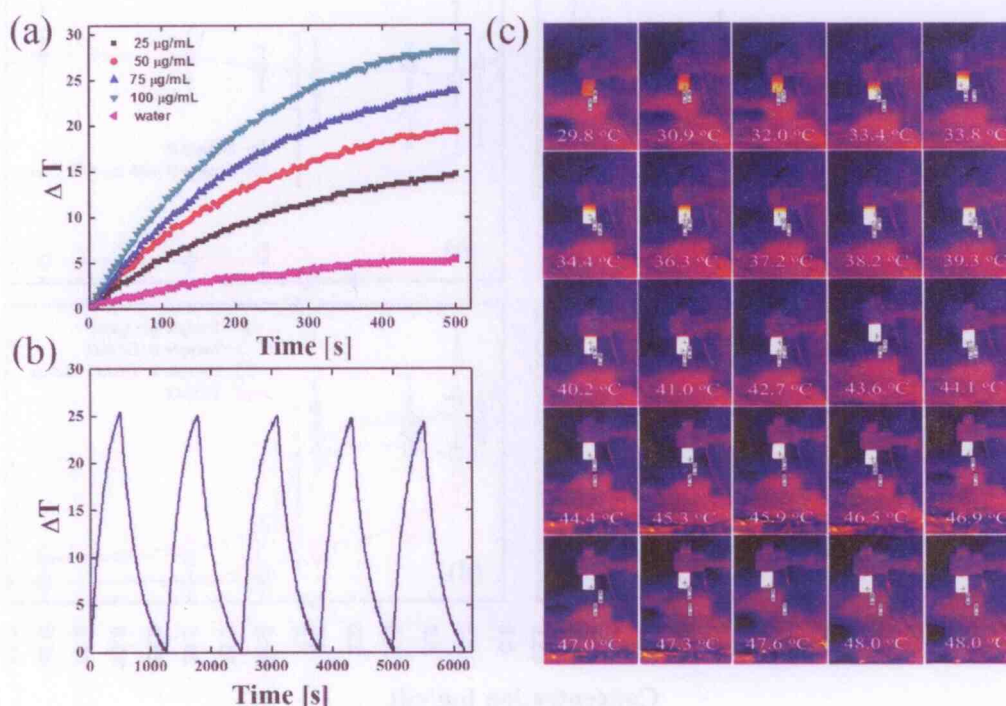
Analiza widma XPS otrzymanego hybrydowego układu **B** wskazała na obecność siarki w próbce, której jedynym źródłem mogła być tiolowa pochodna β -cyklodekstryny. W widmie XPS materiału **A** nie zaobserwowano sygnału siarki.

W kolejnym etapie określono także stopień funkcjonalizacji materiału grupami SH- β CD w próbce wykorzystując termiczną analizę grawimetryczną (TGA). Analiza widma termogravimetrycznego wskazała na około 4% zawartość pochodnej cyklodekstryny w wytworzonym hybrydowym nanonośniku **B**. Przeprowadzone badania załadunku doksorubicyny z wykorzystaniem otrzymanego nośnika wykazały, że odznaczał się on blisko dwukrotnie większą zdolnością enkapsulacji leku niż nośnik opisany w pracy [A2]. Było to duże osiągnięcie gdyż dzięki temu można było znacząco ograniczyć ilość niezbędnego materiału do dostarczenia tej samej ilości leku jak w przypadku poprzednio badanego materiału. Badania profilu uwalniania wykazały blisko 3 krotnie większe uwolnienie leku z nośnika w sposób zależny od pH niż w przypadku nośnika opisanego w pracy [A2]. Co więcej, otrzymany nanonośnik odznaczał się wyższą stabilnością w warunkach lekko kwasowych. Zarówno badania nad oceną zdolności enkapsulacji leku przeciwnowotworowego oraz profilu uwalniania przeprowadzono korzystając ze spektroskopii UV-Vis.

W następnym kroku zbadałem właściwości fototermiczne otrzymanego materiału **B**. W tym celu zawieszinę nanocząstek w wodzie naświetlano laserem o dł. fali 808 nm oraz mocy 2 W/cm^2 . Zmiana temperatury medium w zależności od czasu naświetlania i stężenia nanocząstek przedstawiona jest na Rys.2a. Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że wraz ze wzrostem stężenia nanomateriału zmiana temperatury medium wynosiła od 15 do około 28 $^{\circ}\text{C}$ przy najwyższym stężeniu materiału. Eksperymenty przeprowadzone ze wzrastającym stężeniem magnetytu, bez otoczki polidopaminowej, pokazały, że naświetlenie zawiesiny magnetytu o stężeniu 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ nie powoduje tak wysokiej zmiany temperatury medium jak 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ materiału **B** z otoczką polidopaminy. W ten sposób pokazano, że efekt fototermiczny otrzymanego materiału **B** w znacznie mierze zależał od polidopaminy obecnej w składzie materiału a tylko w małym stopniu przyczyniała się do tego absorpcja światła podczerwonego przez rdzeń magnetyczny.

Materiał **B** odznaczał się bardzo wysoką fotostabilnością w kolejnych 5 cyklach, polegających na naświetlaniu próbki wiązką laserową, powodując ogrzanie medium, następnie ochłodzenie medium i ponowne naświetlenie tej samej próbki wiązką laserową.

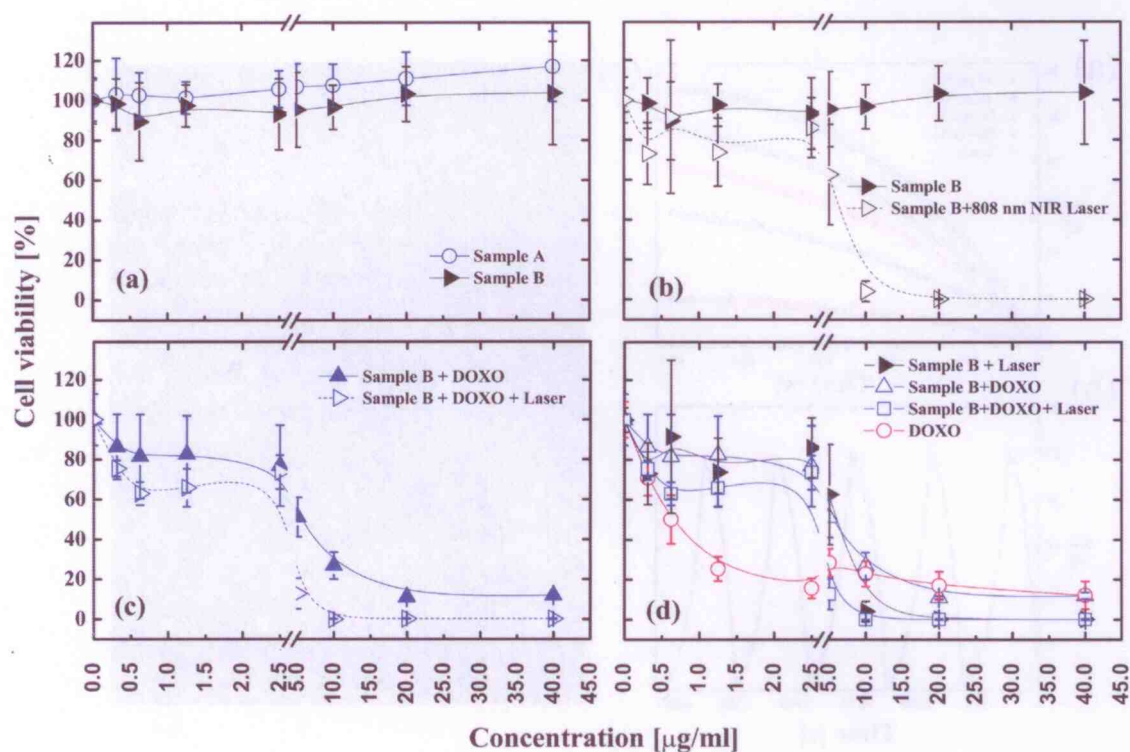
Kolejnym elementem pracy były badania biologiczne w warunkach *in vitro* na linii komórkowej raka wątrobokomórkowego HepG2. Przeprowadzone testy wykazały brak toksycznego wpływu materiału **B** z nanizanymi ugrupowaniami SH- β CD na komórki HepG2 (Patrz Rys.3a). Następnym elementem badań biologicznych było zbadanie czy otrzymany hybrydowy układ pozwalał na efektywne połączenie chemio- i fototerapii i czy połączenie tych dwóch metod powoduje wzmocnienie efektu terapeutycznego. W tym celu komórki HepG2 były inkubowane ze wzrastającym stężeniem materiału **C** z załadowanym lekiem przeciwnowotworowym (DOXO) a następnie naświetlono je promieniowaniem podczerwonym o dł. fali 808 nm. Wyniki badań przedstawione są na Rys. 3c.



Rys. 2 a. Wykres zmiany temperatury medium podczas naświetlania nanocząstek wiązką laserową w zależności od czasu naświetlania dla różnych stężeń materiału **B**. b. Fotostabilność materiału **B**. c. Obraz z kamery termowizyjnej z naświetlania próbki **A** wiązką laserową o dł. fali 808 nm i mocy 2 W/cm². Odstęp czasowy 20 s.

Przeprowadzona analiza wyników wykazała, że żywotność komórek nowotworowych, na których przeprowadzono skojarzoną chemio- i fototerapię była niższa w całym zakresie badanych stężeń niż w przypadku komórek nie traktowanych dodatkowo promieniowaniem podczerwonym. Uzyskane wyniki jednoznacznie potwierdziły dużą efektywność materiału w łączonej chemio i fototerapii. Był to pierwszy przykład w literaturze pokazujący wykorzystanie tak zaprojektowanego hybrydowego układu w łączonej chemio- i fototerapii raka wątroby.

Polidopamina była tu kluczowym materiałem pozwalającym nie tylko na funkcjonalizację powierzchni opłaszczanego nośnika, ale także nadawała silne cechy fototermiczne otrzymanemu materiałowi, co przekładało się na jego skuteczność w zaawansowanej terapii raka wątroby. Dodatkowo, teranostyczny charakter otrzymanego materiału został potwierdzony przez badania z zastosowaniem magnetycznego rezonansu jądrowego. Badania relaksacji T_2 wykazały współczynnik relaksacji na poziomie $329 \pm 12 \text{ s}^{-1}\text{mM}^{-1}$, który był dużo wyższy niż w przypadku innych struktur magnetycznych opłaszczonych polidopaminą ($76 \text{ s}^{-1}\text{mM}^{-1}$) (Patrz Rys 4). Pomiary magnetyczne wykazały, że nasycenie namagnesowania materiału **B** modyfikowanego cyklodesktrynami wyniosło 49 emu/g.

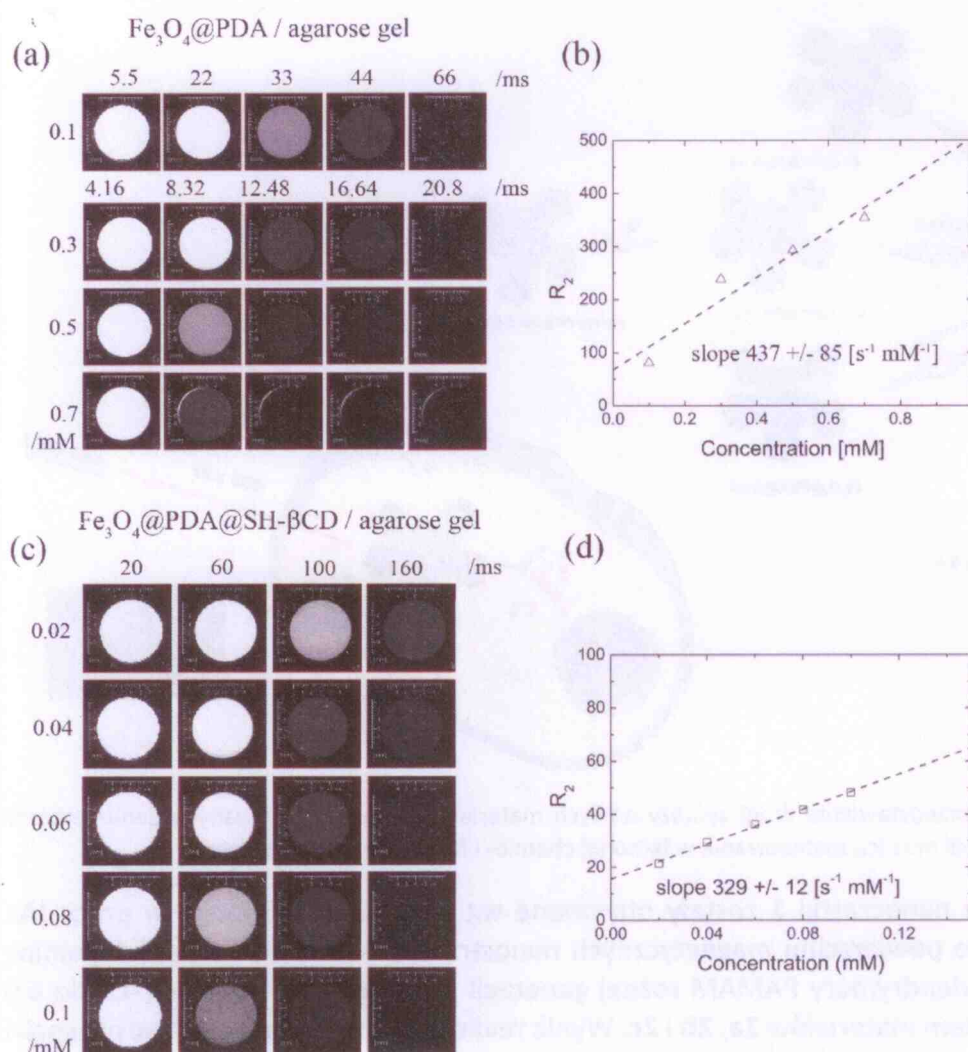


Rys. 3 a. Żywotność komórek HepG2 po inkubacji z materiałem A i B b. Żywotność komórek HepG2 po zastosowaniu naświetlania podczerwonego (B + laser) c. Żywotność komórek HepG2 po inkubacji z materiałem B plus DOXO oraz po zastosowaniu równoczesnej chemio- i fototerapii (B+DOXO+Laser). d. Złożenie poszczególnych wykresów przedstawiających żywotność komórek w różnych warunkach.

W swoich badaniach skupiłem się także na otrzymaniu hybrydowych struktur będących połączeniem magnetycznych nanocząstek opłaszczonych polidopaminą oraz dedrymerami poliamidoaminowymi (PAMAM). Dendrymery to grupa polimerowych nanocząstek, która w ostatnich latach przykuwa coraz większą uwagę ze względu na ich obiecujące możliwości zastosowania w nanomedycynie. Te trójwymiarowe hiperrozgałęzione, sferyczne polimery zbudowane są z wielofunkcyjnego rdzenia i gałęzi (dendronów).[61,62] Do tej pory zsyntetyzowano różne klasy dendrymerów, wśród nich najczęściej stosowane i badane są już wspomniane dendrymery poliamidoaminowe (PAMAM)[63], dendrymery PPI - polipropylenoiminowe [64], poliestrowe[65] i oparte na karbosilanach[66]. Dendrymery wykazują lepszą funkcjonalność w porównaniu z innymi powszechnie stosowanymi nanomateriałami tj. liposomami, głównie ze względu na ich dobrze zdefiniowaną strukturę, monodispersyjność, biokompatybilność i obecność różnych grup funkcyjnych na powierzchni, takich jak reszty aminowe lub karboksylowe, które mogą być wykorzystane do ich dalszej funkcjonalizacji.

Ponadto, dendrymery mają wewnętrzne „kieszenie”, które pozwalają na enkapsulację leków hydrofobowych, zwiększając ich rozpuszczalność, biodostępność i skuteczność terapeutyczną. Największym zainteresowaniem cieszą się dendrymery PAMAM, ponieważ można je łatwo syntetyzować i są dostępne na rynku na dużą skalę. W ostatnim czasie dokonano także łączenia nanocząstek magnetycznych z dendrymerami PAMAM, aby uzyskać nowe nanoplatformy do dostarczania leków i genów oraz nowe materiały katalityczne i sensorowe.[67–72] Jednak dotychczasowe rozwiązania nie pozwalały na przeprowadzanie

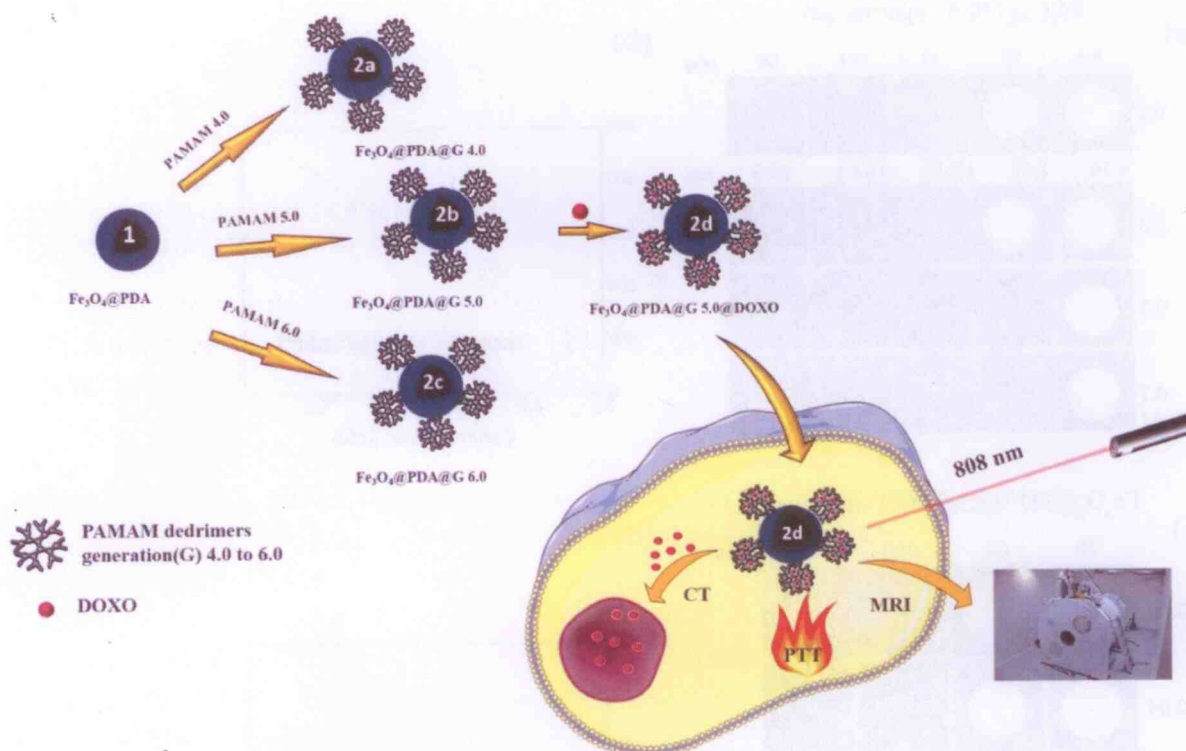
zaawansowanych terapii przeciwnowotworowych, co znacząco ograniczało ich potencjał aplikacyjny dla celów medycznych.



Rys. 4 a. Obrazy MRI z ważonym czasem T_2 dla wybranych czasów echa spinowego otrzymane dla próbki A w 2% wagowo żelu agarozowym. b współczynniki relaksacji R_2 dla próbki A oraz relaksacja dla różnych stężeń $\text{Fe}_3\text{O}_4 @ \text{PDA}$ w żelu agarozowym c. Obrazy MRI z uwzględnieniem czasu T_2 dla wybranych czasów echa spinowego otrzymane dla próbki B. d. Zależność szybkości relaksacji R_2 od stężenia dla materiału B.

W związku z tym, postawiłem sobie za cel przygotowanie nowych nanomateriałów zbudowanych z komercyjnie dostępnych dendrymerów PAMAM oraz magnetycznych nanocząstek. Do połączenia tych dwóch typów związków postanowiłem wykorzystać polidopaminę, którą łatwo można modyfikować z wykorzystaniem grup aminowych, posiadającą silne właściwości fototermiczne. W ten sposób planowałem rozszerzyć możliwości wykorzystania dendrymerów poprzez nadanie im zdolności kontrastujących (rdzeń magnetyczny) oraz fototermicznych (polidopamina) i uzyskać nowy materiał łączący najlepsze cechy poszczególnych komponentów oraz sprawdzić czy funkcjonalizacja powierzchni opłaszczonych polidopaminą materiałów magnetycznych może wpływać na uzyskiwane wyniki w łączonej terapii przeciwnowotworowej raka wątroby. W tej części

materiały będą nazywane z uwzględnieniem opisów zawartych na schemacie przedstawionym na Rys. 5.



Rys. 5 Schematyczne przedstawienie drogi syntezy nowych materiałów sfunkcjonalizowanych dendrymerami PAMAM różnej generacji oraz ich zastosowanie w łączonej chemo- i fototerapii raka wątroby.

Magnetyczne nanocząstki **1** zostały otrzymane wg protokołu opisanego w pracy [A1 i A2]. Następnie do powierzchni magnetycznych nanostruktur opłaszczonych polidopaminą dołączone zostały dendrymery PAMAM różnej generacji począwszy od generacji 4.0 do 6.0 skutkując powstaniem materiałów **2a**, **2b** i **2c**. Wynik reakcji monitorowano mierząc potencjał elektrokinetyczny otrzymanych materiałów. Wartości potencjału elektrokinetycznego uzyskane w przeprowadzonych eksperymentach podane są w Tabeli 1. Pomiary zeta potencjału wykazały, że typ generacji dendrymeru nie wpływał znacząco na wynik reakcji, ponieważ materiały **2a**, **2b** i **2c** wykazywały dodatni ładunek bliski + 18 mV, gdy reakcję przyłączania dendrymerów prowadzono w stosunku 1:1. Zwiększenie w reakcji stosunku nanocząstek do dendrymerów (zbadane dla generacji 5.0) spowodowało niewielkie podniesienie wartości zeta potencjału do około + 21 mV, podczas gdy dalsze zwiększenie masy nanocząstek spowodowało drastyczny spadek potencjału elektrokinetycznego. Efekt ten został przypisany zwiększającej się powierzchni właściwej materiałów i nie wystarczającej ilości dendrymerów mogących wysycić daną powierzchnię.

Tabela 1. Pomiary potencjału elektrokinetycznego dla materiałów **1**, **2a**, **2b**, **2c**.

L.p.	Próbka	Stosunek [wt/wt]	ζ (mV)
1	Fe_3O_4	-	-32
2	$\text{Fe}_3\text{O}_4@PDA$	-	-11
3	$\text{Fe}_3\text{O}_4@PDA : G\ 4.0$	1:1	+17.6

4	Fe ₃ O ₄ @PDA : G 5.0	1:1	+17.8
5	Fe ₃ O ₄ @PDA : G 6.0	1:1	+18.6
6	Fe ₃ O ₄ @PDA : G 5.0	4:1	+21.3
7	Fe ₃ O ₄ @PDA : G 5.0	10:1	-3.2
8	Fe ₃ O ₄ @PDA : G 5.0	20:1	-11.1

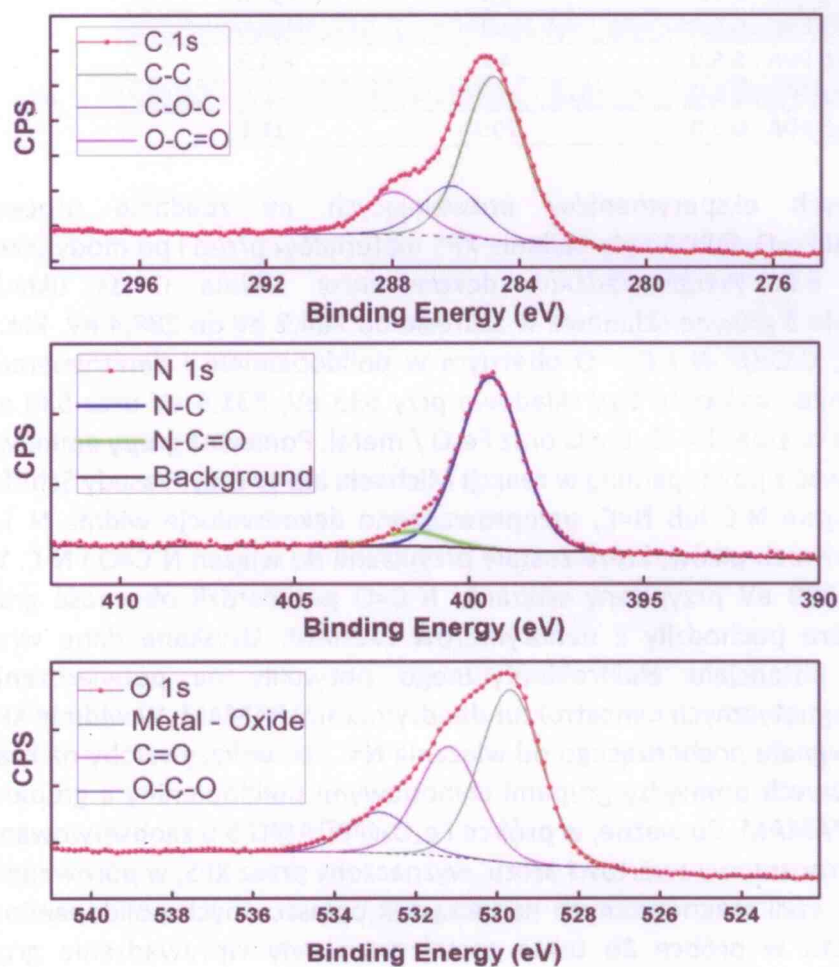
Jednym z kluczowych eksperymentów pozwalających na zbadanie procesu funkcjonalizacji powierzchni Fe₃O₄@PDA były badania XPS materiałów przed i po modyfikacji dendrymerami generacji 5.0. Przeprowadzona dekonwolucja widma C 1s układu Fe₃O₄@PDA@G 5.0 wykazała 3 główne składowe w zakresie od 284,8 eV do 288,4 eV, które przypisano wiązanom C-C, C-OH/C-N i C = O obecnym w polidopaminie i dendrymerach PAMAM. Widmo O 1s również wykazało trzy składowe przy 533 eV, 531,9 eV oraz 530 eV przypisane odpowiednio do wiązań O-C-O, C = O oraz Fe-O / metal. Ponieważ grupy aminowe dendrymerów mogą reagować z polidopaminą w reakcji Michaela lub tworzyć zasady Schiffa, skutkując utworzeniem wiązań N-C lub N=C, przeprowadzono dekonwolucję widma N 1s. Widmo zbudowane było z dwóch pików, które zostały przypisane do wiązań N-C=O i N-C. W szczególności sygnał przy 399 eV przypisany wiązaniu N-C=O potwierdził obecność grup amidowych w próbce, które pochodziły z dendrymerów PAMAM. Uzyskane dane wraz z obserwowaną zmianą potencjału elektrokinetycznego pozwoliły na potwierdzenie modyfikacji powierzchni magnetycznych nanostruktur dendrymerami PAMAM. W widmie XPS N 1s nie zaobserwowano sygnału pochodzącego od wiązania N=C, co wskazywałoby na brak tworzenia się wiązań iminowych pomiędzy grupami chinonowymi polidopaminy a grupami aminowymi dendrymerów PAMAM. Co ważne, w próbce Fe₃O₄@PDA@G 5.0 zaobserwowano prawie dwukrotny wzrost procentowy zawartości azotu, wyznaczony przez XPS, w porównaniu do materiału wyjściowego, czyli magnetycznych nanocząstek otulanych polidopaminą. Ten wzrost zawartości azotu w próbce **2b** także został przypisany wprowadzeniu grup aminowych dendrymerów PAMAM na powierzchnię materiałów.

Tabela 2. Procentowa zawartość pierwiastków azotu, węgla i tlenu w próbce **1** i **2b**.

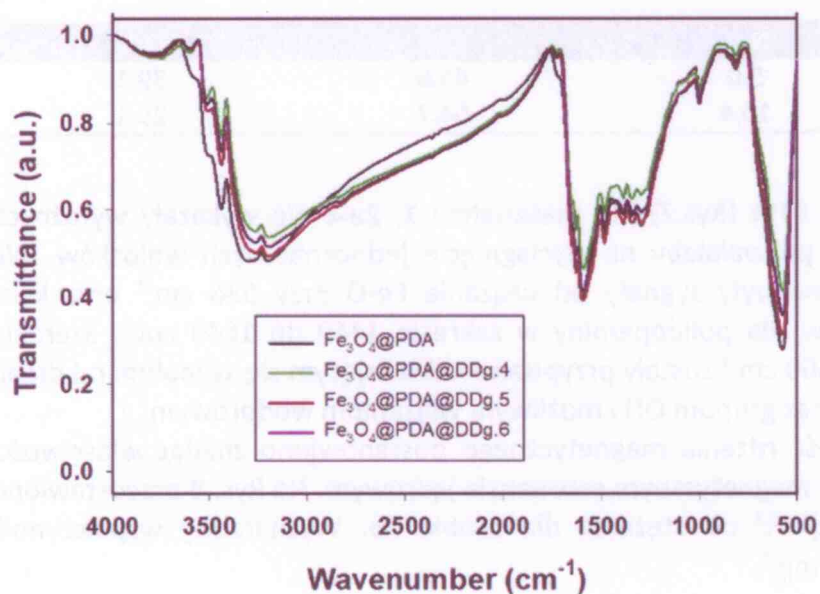
Próbka	N %	C %	O %
1	5.0	45.6	39.1
2b	10.4	54.7	29.1

Zarejestrowane widma FTIR (Rys.7) dla materiałów **1**, **2a-c** nie wykazały wyraźnych różnic strukturalnych, które pozwalałyby na wyciągnięcie jednoznacznych wniosków. We wszystkich widmach widoczne były sygnały od wiązania Fe-O przy 586 cm⁻¹ oraz kilka charakterystycznych sygnałów dla polidopaminy w zakresie 1440 do 1640 cm⁻¹. Szerokie pasmo w zakresie 3000 do 3600 cm⁻¹ zostały przypisane nakładającym się sygnałom od drgań grup CH₂, grup aminowych, oraz grupom OH i możliwym wiązaniom wodorowym.

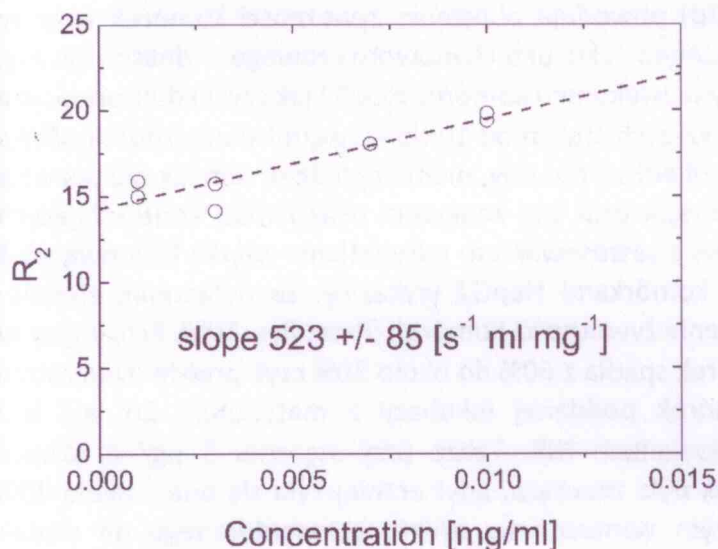
Ze względu na obecność rdzenia magnetycznego postanowiono zbadać właściwości kontrastujące materiału **2b** w magnetycznym rezonansie jądrowym. Na Rys. 8 przedstawiono zależność szybkości relaksacji R² od stężenia dla próbki **2b**. Wyznaczony współczynnik relaksacji wynosił 523 ± 85 s⁻¹mg⁻¹.



Rys. 6 Widma XPS C 1s, N 1s oraz O 1s dla próbki 2b.

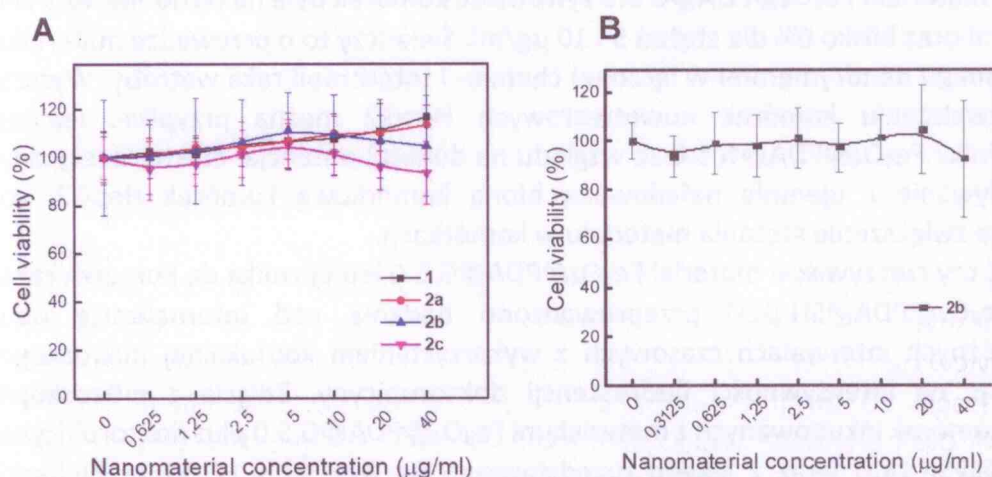


Rys. 7 Widma FTIR zarejestrowane w pastylkach KBr dla materiałów 1, 2a-c.



Rys. 8 Zależność szybkości relaksacji R_2 od stężenia materiału **2b**.

Cytotoksyczność otrzymanych hybrydowych materiałów niosących na powierzchni różne generacje dendrymerów **2a-c** została zbadana z wykorzystaniem testu WST-1 oraz teście LIVE/DEAD opartym na fluorescencji. Wyniki badań otrzymanych w teście WST-1 przedstawiono na Rys 9a. Przeprowadzona analiza danych wykazała, że materiały z dendrymerami generacji 4.0-do 6.0 (**2a-c**) nie powodują, znaczącego wpływu na żywotność komórek HepG2 w analizowanym zakresie stężeń do 40 $\mu\text{g/ml}$. Co więcej przeprowadzane eksperymenty wykazały także bardzo niską toksyczność materiału $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{G}$ 5.0 (**2b**) w stosunku do zdrowych komórek ludzkich fibroblastów MSU 1.1. Wyniki test LIVE/DEAD były zbieżne z danymi otrzymanymi w teście WST-1. Dlatego otrzymane materiały w kontekście przeprowadzonych testów i analizowanym zakresie stężeń uznano za nietoksyczne.



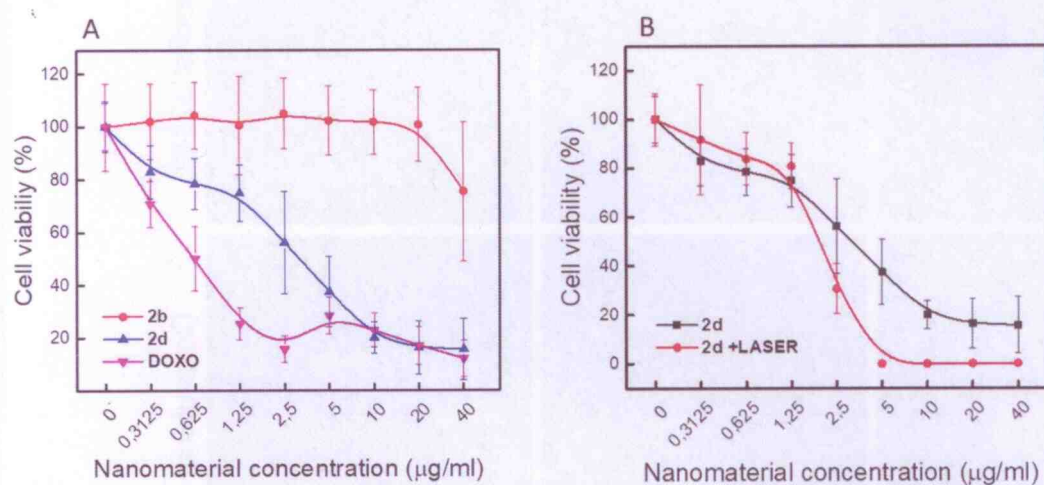
Rys. 9 A. Wykres żywotności komórek HepG2 w zależności od stężenia materiału **1** oraz **2a-c**. B. Żywotność komórek MSU 1.1 w zależności od stężenia materiału **2b**.

Próbkę $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}$ G 5.0 wraz z doksorubicyną (**2d**) inkubowano z komórkami HepG2, aby sprawdzić jak otrzymany nośnik z lekiem wpływa na żywotność komórek oraz jaki wpływ będzie miało dodatkowe naświetlanie komórek promieniowaniem laserowym o dł. fali 808 nm. Wyniki badań przedstawiono na Rys.10. Otrzymane dane wskazywały, że materiał

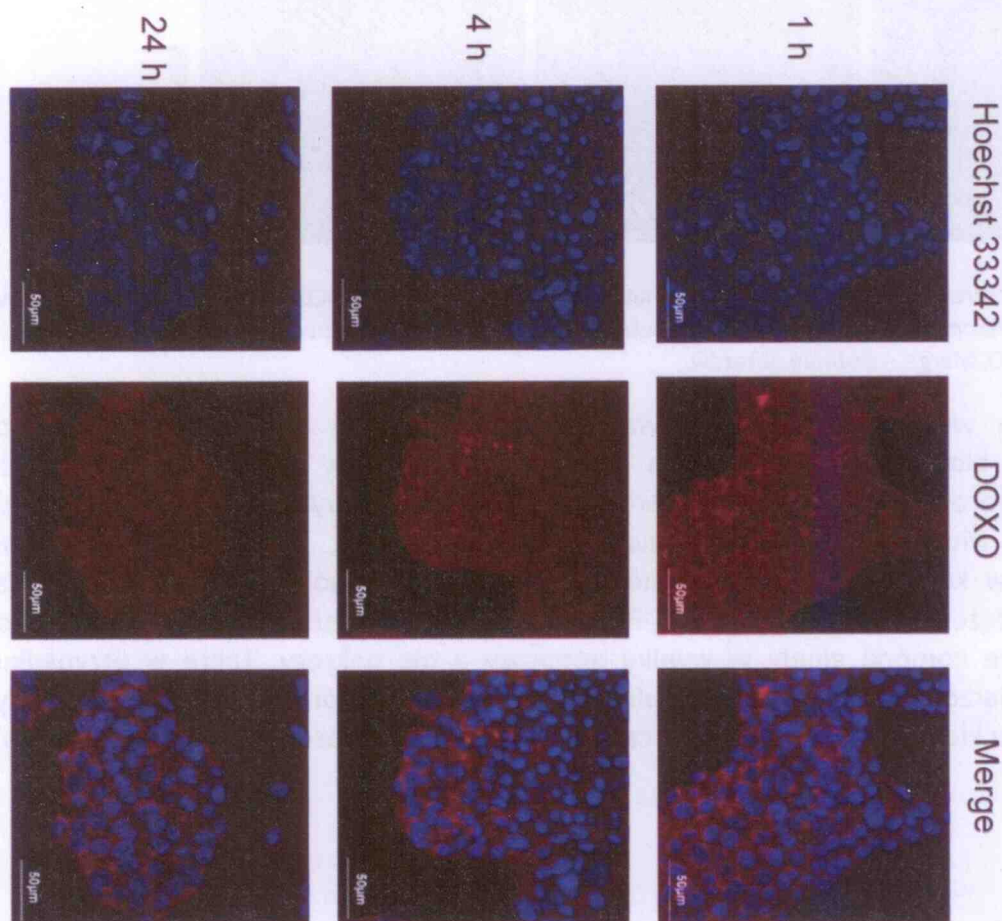
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{G 5.0}$ wraz z lekiem (**2d**) powoduje obniżenie żywotności komórek wraz ze wzrostem stężenia nośnika a tym samym leku przeciwnowotworowego - doksorubicyny. Jednak materiał **2d** nie był tak wydajny w zwalczaniu komórek HepG2 jak czysta doksorubicyna (Patrz Rys 10a). Dopiero w zakresie wyższych stężeń od 10 do 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ skuteczność nośnika wraz z lekiem była taka sama jak czystej doksorubicyny, niemniej jednak sam lek nie pozwala na prowadzenie równoczesnej fototerapii oraz nie zapewnia właściwości kontrastujących w MRI. Eksperymenty przeprowadzone z zastosowaniem naświetlania wiązką laserową po 4 godzinach inkubacji materiału **2d** z komórkami HepG2 wykazały, że połączenie chemio- i fototerapii znacząco wpływa na obniżenie żywotności komórek (Patrz Rys. 10b). Przy stężeniu materiału 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ żywotność komórek spadła z 60% do około 30% czyli prawie dwukrotnie w porównaniu do żywotności komórek poddanej inkubacji z materiałem **2d**, ale bez dodatkowego naświetlania promieniowaniem NIR. Także przy stężeniu 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ różnica w obserwowanej żywotności komórek była znacząca, gdyż zmniejszyła się ona z około 40% blisko do 0%. Świadczyło to o dużym wzmocnieniu efektu terapeutycznego na skutek równoczesnego zastosowania skojarzonej chemio- i fototerapii. Warto zauważyć, że w zakresie niskich stężeń do 1.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ żywotność komórek poddanych skojarzonej chemio- i fototerapii była tylko nieznacznie niższa niż w przypadku kiedy komórki inkubowano bez naświetlania. Najprawdopodobniej związane jest to ze zbyt niską ilością polidopaminy (głównego odczynnika fototermicznego) i co za tym idzie, bardzo słabym efektem fototermicznym generowanym przy tych stężeniach. Podobną sytuację obserwowano w przypadku uprzednio zsyntetyzowanego materiału sfunkcjonalizowanego SH- βCD (Patrz Rys. 3c). Należy jednak zwrócić uwagę, że w zakresie stężeń, gdzie najbardziej widoczny jest wpływ równoczesnego zastosowania skojarzonej chemio i fototerapii tj. pomiędzy 2.5-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, istniała dość wyraźna różnica w żywotności komórek HepG2 w zależności od użytego do terapii nanomateriału. W przypadku materiału $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{SH-}\beta\text{CD}$ żywotność komórek wynosiła 80%, 20% i prawie 0% kiedy stosowano stężenia 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ i 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Podczas gdy, dla materiału $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{G 5.0}$ żywotność komórek była na poziomie 40% dla stężenia 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ oraz blisko 0% dla stężeń 5 i 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Świadczy to o przewadze materiału sfunkcjonalizowanego dendrymerami w łączonej chemio- i fototerapii raka wątroby. Wyższą wydajność w zwalczaniu komórek nowotworowych HepG2 można przypisać lepszej internalizacji nośnika $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{G 5.0}$ ze względu na dodatni potencjał elektrokinetyczny i lepsze oddziaływanie z ujemnie naładowaną błoną komórkową komórek HepG2, co przekładało się na zwiększenie stężenia materiału w komórkach.

Aby zbadać czy rzeczywiście materiał $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{G 5.0}$ lepiej wnika do komórek raka wątroby niż $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{SH-}\beta\text{CD}$ przeprowadzono badania nad internalizacją obu materiałów w różnych interwałach czasowych z wykorzystaniem konfokalnej mikroskopii laserowej bazując na intensywności fluorescencji doksorubicyny. Zdjęcia z mikroskopii konfokalnej dla komórek inkubowanych z materiałami $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{G 5.0}$ plus doksorubicyna oraz $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{SH-}\beta\text{CD}$ wraz z lekiem przedstawiano na Rys. 11 i 12. Kolor niebieski odpowiada wybarwionym jądom komórkowym, czerwony to fluorescencja doksorubicyny. Porównując intensywność fluorescencji doksorubicyny widać wyraźnie, że była ona zdecydowanie wyższa, po pierwszej godzinie internalizacji, dla $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{G 5.0}$ niż, w przypadku kiedy komórki inkubowano z $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{SH-}\beta\text{CD}$. Wyższą intensywność fluorescencji obserwowano także po 4 i 24 godzinach dla materiału $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{G 5.0}$. Uzyskane wyniki pozwoliły na potwierdzenie hipotezy o lepszym wnikaniu materiału

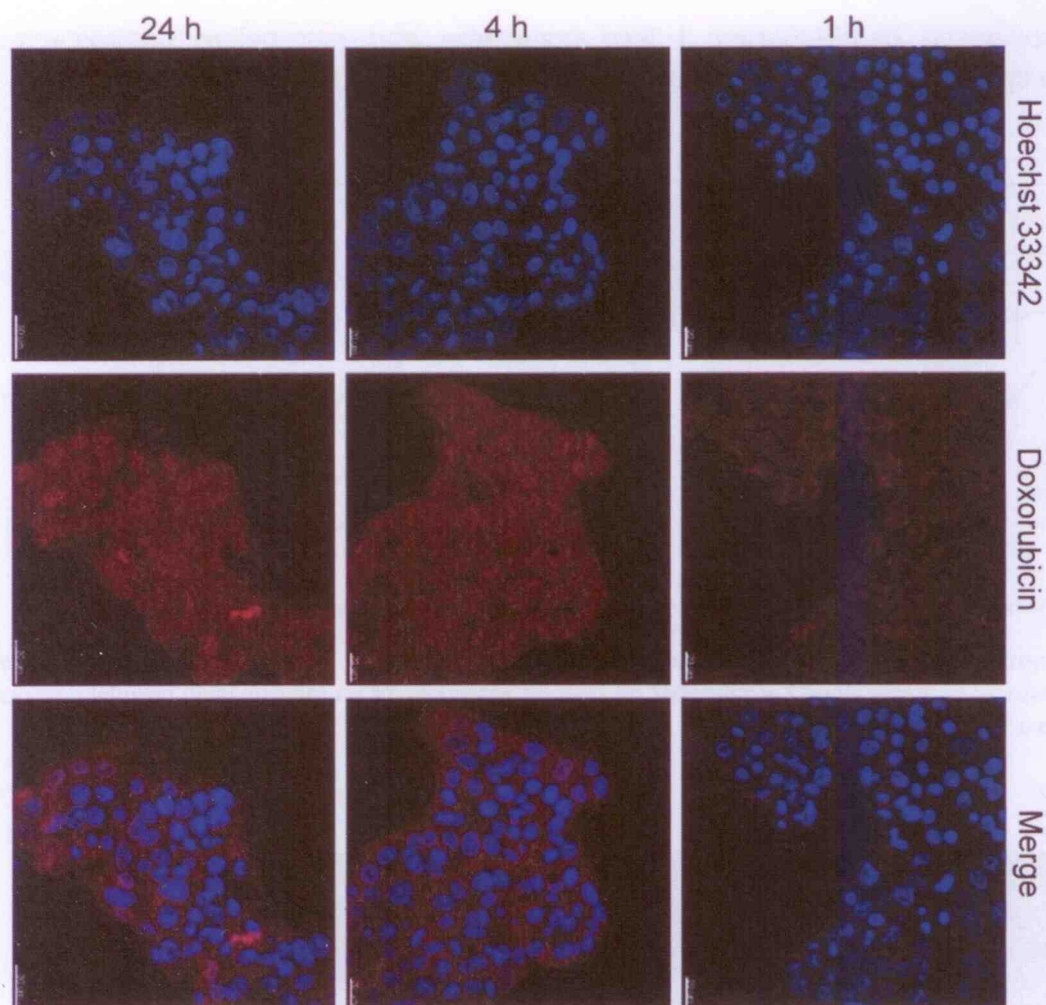
sfunkcjonalizowanego dendrymerami i jego przewadze nad materiałem posiadającym ugrupowania cyklodekstrynowe i ujemny potencjał elektrokinetyczny.



Rys. 10 A. Żywotność komórek HepG2 w zależności od stężenia materiału **2b**, **2d** oraz czystej doksorubicyny (DOXO). B. Żywotność komórek HepG2 w zależności od stężenia materiału **2d** po zastosowaniu promieniowania podczerwonego o mocy 2 W/cm^2 (**2d + LASER**).

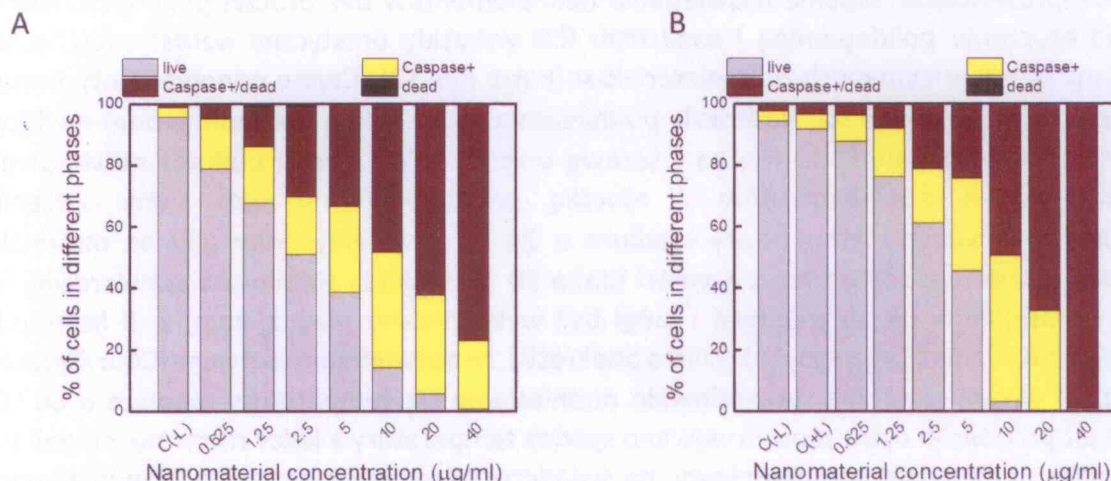


Rys. 11 Zdjęcia komórek HepG2 inkubowanych z materiałem $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{G}$ 5.0 w różnych odstępach czasu uzyskane z mikroskopu konfokalanego. Kolor niebieski wybarwione jądra komórkowe, kolor czerwony – fluorescencja DOXO, Merge – złożenie obrazów.



Rys. 12 Zdjęcia komórek HepG2 inkubowanych z materiałem $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{SH}-\beta\text{CD}$ w różnych odstępach czasu uzyskane z mikroskopu konfoklanego. Kolor niebieski wybarwione jądra komórkowe, kolor czerwony – fluorescencja DOXO, Merge – złożenie obrazów.

Niezwykle ważkim aspektem prowadzonych badań było poznanie biologicznego mechanizmu biologicznego działania materiału **2d** w skojarzonej terapii przeciwnowotworowej. W tym celu przeprowadzono badania z wykorzystaniem cytometru przepływowego Muse, aby zbadać poziom aktywacji kaspaz, które są wskaźnikami apoptycznymi w komórce. Uzyskane dane wykazały, że w komórkach inkubowanych ze wzrastającym stężeniem materiału $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA}@\text{G}$ 5.0 wzrastało stężenie kaspaz, co pozwalało przypuszczać, że komórki ginęły w wyniku apoptozy a nie nekrozy. Także w przypadku stosowania skojarzonej chemio- i fototerapii poziom kaspaz w komórkach wzrastał i był wyższy niż w przypadku kiedy do komórek dostarczana była wyłącznie doxorubicyna (Patrz Rys. 13).



Rys. 13 A. Procent żywych i apoptotycznych komórek HepG2 po inkubacji z materiałem **2d**. B. Procent żywych i apoptotycznych komórek po zastosowaniu skojarzonej chemio- i fototerapii na komórkach HepG2 z użyciem promieniowania NIR.

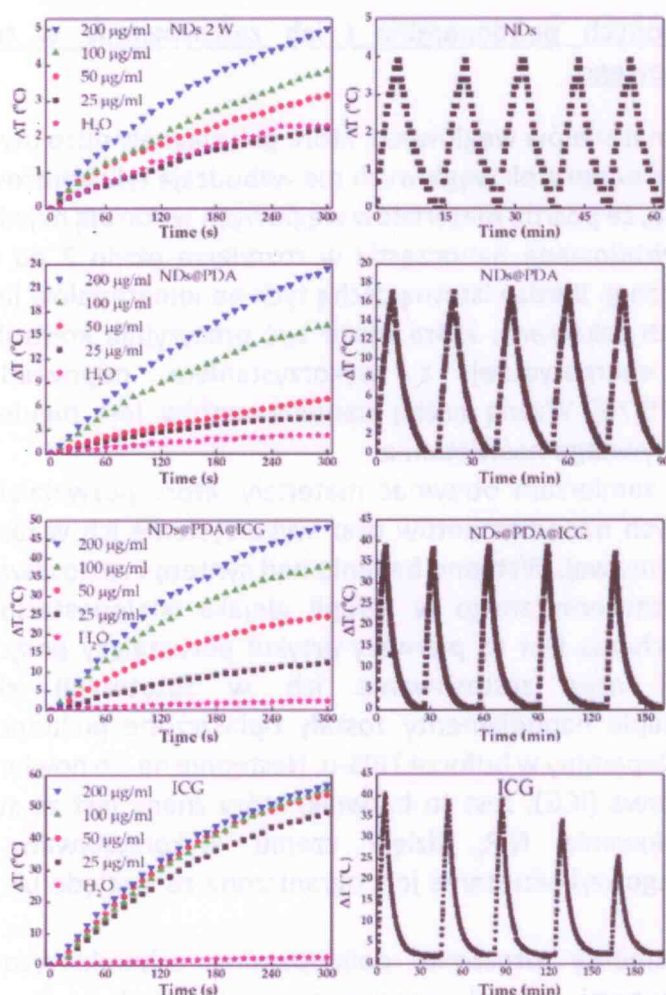
Synteza nanodiamentów opłaszczonych polidopaminą i ich zastosowanie w terapii fototermicznej glejaka wielopostaciowego.

W ostatnim czasie grupą nanomateriałów węglowych, które przyciągnęły dużo uwagi są nanodiamenty.[73] W odróżnieniu od nanorurek węglowych nie wzbudzają tylu kontrowersji odnośnie cytotoksyczności i wykazano, że spośród materiałów węglowych wykazują największą biogodność.[74] Są to regularnie zbudowane nanocząstki w rozmiarze około 2 do 8 nm strukturze bliskiej symetrii oktaedrycznej. Bardzo istotną cechą tych nanomateriałów jest ich zdolność do fluorescencji, w różnych zakresach, która może być precyzyjnie kontrolować poprzez regulowanie przerwy energetycznej z wykorzystaniem odpowiedniego domieszkowania nanodiamentów.[75,76] Ważną cechą nanodiamentów jest nieuleganie fototwybieleniu pod wpływem intensywnego naświetlania.

Obecnie w swoich badaniach zamierzam otrzymać materiały, które pozwalałyby na połączenie zdolności fluorescencyjnych nanodiamentów oraz wykorzystanie ich w łączonej chemio- i fototerapii przeciwnowotworowej. Wstępne badania nad syntezą i zastosowaniem nanodiamentów jako odczynnika fototermicznego w terapii glejaka wielopostaciowego zostały opisane w pracy [A6]. Dotychczas jest to pierwszy artykuł poruszający połączenie polidopaminy z nanodiamentami oraz zastosowanie ich w fototerapii glejaka wielopostaciowego. W kolejnym etapie nanodiamenty zostały opłaszczane polidopaminą poprzez zanurzenie ich w roztworze dopaminy w buforze TRIS-u. Następnie na ich powierzchni została osadzona zieleń indocyjaninowa (ICG). Jest to barwnik, który znany jest ze swoich zdolności absorbowania promieniowania NIR, dzięki czemu wykorzystywany jest w obrazowaniu klinicznym, jednak jego wykorzystanie jest ograniczone ze względu uleganie procesowi fototwybielenia.

Nanodiamenty oraz nanodiamenty otoczone polidopaminą scharakteryzowano z zastosowaniem mikroskopii elektronowej, dynamicznego rozpraszania światła i mikroskopii sił atomowych AFM. Dane uzyskane z badań DLS wykazały, że materiały miały około 230-260 nm średnicy. Ich rozmiar hydrodynamiczny wzrósł do blisko 360 nm po osadzeniu ICG.

Przeprowadzone badania naświetlania nanodiamentów bez otoczki polidopaminowej oraz po otoczeniu polidopaminą i osadzeniu ICG wskazały drastyczny wzrost właściwości fototermicznych otrzymanych nanomateriałów (Patrz Rys 14). Czyste nanodiamenty nawet w stężeniu 200 $\mu\text{g/ml}$ nie spowodowały podniesienia temperatury medium (woda) o więcej niż 5 $^{\circ}\text{C}$ podczas naświetlania wiązką laserową o mocy 2 W. Z kolei podczas naświetlania zdyspergowanych nanodiamentów z otoczką polidopaminy o tym samym stężeniu zarejestrowano wzrost temperatury medium o 24 $^{\circ}\text{C}$, a w przypadku gdy na materiale osadzono ICG wzrost temperatury wyniósł blisko 50 $^{\circ}\text{C}$. Badania stabilności potwierdziły, że żaden z materiałów nie degradował i mógł być wykorzystany przynajmniej w 5 kolejnych cyklach naświetlania (Patrz Rys. 14). Warto podkreślić, że naświetlanie roztworu ICG o stężeniu 200 $\mu\text{g/ml}$ wiązką laserową spowodowało podniesienie się temperatury medium o 60 $^{\circ}\text{C}$. Jednak już po trzecim cyklu zaobserwowano spadek temperatury a kolor roztworu zmienił się z zielonego na brązowo-pomarańczowy, co świadczyło o degradacji barwnika. Nanodiamenty oraz nanodiamenty otoczone polidopaminą i osadzonym ICG nie wykazywały utraty właściwości fototermicznych w 5 kolejnych cyklach, co pozwoliło stwierdzić, że połączenie ICG z nanodiamentami pokrytymi polidopaminą podnosi fotostabilność całego układu.



Rys. 14 Wykres zmiany temperatury medium podczas naświetlania nanodiamentów (NDs), nanodiamentów otoczonych polidopaminą (NDs@PDA) oraz z osadzonym ICG (NDs@PDA@ICG) a także czystej zieleni indocyjaninowej wiązką laserową w zależności od czasu naświetlania dla różnych stężeń materiału oraz ich fotostabilność.

Pokrycie nanodiamentów polidopaminą podniosło współczynnik konwersji fototermicznej z około 9% do ponad 36%. Jest to wartość bliska wartości opublikowanej dla „czystej” polidopaminy. Osadzenie ICG spowodowało wzrost współczynnika konwersji fototermicznej do 44.5%. Jednak oba współczynniki były niższe od współczynnika konwersji fototermicznej obliczonego dla czystego barwnika, który wyniósł ponad 56%. Dane zebrano w Tabeli 3.

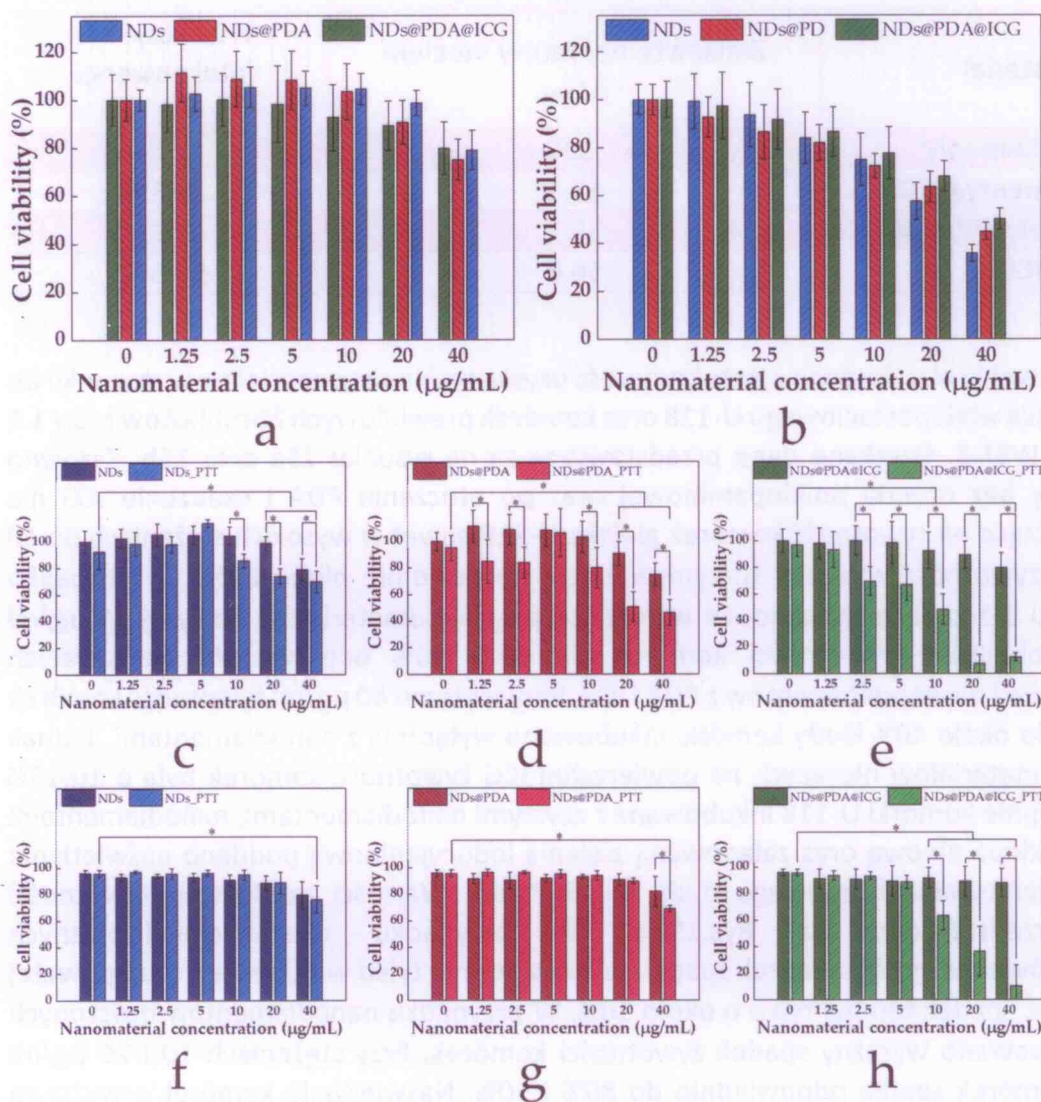
Tabela 3 Obliczone współczynniki fotokonwersji dla różnych typów modyfikowanych nanodiamentów i ICG.

Materiał	Zmiana temperatury medium $\Delta T_{\max}$	Współczynnik fotokonwersji η
nanodiamenty	3.9	8.7%
nanodiamenty@PDA	17.1	36.5%
nanodiamenty@PDA@ICG	38.7	44.5%
ICG	56.6	56.6%

W kolejnym kroku zbadano cytotoksyczność uzyskanych nanomateriałów w stosunku do komórek glejaka wielopostaciowego U-118 oraz komórek prawidłowych fibroblastów MSU 1.1 stosując test WST-1. Uzyskane dane przedstawione są na rysunku 15a oraz 15b. Zarówno nanodiamenty bez otoczki polidopaminowej oraz po otoczeniu PDA i osadzeniu ICG nie wpłynęły znacząco na żywotność komórek glejaka U-118 nawet w wysokich stężeniach do 40 $\mu\text{g/mL}$, gdyż żywotność komórek utrzymywała się na poziomie blisko 80%. W przypadku komórek MSU 1.1 zaobserwowano, że wzrost stężenia nanomateriałów powyżej 10 $\mu\text{g/mL}$ powodował obniżenie żywotności komórek do 60 i 70% odpowiednio dla czystych nanodiamentów i dla nanodiamentów z PDA i ICG. Przy stężeniu 40 $\mu\text{g/mL}$ żywotność komórek MSU spadała do około 40% kiedy komórki inkubowano wyłącznie z nanodiamentami. Jednak w przypadku materiałów niosących na powierzchni ICG żywotność komórek była o 10-15% wyższa. Następnie komórki U-118 inkubowane z czystymi nanodiamentami, nanodiamentami z otoczką polidopaminową oraz załadowaną zielenią indocyjaninową poddano naświetlaniu wiązką promieniowania laserowego o dł. fali 808 nm. Wartości uzyskanych żywotności komórek przedstawiono na Rys.15c-e. W przypadku niesfunkcjonalizowanych nanodiamentów żywotność komórek spadała po naświetleniu tylko w zakresie stężeń powyżej 10 $\mu\text{g/mL}$, choć spadek ten był tylko o około 10%. W przypadku nanodiamentów otoczonych PDA zaobserwowano wyraźny spadek żywotności komórek. Przy stężeniach 10 i 20 $\mu\text{g/mL}$ żywotność komórek spadała odpowiednio do 80% i 50%. Naświetlanie komórek z wyższym stężeniem tego materiału tj. 40 $\mu\text{g/mL}$ nie spowodowało już dalszego obniżenia żywotności komórek. Terapia fototermiczna przeprowadzona na komórkach U-118 z zastosowaniem nanodiamentów pokrytych polidopaminą i ICG była najefektywniejsza i spowodowała obniżenie żywotności komórek do 70% nawet przy bardzo niskim stężeniu materiału zaledwie 2,5 $\mu\text{g/mL}$. Terapia prowadzona przy wyższych stężeniach tj. 5, 10, 20 i 40 $\mu\text{g/mL}$ tego materiału spowodowała spadek żywotności komórek U-118 odpowiednio o 40, 50 i 90%.

Badania cytotoksyczności nanomateriałów oraz efektywności prowadzonej fototerapii przeprowadzono także z wykorzystaniem innego testu (Count and Viability Assay) stosując cytometrię przepływową. Uzyskane dane były zbieżne z tymi uzyskanymi w teście WST-1. Nie

mniej jednak efektywność fototerapii nie była tak dobrze widoczna jak w teście WST-1, ponieważ w tym teście praktycznie nie obserwowano zmian żywotności komórek po ich naświetlaniu z nanomateriałami. Znaczne obniżenie żywotności komórek zaobserwowano tylko w przypadku naświetlania komórek glejaka inkubowanych z nanodiamentami opłaszczonymi polidopaminą i osadzonym ICG, które przy stężeniach 10, 20 i 40 $\mu\text{g/ml}$ spowodowały spadek żywotności komórek odpowiednio do 70, 40 i 10%.

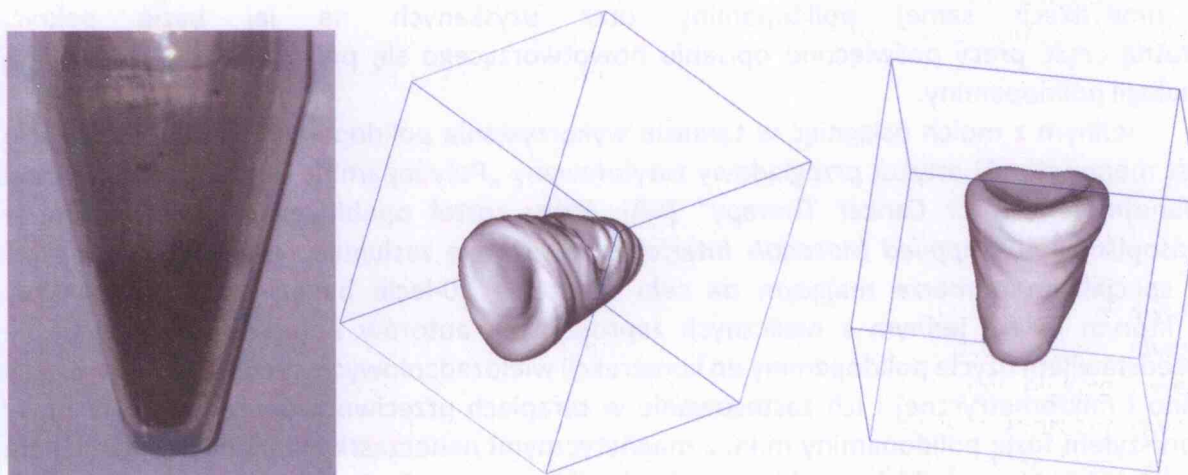


Rys. 15 a. Żywotność komórek U-118 w zależności od stężenia nanodiamentów (NDs), nanodiamentów otoczonych polidopaminą (NDs@PDA) oraz z osadzonym ICG (NDs@PDA@ICG) uzyskane testem WST-1. b. Żywotność komórek MSU 1.1 w zależności od stężenia nanodiamentów (NDs), nanodiamentów otoczonych polidopaminą (NDs@PDA) oraz z osadzonym ICG (NDs@PDA@ICG) uzyskane testem WST-1. c-e. Żywotność komórek U-118 w zależności od stężenia nanodiamentów po przeprowadzeniu naświetlania wiązką laserową o dł. fali 808 nm (NDs), nanodiamentów otoczonych polidopaminą (NDs@PDA) oraz z osadzonym ICG (NDs@PDA@ICG) uzyskane testem WST-1. f-g. Żywotność komórek U-118 w zależności od stężenia nanodiamentów (NDs), nanodiamentów otoczonych polidopaminą (NDs@PDA) oraz z osadzonym ICG (NDs@PDA@ICG) uzyskane testem Count and Viability.

Obrazowanie rodników polidopaminy z wykorzystaniem EPR.

Spektroskopia EPR (spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego, zwana również elektronowym rezonansem spinowym ESR) to technika spektroskopii pozwalająca na wykrycie i uzyskanie informacji o otoczeniu danej próbki spinowej (tj. niesparowanych elektronów) w substancjach takich jak wolne rodniki, jony metali przejściowych, pierwiastki ziem rzadkich oraz elektrony przewodnictwa w metalach i półprzewodnikach. Podstawowe założenia techniki EPR są analogiczne do tych wykorzystywanych w spektroskopii NMR, ale badane są spiny elektronów, a nie jak w przypadku NMR spiny jąder atomowych. Z powodu różnic w masie pomiędzy jądrami a elektronami w technice EPR używane są słabsze pola magnetyczne i wyższe częstotliwości promieniowania mikrofalowego niż w spektroskopii NMR. Badania z zastosowaniem EPR wykorzystywane są w medycynie m.in. do badania mechanizmu działania leków, rodnikowych produktów sterylizacji radiacyjnej, kontroli procesu uwalniania leku, oksymetrii EPR oraz badania procesów metabolicznych o mechanizmie rodnikowym i badań struktury enzymów.

Choć rodnikowy charakter czystej polidopaminy[77] był znany, to brakowało szczegółowych informacji o strukturze rodnikowej polidopaminy. Dlatego też w swoich badaniach nad zastosowaniem polidopaminy w nanomedycynie postanowiłem zbadać możliwość jej wykorzystania jako środka obrazującego w spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego [A6]. W tej publikacji po raz pierwszy zaprezentowano obrazowanie wolnych rodników obecnych w strukturze polidopaminy z zastosowaniem magnetycznego rezonansu paramagnetycznego i wskazano na potencjalne jej wykorzystanie w medycznym obrazowaniu kompozytów zbudowanych na bazie polidopaminy.



Rys. 16 Próbka polidopaminy poddana obrazowaniu EPR oraz rekonstrukcje obrazów rodników polidopaminy.

Obrazowanie rodników polidopaminy przeprowadzono stosując obrazowanie EPR w trybie fali ciągłej z gradientem pola magnetycznego. Ponadto, przeprowadzono dodatkowe obrazowanie przestrzenno-spektralne, aby uzyskać dane o rozkładzie spektralnym rodników w polidopaminie. W kolejnym kroku rekonstrukcja obrazów 2D i 3D została wykonana za pomocą metody Inverse Radon Transformation. Na rysunku 16 przedstawiono zrekonstruowane obrazy reprezentujące rozkład niesparowanych spinów elektronowych w próbce. Zarejestrowane obrazy są sumą wszystkich równoległych wycinków do płaszczyzny

poziomej "xz", gdzie "z" jest kierunkiem zewnętrznego pola magnetycznego, a oś "x" jest prostopadła do "z" i do osi rezonatora (y). Płaszczyzna pionowa "yz" jest rozpięta między osią rezonatora a kierunkiem zewnętrznego pola magnetycznego. Obrazowaną próbką było 110 mg suchej polidopaminy wsypanej do próbki. Probka (sucha polidopamina) miała wysokość około 11 mm i maksymalną średnicę 8 mm.

W kolejnych eksperymentach zbadano liczbę spinów w próbce polidopaminy o masie 78 mg poprzez porównanie ze wzorcem, którym był siarczan miedzi $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Oszacowano, że badana próbka zawierała $1.9 \cdot 10^{17}$ spinów ($2.4 \cdot 10^{15}$ spinów/mg, przy 17% wilgotności próbki, pasmo L). Co ciekawe, polidopamina o wilgotności około 8% miała liczbę spinów równą $3.8 \cdot 10^{15}$ /mg (próbka o masie 3,46 mg, pomiar w paśmie X). Uzyskany wynik był zbliżony do wartości wcześniej opublikowanej równej $2.8 \cdot 10^{15}$ /mg.[78] Na uwagę zasługuje fakt, że zmierzony dla polidopaminy współczynnik gyromagnetyczny g był stały w badanym zakresie temperatur i wynosił $\sim 2.0052 \pm 0.00005$ (próbka o wilgotność 17%). Polidopamina otrzymana w innych warunkach z użyciem buforu fosforanowego miała wartość g wynoszącą ~ 2.0038 , która lekko spadała w temperaturze 100 K. Dlatego można wnioskować, że na parametry spektralne wpływ miał zarówno stopień wilgotności próbki oraz warunki syntezy polidopaminy.

Prace przeglądowe na temat zastosowania polidopaminy.

Moja znajomość pola związanego z funkcjonalizacją i własnościami polidopaminy została potwierdzona poprzez artykuł przeglądowy na temat metod syntezy i modyfikacji polidopaminy i jej analogów, gdzie jestem pierwszym i korespondencyjnym autorem [A7]. W artykule tym podsumowano dotychczasowe podejścia stosowane w zakresie syntezy i modyfikacji samej polidopaminy oraz uzyskanych na jej bazie pokryw. Istotną część pracy poświęcono opisaniu nowotworzącego się pola badawczego jakim są analogii polidopaminy.

Jednym z moich osiągnięć w temacie wykorzystania polidopaminy w nanomedycynie jest monoautorski artykuł przeglądowy zatytułowany „Polydopamine-Based Multifunctional (Nano)materials for Cancer Therapy” [A8], który został opublikowany w prestiżowym czasopiśmie *ACS Applied Materials Interfaces*. Na uwagę zasługuje fakt, że był to artykuł w specjalnym numerze mającym na celu uczczenie 10-lecie badań nad polidopaminą, w którym byłem jednym z nielicznych zaproszonych autorów europejskich. W artykule przedstawiłem użycie polidopaminy do konstrukcji wielozadaniowych nanomateriałów w skali nano i mikrometrycznej i ich zastosowanie w terapiach przeciwnowotworowych. W pracy poruszyłem fuzję polidopaminy m.in. z magnetycznymi nanocząstkami, nanocząstkami złota i metalami ziem rzadkich a także micelami i liposomami. Dużą część pracy poświęciłem wykorzystaniu „czystej” polidopaminy w syntezie teranostycznych struktur i jej wykorzystaniu w skojarzonych terapiach antynowotworowych. Dotychczas jest to jedyny artykuł przeglądowy o tej tematyce dostępny w fachowej literaturze, który doczekał się już ponad 23 cytowań (wg Google Scholar) w krótkim czasie po opublikowaniu.

Podsumowanie

Synteza i zastosowanie wielozadaniowych nanocząstek jest ciągle aktualnym tematem badawczym w zakresie nanomedycyny. Choć dostępnych jest wiele typów nanomateriałów, które mogą posłużyć do syntezy inteligentnych zaawansowanych nanośników to wyrażnie

magnetyczne nanocząstki przyciągają wiele uwagi, co przekłada się na dużą liczbę publikacji. Zainteresowanie tym materiałem związane jest głównie z jego biokompatybilnością oraz zatwierdzeniem przez FDA do zastosowań medycznych. Ponadto, mają bardzo dobre właściwości kontrastujące w magnetycznym rezonansie jądrowym. Co więcej, można je poprowadzić do zainfekowanych obszarów za pomocą zewnętrznego pola magnetycznego, zwiększając ich stężenie w pożądanym obszarze. Dzięki temu metody leczenia oparte na magnetycznych nanocząstkach często prowadzą do wyższej skuteczności leczenia i znacznego zmniejszenia skutków ubocznych prowadzonej terapii. Wszystko to czyni je idealnym materiałem do budowy zaawansowanych narzędzi teranostycznych.

Polidopamina przyciągnęła uwagę wielu grup naukowych jako obiecujący materiał do syntezy nanomateriałów dla nanomedycyny ze szczególnym uwzględnieniem terapii przeciwnowotworowej. Zwłaszcza w ciągu ostatnich 4-5 lat wzrosło zainteresowanie polidopaminą. Związane jest to z jej unikatowymi właściwościami adhezyjnymi pozwalającymi na jej połączenie z wieloma typami nanomateriałów oraz rozpoznaniem jej silnych właściwości fototermicznych. Od tego momentu zaczęto badać możliwość jej zastosowania w terapii fototermicznej wywołanej absorpcją promieniowania z zakresu bliskiej podczerwieni.

W swoich badaniach przedstawiłem metody otrzymywania i zastosowanie nowych hybrydowych układów, zbudowanych na bazie połączenia polidopaminy z magnetycznym rdzeniem (magnetyt) oraz z nanodiamentami. Otrzymane materiały łączyły najlepsze cechy poszczególnych komponentów. W przypadku łączenia polidopaminy z magnetycznymi nanocząstkami była to magnetyczna separacja, właściwości kontrastujące w MRI, biokompatybilność i właściwości fototermiczne. Otrzymane hybrydowe nanomateriały mogły być z sukcesem zastosowane w skojarzonej chemio- i fototerapii przeciwnowotworowej raka wątroby i pęcherzyka żółciowego. W przypadku opłaszczania nanodiamentów polidopaminą pozwoliło to na znaczne zwiększenie właściwości fototermicznych nanodiamentów i ich zastosowanie jako wydajnego odczynnika fototermicznego w terapii glejaka wielopostaciowego. W swojej pracy zbadałem także aspekty polidopaminy, rzadko poruszane w literaturze, związane z funkcjonalizacją powierzchni nanocząstek pokrytych tym polimerem oraz wykorzystaniem polidopaminy jako markera w obrazowaniu magnetycznym rezonansem paramagnetycznym. Pokazałem także, że możliwe są nowe sposoby funkcjonalizacji polidopaminy, które dzięki jej właściwościom adhezyjnym mogą być łatwo przetransferowane na inne materiały zarówno w skali nano i mikro a także makrometrycznej.

Do najważniejszych osiągnięć w omawianym obszarze tematycznym mogę zaliczyć:

- Przeprowadzenie reakcji diazotransferu na powierzchni opłaszczonych polidopaminą magnetycznych nanocząstek, skutkującą zamianą pierwszorzędowych grup aminowych polidopaminy w grupy azydkowe.
- Przeprowadzenie reakcji Click na otrzymanych nanocząstkach z ugrupowaniami azydkowymi, wprowadzając molekuly o charakterze biologicznym na powierzchnię nanocząstek.
- Wykorzystanie polidopaminy do budowy magnetycznego nanonośnika zdolnego do efektywnego dostarczenia leku przeciwnowotworowego do komórek raka szyjki macicy i zbadanie jego efektywności w zwalczaniu komórek raka szyjki macicy.

- Opracowanie i syntezę unikatowych teranostycznych nanoplateform na bazie polidopaminy modyfikowanych ugrupowaniami β -cyklodekstryn oraz dendrymerami PAMAM, charakteryzujących się dużymi zdolnościami załadunku doksorubicyny oraz wysoką odpornością na degradację w warunkach lekko kwasowych.
- Zastosowanie po raz pierwszy otrzymanych nośników w skojarzonej chemio- i fototerapii raka wątrobokomórkowego.
- Porównanie aktywności przeciwnowotworowej otrzymanych materiałów.
- Wskazanie apoptozy jako głównego mechanizmu śmierci komórek nowotworach HepG2 na skutek poddania ich skojarzonej chemio- i fototerapii z użyciem nanocząstek magnetycznych opłaszczonych polidopaminą i modyfikowanych dendrymerami PAMAM.
- Nadanie nanodiamantom silnych właściwości fototermicznych poprzez opłaszczenie ich polidopaminą i osadzenie zieleni indocyjaninowej (ICG).
- Zbadanie właściwości fototermicznych nanodiamentów i nanodiamentów opłaszczonych polidopaminą i ich wykorzystanie w terapii fototermicznej glejaka wielopostaciowego *in vitro*.
- Przeprowadzenie obrazowania wolnych rodników obecnych w strukturze polidopaminy i wskazanie na ich potencjalne zastosowanie jako markera w obrazowaniu magnetycznym rezonansem paramagnetycznym.
- Opracowanie artykułu przeglądowego na temat analogów polidopaminy.
- Monoautorskie opracowanie artykułu przeglądowego podsumowującego zastosowanie polidopaminy w syntezie wielozadaniowych nanocząstek do zastosowań onkologicznych.

W ramach prowadzonej działalności naukowej stworzyłem pierwszy w Polsce interdyscyplinarny zespół zajmujący się wykorzystaniem polidopaminy do syntezy wielozadaniowych nanomateriałów dla nanomedycyny. Moje badania prowadzone są wyłącznie o zdobyte przeze mnie środki z Narodowego Centrum Nauki oraz Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. O istotnym wkładzie prowadzonych badań w rozwój danej dziedziny może świadczyć wynik uzyskany z bazy danych Scopus. Kiedy zastosuje się słowa kluczowe „polydopamine” and „liver cancer”, to w zestawie otrzymanych wyników znajdują się tylko dwie prace traktujące o skojarzonej chemio- i fototerapii raka wątroby, które to wchodzi w skład niniejszego cyklu habilitacyjnego, a mianowicie [A3] i [A4]. Także według bazy danych Scopus praca [A5] to jedyny dotychczas przykład wykorzystania polidopaminy w połączeniu z nanodiamentami w terapii fototermicznej glejaka wielopostaciowego.

Choć współautorem w artykułach [A1] i [A7] jest mój promotor pracy doktorskiej to zagadania poruszane w tych pracach są całkowicie odmienne od tych studiowanych w pracy doktorskiej i stanowią już odrębną tematykę uprawianą przeze mnie po obronie pracy doktorskiej. W obydwóch artykułach jestem głównym autorem i niezależnym ekspertem w prezentowanej dziedzinie.

3. Inne osiągnięcia

3.1 Opis dorobku naukowego nie związanego z tematem habilitacji

3.1.1 Prace opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora

➤ Radosław Mrówczyński, Alexandrina Nan, Jürgen Liebscher* „Magnetic nanoparticle-supported organocatalysts—an efficient way of recycling and reuse” *Rsc. Adv.* 2014, 4, 5927

IF = 3.840

Punkty MNiSW = 35

Cytowania WoS: 81, Scopus: 81, Google Scholar: 67

➤ Jürgen Liebscher*, Radosław Mrówczyński, Holger A. Scheidt, Claudiu Filip, Niculina D. Hădade, Rodica Turcu, Attila Bende, Sebastian Beck „Structure of Polydopamine: A Never-Ending Story?” *Langmuir* 2013, 29, 10539

IF = 4.187

Punkty MNiSW = 35

Cytowania WoS: 328, Scopus: 355, Google Scholar: 387

➤ Radosław Mrówczyński, Rodica Turcu, Cristian Leostean, Holger A. Scheidt, Jürgen Liebscher* „New versatile polydopamine coated functionalized magnetic nanoparticles” *Mater. Chem. Phys.* 2013, 138, 295

IF = 2.129

Punkty MNiSW = 35

Cytowania WoS: 39, Scopus: 39, Google Scholar: 44

➤ Radosław Mrówczyński, Lidia Rednic, Rodica Turcu, Jürgen Liebscher* „One-step ligand exchange reaction as an efficient way for functionalization of magnetic nanoparticles” *J. Nanoparticle Res.* 2012, 14, 985

IF = 2.175

Punkty MNiSW = 35

Cytowania WoS: 1, Scopus: 2, Google Scholar: 4

Głównym celem badań podjętych przez mnie w czasie pracy doktorskiej była synteza nanomateriałów do celów katalitycznych. W tym celu rozwinąłem metody modyfikacji nanomateriałów pozwalające na wprowadzenie organokatalizatorów na powierzchnię magnetycznych nanocząstek i zbadałem ich własności katalityczne w asymetrycznej reakcji aldolowej oraz Michaela. W ramach prowadzonych badań bardzo wiele pracy i uwagi skupiłem na próbach otrzymania nanomateriałów z nanizanymi organokatalizatorami, korzystając z różnego typu pochodnych, głównie akrylowych, treoniny, seroniny i proliny oraz próbach zastosowania ich w asymetrycznej reakcji aldolowej i Michela. Pracowałem także z alkaloidami kory chinowca, które znane są ze swoich własności organokatalitycznych. W ramach pracy doktorskiej współuczestniczyłem w badaniach nad strukturą polidopaminy,

które pomogły wyjaśnić mi własności organokatalityczne „czystej” polidopaminy oraz zastosować ją jako inicjator w reakcji polimeryzacji laktydu kwasu mlekowego z otwarciem pierścienia. Praca doktorska dostępna jest w otwartym repozytorium pod adresem <https://doi.org/10.18452/16923>.

3.1.2 Prace opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora

➤ Radosław Mrówczyński, Alexander Bunge, Jürgen Liebscher* „Polydopamine – An Organocatalyst Rather than an Innocent Polymer” *Chem. Eur. J.* 2014, 20, 8647

IF = 5.731

Punkty MNiSW = 40

Cytowania WoS: 29, Scopus: 30, Google Scholar: 31

➤ Radosław Mrówczyński*, Alexandrina Nan*, Rodica Turcu, Joachim Leistner, Jürgen Liebscher „Polydopamine a versatile coating for surface initiated ring opening polymerisation of lactide to polylactide” *Macro.Chem.Phys.* 2015, 2, 211

IF = 2.495

Punkty MSiW = 35

Cytowania WoS: 8, Scopus: 10, Google Scholar: 10

➤ Anca Petran, Radosław Mrówczyński, Claudiu Filip, Rodica Turcu, Jürgen Liebscher „Melanin-like polydopa amides—synthesis and application in functionalization of magnetic nanoparticles” *Polym. Chem.* 2015, 6, 2139

IF = 5.687

Punkty MNiSW = 45

Cytowania WoS: 7, Scopus: 7, Google Scholar: 8

➤ Krzysztof Tadyszak, Agnieszka Boś-Liedke, Jan Jurga, Mikołaj Baranowski, Radosław Mrówczyński, Wojciech Chlewicki, Stefan Jurga, Tomasz Czechowski „Overmodulation of projections as signal-to-noise enhancement method in EPR imaging” *Mag.Res.Chem.* 2016, 54, 136

IF = 1.601

Punkty MNiSW = 20

Cytowania WoS: 2, Scopus: 2, Google Scholar: 2

➤ Anna Woźniak, Magdalena Walawender, Dominika Tempka, Emerson Coy, Karol Załęski, Bartosz F Grześkowiak, Radosław Mrówczyński* „In vitro genotoxicity and cytotoxicity of polydopamine-coated magnetic nanostructures” *Toxicol. In Vitro* 2017, 44, 256

IF = 3.105

Punkty MNiSW = 30

Cytowania WoS: 3, Scopus: 3, Google Scholar: 4

➤ Błażej Scheibe, Radosław Mrówczyński, Natalia Michalak, Karol Załęski, Michał Matczak, Mateusz Kempieński, Zuzanna Pietralik, Mikołaj Lewandowski, Stefan Jurga, Feliks Stobiecki „Anchoring Fe₃O₄ nanoparticles in a reduced graphene oxide aerogel matrix via polydopamine coating” *Beilstein J Nanotechnol.* 2018, 9, 591

IF = 2.97

Punkty MNiSW = 35

Cytowania WoS: 1, Scopus: 1, Google Scholar: 1

➤ Artur Jędrzak, Tomasz Rębiś, Marek Nowicki, Karol Synoradzki, Radosław Mrówczyński, Teofil Jesionowski „Polydopamine grafted on an advanced Fe₃O₄/lignin hybrid material and its evaluation in biosensing” *Appl.Surf. Sci.* 2018, 455, 455

IF = 4.439

Punkty MNiSW = 35

Cytowania WoS: 1, Scopus: 3, Google Scholar: 2

➤ Radosław Mrówczyński, Marco d’Ischia Haeshin Lee and Stefan Jurga „1st Symposium on Polydopamine and NanoTech Poland 2018: Conference Report” *Biomimetics* 2018, 3, 37

IF = oczekuje

Punkty MNiSW = oczekuje

3.2 Konferencje

3.2.1 Prezentacje

➤ KBSI International Collaborative Workshop: From Nanomaterials to Smart Materials—Recent Advances, “Polydopamine Materials for Cancer Therapy” Daejeon, Korea, Listopad 2018. Radosław Mrówczyński

➤ International workshop on Bioinspired and Functional Coatings Based on Catechol, „Polydopamine based nanostructures for cancer therapy” Barcelona, Hiszpania, Październik 2018, wykład zaproszony. Radosław Mrówczyński

➤ EMRS Fall Meeting, „Polydopamine - on the way to multifunctional nanostructures” Warszawa, Wrzesień 2018. Radosław Mrówczyński

➤ Chemistry Beyond Nature „Multifunctional Nanomaterials for Cancer Therapy”, Poznań, Czerwiec 2018. Radosław Mrówczyński

➤ Nanotech Poland 2018 and 1st Symposium on Polydopamine „Polydopamine hybrid materials for cancer therapy”, Poznań, Czerwiec 2018. Radosław Mrówczyński

➤ Nanotech Poland 2018 and 1st Symposium on Polydopamine „Nanodiamonds@Polydopamine conjugates for glioblastoma photothermal therapy” Damian

Maziukiewicz, Bartosz Grześkowiak, Emerson Coy, Radosław Mrówczyński, Stefan Jurga. Poznań, Czerwiec 2018.

➤ Nanotech Poland 2018 and 1st Symposium on Polydopamine „Hybrid magnetic nanomaterials for liver cancer therapy” Artur Jędrzak, Bartosz Grześkowiak, Emerson Coy, Kosma Szutkowski Stefan Jurga, Teofil Jesionowski, Radosław Mrówczyński, Poznań, Czerwiec 2018.

➤ SofComp annual meeting „Biomimetic Polymer in Preparation of Multifunctional Nanoparticles” Primosten, Chorwacja, Maj 2018. Radosław Mrówczyński.

➤ 14th International Conference and Exhibition on Nanomedicine and Pharmaceutical Nanotechnology „Dendrimers PAMAM grafted on smart Fe₃O₄@PDA composite and its application in cancer treatment” Artur Jędrzak, Bartosz Grześkowiak, Emerson Coy, Stefan Jurga, Teofil Jesionowski, Radosław Mrówczyński, Amsterdam, Holandia, Kwiecień 2018.

➤ Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST), wykład zaproszony, „Chemistry of Polydopamine and Its Application in Synthesis of Multifunctional Nanomaterials for Cancer Therapy”, Daejeon, Korea, Listopad 2017. Radosław Mrówczyński

➤ Catalan Institute of Nanoscience and Nanotechnology (ICN2), wykład zaproszony, „Chemistry of Polydopamine and Its Application in Synthesis of Multifunctional Nanomaterials for Cancer Therapy”, Barcelona, Hiszpania, Październik 2017. Radosław Mrówczyński

➤ 1st workshop NanoBioMed 2017 „Application of PEI coated magnetic nanoparticles in RNA interference gene silencing therapy of glioblastoma multiforme” Radosław Mrówczyński Sardinia, Włochy Czerwiec 2017

➤ Nanotech Poland 2017 „New molecular approaches in brain tumors treatment” Katarzyna Rolle, Dariusz Wawrzyniak, Małgorzata Grabowska, Paweł Głodowicz, Radosław Mrówczyński, Bartosz F. Grześkowiak, Stefan Jurga, Jan Barciszewski, Poznań, Czerwiec 2017

➤ Nanotech Poland 2017 „Polydopamine based smart magnetic composite and their use as potential drug carrier in tumor therapy” Artur Jędrzak, Emerson Coy, Bartosz Grześkowiak, Roksana Markiewicz, Stefan Jurga, Teofil Jesionowski and Radosław Mrówczyński, Poznań, Czerwiec 2017

➤ VII Krajowa Konferencja Nanotechnologii „Magnetyczne nanocząstki pokryte polidopaminą jako nośniki leków i związki kontrastujące MRI” Łódź, Czerwiec 2017. Radosław Mrówczyński

➤ EMN Meeting on Smart & Multifunctional Materials, wykład zaproszony, „Synthesis Of Multifunctional Polydopamine Coated Magnetic Nanoparticles” Berlin, Niemcy, Sierpień 2016. Radosław Mrówczyński

➤ Nanotech Poland, „Multifunctional Polydopamine Coated Magnetic Nanomaterials - Stability of Nanocomposites and Drug Release Studies”, Poznań, Czerwiec 2016. Radosław Mrówczyński

➤ 7th National Conference in Nanotechnology, „Mussel Inspired Nanoparticles for Drug Delivery” Poznań, Czerwiec 2015. Radosław Mrówczyński

➤ KBSI International Collaborative Workshop : From Nanomaterials to Smart Materials – Recent Advances, „New Chemistry of Polydopamine”, Daejeon, Korea, Listopad 2014. Radosław Mrówczyński

➤ 4th Summer Symposium on Nanomaterials and their application to Biology and Medicine, „Polydopamine – towards surface (bio)functionalization”, Poznań, Czerwiec 2014. Radosław Mrówczyński

Prezentacje przed doktorem

➤ The XXXII Romanian Chemistry Conference, „One-step ligand exchange reaction as an efficient way for functionalization of magnetic nanoparticles”, Calimanesti-Caciulata, Październik 2012

3.2.2 Plakaty

➤ Nanotech Poland 2018 and 1st Symposium on Polydopamine „Polymeric PDA@PEI nanoparticles as a potential dsRNA nanocarrier in combined gene- and photothermal therapy of glioblastoma multiforme” Bartosz F. Grześkowiak, Marcin Ryczek, Małgorzata Grabowska, Katarzyna Rolle, Jan Barciszewski, Stefan Jurga, Radosław Mrówczyński. Poznań, Czerwiec 2018.

➤ Nanotech Poland 2018 and 1st Symposium on Polydopamine „Formulation of Nanodiamond sphere-like clusters for photothermal therapy of glioblastoma multiforme” Damian Maziukiewicz, Bartosz Grześkowiak, Emerson Coy, Radosław Mrówczyński, Stefan Jurga. Poznań, Czerwiec 2018.

➤ 1st workshop NanoBioMed 2017 „Synthesis and properties of polydopamine smart, hybrid dendrimers-magnetic nanoparticles and their evaluation in anticancer therapy” Artur Jędrzak, Bartosz F. Grześkowiak, Roksana Markiewicz, Emerson Coy, Stefan Jurga, Teofil Jesionowski, Radosław Mrówczyński, Sardinia, Włochy, Czerwiec 2017

➤ Nanotech Poland 2017 „The design and synthesis of core-shell composite constructed with polydopamine nanospheres coated by metal-organic framework as a new drug carriers” Patryk Florczak, Roksana Markiewicz, Emerson Coy, Radosław Mrówczyński and Stefan Jurga, Poznań, Czerwiec 2017.

➤ Nanotech Poland 2017 „Characterization of polyethylenimine (PEI) coated magnetic nanoparticles used in RNA interference therapy of brain tumors” Bartosz F. Grześkowiak, Radosław Mrówczyński, Kosma Szutkowski, Katarzyna Rolle, Małgorzata Grabowska, Dariusz Wawrzyniak, Paweł Głodowicz, Jan Barciszewski, Stefan Jurga Poznań, Czerwiec 2017

➤ Nanotech Poland 2017 „Polydopamine coated magnetic nanoparticles and DNA damage” Anna Woźniak, Radosław Mrówczyński, Magdalena Walawender, Bartosz Grześkowiak, Stefan Jurga, Poznań, Czerwiec 2017

➤ VII Krajowa Konferencja Nanotechnologii „Synteza i charakterystyka fizykochemiczna kompozytu magnetyt/polidopamina/ β -cyklodekstryny oraz ocena jego zastosowania jako potencjalnego nośnika leków w terapii przeciwnowotworowej” Artur Jędrzak, Emerson Coy, Bartosz Grześkowiak, Roksana Markiewicz, Stefan Jurga, Teofil Jesionowski, Radosław Mrówczyński, Łódź, Czerwiec 2017

Plakaty przed doktoratem

➤ 3rd Summer Symposium on Nanomaterials and their application to Biology and Medicine, Poznań, Czerwiec 2013

➤ RomCat 2013 „New ways to magnetic tagging of organocatalyst”, Kluż Napoka, Rumunia, Maj 2013

➤ PIM 2011 „Synthesis and structural studies of trianglimine macrocycles with triptycene and anthracene rotors” Kluż Napoka, Rumunia, Wrzesień 2011. Radosław Mrówczyński, Jakub Grajewski, Jacek Gawroński

3.2.3 Prace pokonferencyjne

Przed doktoratem

➤ Lidia Magerusan, Radosław Mrówczyński, Rodica Turcu, Jürgen Liebscher „Synthesis and characterization of new magnetic polydopamine composites” *AIP Conference Proceedings*, 2013, 1565, 224

Po doktoracie

➤ Lidia Măgeruşan, Radosław Mrówczyński, Rodica Turcu „Functionalization of polydopamine coated magnetic nanoparticles with biological entities” *AIP Conference Proceedings* 2015, 1700, 060002

3.3 Działalność dydaktyczna

➤ Obecnie pełnię rolę promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim Pana mgra Artura Jędrzaka prowadzonym na Wydziale Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej

➤ Promotor pracy magisterskiej Pani Agaty Kozłowskiej na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

3.4 Działalność recenzencka i edytorska

➤ “Guest Editor” specjalnego numeru “Selected Papers from NanoTech Poland 2018 and 1st Symposium on Polydopamine” w czasopiśmie *Biomimetics*

➤ Członek Rady Recenzentów w czasopiśmie *MDPI Polymers*

➤ 2019 Recenzja dla *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 1

➤ 2018 Recenzja dla *Polymers* 2

➤ 2018 Recenzja dla *Molecules* 2

➤ 2018 Recenzja dla *International Journal of Molecular Sciences* 2

- 2018 Recenzja dla Scientific Reports 1
- 2018 Recenzja dla Biomaterials Science 1
- 2018 Recenzja dla Applied Materials and Interfaces 1
- 2018 Recenzja dla Photonics 1
- 2018 Recenzja dla Materials 1
- 2018 Recenzja dla Nanomaterials 2
- 2018 Recenzja dla Science of Total Environment 1
- 2018 Recenzja dla Journal of Drug Delivery Science and Technology 1
- 2017 Recenzja dla RSC Advances 1
- 2016 Recenzja dla Macromolecular Bioscience 1
- 2016 Recenzja dla ChemistrySelect 1

3.5 Współpraca krajowa i międzynarodowa

- Dr hab. Katarzyna Rolle, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
- Prof. Jan Barciszewski, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
- Prof. Teofil Jesionowski, Wydział Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej
- Prof. Haeshin Lee, Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST), Korea Płd.
- Prof. Hea Jin Kim, Kore Basic Science Institute, Korea Płd.
- Prof. Ashok Kakkar, McGill University, Kanda
- Prof. Daniel Ruiz Molina, Catalan Institute of Nanoscience and Nanotechnology (ICN2), Hiszpania
- Prof. Marco d'Ischia, University of Naples Federico II, Włochy

3.6 Szkolenia

- „Business principles introduction” (2015)
- „Entrepreneurship, Innovation and Technology Transfer” (2015)
- „Autopresentation and Communication” (2014)
- „From Idea to Industry” (2014)

Szkolenia organizowane przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej

- „Presentation of the scientific results using Web 2.0” (2015)
- „Commercialization of scientific results” (2015)

3.7 Profile naukowe

- <https://scholar.google.pl/citations?user=a6OjSEAAAAAJ&hl=pl&oi=sra>
- https://www.researchgate.net/profile/Radostaw_Mrowczynski
- <https://orcid.org/0000-0003-3687-911X>

3.8 Plany na przyszłość

W najbliższym czasie zamierzam się skupić na dalszym rozwoju nanomateriałów opartych na polidopaminie oraz materiałach pokrewnych i ich zastosowaniu w zaawansowanych terapiach raka wątroby. Ponadto, w swoich badaniach chcę zintensyfikować prace nad użyciem materiałów opartych na polidopaminie w łączonej geno-

i fototerapii glejaka wielopostaciowego. Badania nad tym zagadaniem prowadzę w granie OPUS, w którym jestem obecnie zatrudniony. Ponadto, planuję zbadać zdolność otrzymywanych nanostruktur do przechodzenia przez barierę krew-mózg. Aby móc zrealizować określone cele naukowe złożyłem wnioski grantowe do Europejskiej Rady ds. Badań Naukowych (ERC) oraz do Narodowego Centrum Nauki w ramach konkursu OPUS. Wiedzę na temat nowych materiałów i ich zastosowań w nanomedycynie zamierzam rozszerzyć podczas stażu w ICN2, na którego realizację zostały przyznane mi środki na drodze konkursowej z Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej (NAWA).

3.9 Podsumowanie działalności naukowo - badawczej

Sumaryczne zestawienie działalności naukowo - badawczej zebrałem w Tabeli 4 i 5. Mój obecny dorobek naukowy stanowi łącznie 20 publikacji a indeks Hirscha wg bazy Web of Science wynosi 9. Dane bibliometryczne z bazy Scopus oraz Google Scholar przedstawione są w Tabeli 4. Moje publikacje były cytowane ponad 500 razy (Tabela 4), a ich łączny współczynnik wpływu (impact factor z roku opublikowania) wynosi 67.842. Łączna ilość punktów MNiSW za publikacje wynosi 635. Obecnie kieruję dwoma własnymi projektami badawczymi przyznanymi przez Narodowe Centrum Nauki (SONATA) oraz Narodowe Centrum Badań i Rozwoju i (LIDER). Jestem także głównym wykonawcą grantu OPUS przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki. Prowadzona przeze mnie działalność badawcza została nagrodzona przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej w formie stypendium START oraz doceniona przez MNiSW poprzez przyznanie mi stypendium dla Wybitnych Młodych Naukowców. Jako członek komitetu organizacyjnego Nanotech Poland 2018 zorganizowałem pierwszą konferencję poświęconą polidopaminie pod nazwą „1st Symposium on Polydopamine”, w której do udziału zaprosiłem najwybitniejszych ekspertów z Europy oraz Azji. Jestem także edytorem specjalnego numeru zatytułowanego „Selected Papers from NanoTech Poland 2018 and 1st Symposium on Polydopamine” w czasopiśmie Biomimetics.

Swoją działalność dydaktyczną realizuję jako promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim Pana mgra Artura Jędrzaka na Wydziale Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej oraz jako promotor pracy magisterskiej Pani Agaty Kozłowskiej na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Tabela 4. Sumaryczne zestawienie działalności naukowo – badawczej.

	przed doktoratem	po doktoracie
Liczba publikacji z bazy JCR	4	18
Liczba publikacji z poza bazy JCR	0	2
Udziały w konferencjach	4	17
Udziały w projektach badawczych - kierownik	0	2
Udziały w projektach badawczych - wykonawca	1	3
Sumaryczny impact factor zgodny z rokiem publikacji	12.331	55.511
Liczba cytowań	10	Patrz Tabela 2
Indeks Hirscha	2	Patrz Tabela 2

Recenzje manuskryptów publikacji	0	19
Działalność edytorska	0	1

Tabel 5. Aktualny Indeks Hirscha oraz liczba cytowań wg różnych baz danych (na dzień 14.01.2019).

	WoS	Scopus	Google Scholar
Liczba publikacji	20	20	22
Cytowania	583	603	662
Indeks h	9	10	10
Wskaźnik i10	9	10	10

Sumaryczny współczynnik wpływu (impact factor) dla wszystkich publikacji: 67.842

- przed doktoratem: **12.331**
- po doktoracie : **55.511**

Suma punktów MNiSW dla wszystkich prac : 635

- przed doktoratem: **140**
- po doktoracie : **495**

4. Bibliografia

1. Hanahan, D.; Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* 2011.
2. Schlachterman, A.; Craft Jr, W. W.; Hilgenfeldt, E.; Mitra, A.; Cabrera, R. Current and future treatments for hepatocellular carcinoma. *World J. Gastroenterol.* **2015**, 21, 8478–8491, doi:10.3748/wjg.v21.i28.8478.
3. Xie, J.; Lee, S.; Chen, X. Nanoparticle-based theranostic agents. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2010**, 62, 1064–1079, doi:10.1016/j.addr.2010.07.009.
4. Min, Y.; Caster, J. M.; Eblan, M. J.; Wang, A. Z. Clinical Translation of Nanomedicine. *Chem. Rev.* **2015**, 115, 11147–11190, doi:10.1021/acs.chemrev.5b00116.
5. Tran, S.; DeGiovanni, P.-J.; Piel, B.; Rai, P. Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery. *Clin. Transl. Med.* **2017**, 6, 44, doi:10.1186/s40169-017-0175-0.
6. Tong, R.; Kohane, D. S. New Strategies in Cancer Nanomedicine. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2016**, 56, 41–57, doi:10.1146/annurev-pharmtox-010715-103456.
7. Bao, G.; Mitragotri, S.; Tong, S. Multifunctional Nanoparticles for Drug Delivery and Molecular Imaging. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2013**, 15, 253–282, doi:10.1146/annurev-bioeng-071812-152409.
8. Sanvicens, N.; Marco, M. P. Multifunctional nanoparticles – properties and prospects for their use in human medicine. *Trends Biotechnol.* **2008**, 26, 425–433, doi:https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.04.005.
9. Kim, D.; Shin, K.; Kwon, S. G.; Hyeon, T. Synthesis and Biomedical Applications of Multifunctional Nanoparticles. *Adv. Mater.* **2018**, 30, 1802309, doi:10.1002/adma.201802309.

10. Ngoune, R.; Peters, A.; von Elverfeldt, D.; Winkler, K.; Pütz, G. Accumulating nanoparticles by EPR: A route of no return. *J. Control. Release* **2016**, *238*, 58–70, doi:<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.07.028>.
11. Miao, L.; Huang, L. Exploring the tumor microenvironment with nanoparticles. *Cancer Treat. Res.* **2015**, *166*, 193–226, doi:[10.1007/978-3-319-16555-4_9](https://doi.org/10.1007/978-3-319-16555-4_9).
12. Liao, J.; Li, W.; Peng, J.; Yang, Q.; Li, H.; Wei, Y.; Zhang, X.; Qian, Z. Combined cancer photothermal-chemotherapy based on doxorubicin/gold nanorod-loaded polymersomes. *Theranostics* **2015**, *5*, 345–356, doi:[10.7150/thno.10731](https://doi.org/10.7150/thno.10731).
13. Kim, J.; Kim, J.; Jeong, C.; Kim, W. J. Synergistic nanomedicine by combined gene and photothermal therapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2016**, *98*, 99–112, doi:<https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.12.018>.
14. Meng, Y.; Wang, S.; Li, C.; Qian, M.; Yan, X.; Yao, S.; Peng, X.; Wang, Y.; Huang, R. Photothermal combined gene therapy achieved by polyethyleneimine-grafted oxidized mesoporous carbon nanospheres. *Biomaterials* **2016**, *100*, 134–142, doi:<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.05.033>.
15. Xu, B.; Xia, S.; Wang, F.; Jin, Q.; Yu, T.; He, L.; Chen, Y.; Liu, Y.; Li, S.; Tan, X.; Ren, K.; Yao, S.; Zeng, J.; Song, X. Polymeric Nanomedicine for Combined Gene/Chemotherapy Elicits Enhanced Tumor Suppression. *Mol. Pharm.* **2016**, *13*, 663–676, doi:[10.1021/acs.molpharmaceut.5b00922](https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.5b00922).
16. Cheng, Z.; Al Zaki, A.; Hui, J. Z.; Muzykantov, V. R.; Tsourkas, A. Multifunctional nanoparticles: cost versus benefit of adding targeting and imaging capabilities. *Science* **2012**, *338*, 903–910, doi:[10.1126/science.1226338](https://doi.org/10.1126/science.1226338).
17. Stanicki, D.; Elst, L. Vander; Muller, R. N.; Laurent, S. Synthesis and processing of magnetic nanoparticles. *Curr. Opin. Chem. Eng.* **2015**, *8*, 7–14, doi:<https://doi.org/10.1016/j.coche.2015.01.003>.
18. Maity, D.; Choo, S.-G.; Yi, J.; Ding, J.; Xue, J. M. Synthesis of magnetite nanoparticles via a solvent-free thermal decomposition route. *J. Magn. Magn. Mater.* **2009**, *321*, 1256–1259, doi:<https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2008.11.013>.
19. Stephen, Z. R.; Kievit, F. M.; Zhang, M. Magnetite Nanoparticles for Medical MR Imaging. *Mater. Today (Kidlington)*. **2011**, *14*, 330–338, doi:[10.1016/S1369-7021\(11\)70163-8](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70163-8).
20. Estelrich, J.; Sánchez-Martín, M. J.; Busquets, M. A. Nanoparticles in magnetic resonance imaging: from simple to dual contrast agents. *Int. J. Nanomedicine* **2015**, *10*, 1727–1741, doi:[10.2147/IJN.S76501](https://doi.org/10.2147/IJN.S76501).
21. Bañobre-López, M.; Teijeiro, A.; Rivas, J. Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment. *Reports Pract. Oncol. Radiother.* **2013**, *18*, 397–400, doi:<https://doi.org/10.1016/j.rpor.2013.09.011>.
22. Chang, D.; Lim, M.; Goos, J. A. C. M.; Qiao, R.; Ng, Y. Y.; Mansfeld, F. M.; Jackson, M.; Davis, T. P.; Kavallaris, M. Biologically Targeted Magnetic Hyperthermia: Potential and Limitations. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*, 831.
23. Tudisco, C.; Cambria, M. T.; Condorelli, G. G. Chapter 12 - Multifunctional Magnetic Nanoparticles for Theranostic Applications. In *Micro and Nano Technologies*; Sarmiento, B., das Neves, J. B. T.-B. A. of F. N., Eds.; Elsevier, 2018; pp. 335–370 ISBN 978-0-323-50878-0.
24. McCarthy, J. R.; Weissleder, R. Multifunctional magnetic nanoparticles for targeted imaging and therapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, *60*, 1241–1251, doi:[10.1016/j.addr.2008.03.014](https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.03.014).
25. Liu, Y.; Ai, K.; Lu, L. Polydopamine and Its Derivative Materials: Synthesis and Promising

Applications in Energy, Environmental, and Biomedical Fields. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 5057–5115, doi:10.1021/cr400407a.

26. Ryu, J. H.; Messersmith, P. B.; Lee, H. Polydopamine Surface Chemistry: A Decade of Discovery. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2018**, *10*, 7523–7540, doi:10.1021/acsami.7b19865.

27. Liu, M.; Zeng, G.; Wang, K.; Wan, Q.; Tao, L.; Zhang, X.; Wei, Y. Recent developments in polydopamine: an emerging soft matter for surface modification and biomedical applications. *Nanoscale* **2016**, *8*, 16819–16840, doi:10.1039/C5NR09078D.

28. Bie, Y.; Yang, J.; Liu, X.; Wang, J.; Nuli, Y.; Lu, W. Polydopamine Wrapping Silicon Cross-linked with Polyacrylic Acid as High-Performance Anode for Lithium-Ion Batteries. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 2899–2904, doi:10.1021/acsami.5b10616.

29. Mao, W.-X.; Lin, X.-J.; Zhang, W.; Chi, Z.-X.; Lyu, R.-W.; Cao, A.-M.; Wan, L.-J. Core-shell structured TiO₂@polydopamine for highly active visible-light photocatalysis. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 7122–7125, doi:10.1039/C6CC02041K.

30. Mrówczyński, R.; Bunge, A.; Liebscher, J. Polydopamine - An organocatalyst rather than an innocent polymer. *Chem. - A Eur. J.* **2014**, *20*, doi:10.1002/chem.201402532.

31. Sun, D. T.; Peng, L.; Reeder, W. S.; Moosavi, S. M.; Tiana, D.; Britt, D. K.; Oveisi, E.; Queen, W. L. Rapid, Selective Heavy Metal Removal from Water by a Metal–Organic Framework/Polydopamine Composite. *ACS Cent. Sci.* **2018**, *4*, 349–356, doi:10.1021/acscentsci.7b00605.

32. Tsai, W.-B.; Chen, W.-T.; Chien, H.-W.; Kuo, W.-H.; Wang, M.-J. Poly(dopamine) coating of scaffolds for articular cartilage tissue engineering. *Acta Biomater.* **2011**, *7*, 4187–4194, doi:https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.07.024.

33. Su, L.; Yu, Y.; Zhao, Y.; Liang, F.; Zhang, X. Strong Antibacterial Polydopamine Coatings Prepared by a Shaking-assisted Method. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 24420.

34. Ruan, C.; Shi, W.; Jiang, H.; Sun, Y.; Liu, X.; Zhang, X.; Sun, Z.; Dai, L.; Ge, D. One-pot preparation of glucose biosensor based on polydopamine–graphene composite film modified enzyme electrode. *Sensors Actuators B Chem.* **2013**, *177*, 826–832, doi:https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.12.010.

35. Zhang, Y.-Z.; Zhang, J.-W.; Wang, C.-Z.; Zhou, L.-D.; Zhang, Q.-H.; Yuan, C.-S. Polydopamine-Coated Magnetic Molecularly Imprinted Polymers with Fragment Template for Identification of Pulsatilla Saponin Metabolites in Rat Feces with UPLC-Q-TOF-MS. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, 653–660, doi:10.1021/acs.jafc.7b05747.

36. Gu, G. E.; Park, C. S.; Cho, H.-J.; Ha, T. H.; Bae, J.; Kwon, O. S.; Lee, J.-S.; Lee, C.-S. Fluorescent polydopamine nanoparticles as a probe for zebrafish sensory hair cells targeted in vivo imaging. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 4393, doi:10.1038/s41598-018-22828-2.

37. Lee, H.; Dellatore, S. M.; Miller, W. M.; Messersmith, P. B. Mussel-Inspired Surface Chemistry for Multifunctional Coatings. *Science (80-.)*. **2007**, *318*, 426 LP-430, doi:10.1126/science.1147241.

38. Lee, H.; Rho, J.; Messersmith, P. B. Facile Conjugation of Biomolecules onto Surfaces via Mussel Adhesive Protein Inspired Coatings. *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 431–434, doi:10.1002/adma.200801222.

39. Liu, X.; Cao, J.; Li, H.; Li, J.; Jin, Q.; Ren, K.; Ji, J. Mussel-Inspired Polydopamine: A Biocompatible and Ultrastable Coating for Nanoparticles in Vivo. *ACS Nano* **2013**, *7*, 9384–9395, doi:10.1021/nn404117j.

40. Liu, Y.; Ai, K.; Liu, J.; Deng, M.; He, Y.; Lu, L. Dopamine-Melanin Colloidal Nanospheres: An Efficient Near-Infrared Photothermal Therapeutic Agent for In Vivo Cancer Therapy. *Adv.*

Mater. **2013**, 25, 1353–1359, doi:doi:10.1002/adma.201204683.

41. Xu, F.; Liu, M.; Li, X.; Xiong, Z.; Cao, X.; Shi, X.; Guo, R. Loading of Indocyanine Green within Polydopamine-Coated Laponite Nanodisks for Targeted Cancer Photothermal and Photodynamic Therapy. *Nanomater.* **2018**, 8.

42. Nam, J.; Son, S.; Ochyl, L. J.; Kuai, R.; Schwendeman, A.; Moon, J. J. Chemo-photothermal therapy combination elicits anti-tumor immunity against advanced metastatic cancer. *Nat. Commun.* **2018**, 9, 1074, doi:10.1038/s41467-018-03473-9.

43. Chen, J.; Ning, C.; Zhou, Z.; Yu, P.; Zhu, Y.; Tan, G.; Mao, C. Nanomaterials as photothermal therapeutic agents. *Prog. Mater. Sci.* **2019**, 99, 1–26, doi:https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2018.07.005.

44. Zou, L.; Wang, H.; He, B.; Zeng, L.; Tan, T.; Cao, H.; He, X.; Zhang, Z.; Guo, S.; Li, Y. Current Approaches of Photothermal Therapy in Treating Cancer Metastasis with Nanotherapeutics. *Theranostics* **2016**, 6, 762–772, doi:10.7150/thno.14988.

45. Liu, Y.; Bhattarai, P.; Dai, Z.; Chen, X. Photothermal therapy and photoacoustic imaging via nanotheranostics in fighting cancer. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, doi:10.1039/C8CS00618K.

46. Zhou, F.; Xing, D.; Ou, Z.; Wu, B.; Resasco, D. E.; Chen, W. R. Cancer photothermal therapy in the near-infrared region by using single-walled carbon nanotubes. *J. Biomed. Opt.* **2009**, 14, 21009, doi:10.1117/1.3078803.

47. Liang, X.; Shang, W.; Chi, C.; Zeng, C.; Wang, K.; Fang, C.; Chen, Q.; Liu, H.; Fan, Y.; Tian, J. Dye-conjugated single-walled carbon nanotubes induce photothermal therapy under the guidance of near-infrared imaging. *Cancer Lett.* **2016**, 383, 243–249, doi:https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.09.006.

48. Lim, J. H.; Kim, D. E.; Kim, E.-J.; Ahrberg, C. D.; Chung, B. G. Functional Graphene Oxide-Based Nanosheets for Photothermal Therapy. *Macromol. Res.* **2018**, 26, 557–565, doi:10.1007/s13233-018-6067-3.

49. Lima-Sousa, R.; de Melo-Diogo, D.; Alves, C. G.; Costa, E. C.; Ferreira, P.; Louro, R. O.; Correia, I. J. Hyaluronic acid functionalized green reduced graphene oxide for targeted cancer photothermal therapy. *Carbohydr. Polym.* **2018**, 200, 93–99, doi:https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.066.

50. Woźniak, A.; Malankowska, A.; Nowaczyk, G.; Grześkowiak, B. F.; Tuśnio, K.; Słomski, R.; Zaleska-Medynska, A.; Jurga, S. Size and shape-dependent cytotoxicity profile of gold nanoparticles for biomedical applications. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2017**, 28, 92, doi:10.1007/s10856-017-5902-y.

51. Alkilany, A. M.; Murphy, C. J. Toxicity and cellular uptake of gold nanoparticles: what we have learned so far? *J. Nanopart. Res.* **2010**, 12, 2313–2333, doi:10.1007/s11051-010-9911-8.

52. Chernova, T.; Murphy, F. A.; Galavotti, S.; Sun, X.-M.; Powley, I. R.; Grosso, S.; Schinwald, A.; Zacarias-Cabeza, J.; Dudek, K. M.; Dinsdale, D.; Le Quesne, J.; Bennett, J.; Nakas, A.; Greaves, P.; Poland, C. A.; Donaldson, K.; Bushell, M.; Willis, A. E.; MacFarlane, M. Long-Fiber Carbon Nanotubes Replicate Asbestos-Induced Mesothelioma with Disruption of the Tumor Suppressor Gene *Cdkn2a* (*Ink4a/Arf*). *Curr. Biol.* **2017**, 27, 3302–3314.e6, doi:10.1016/j.cub.2017.09.007.

53. Hashemi-Moghaddam, H.; Kazemi-Bagsangani, S.; Jamili, M.; Zavareh, S. Evaluation of magnetic nanoparticles coated by 5-fluorouracil imprinted polymer for controlled drug delivery in mouse breast cancer model. *Int. J. Pharm.* **2016**, 497, 228–238, doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.11.040.

54. Liu, M. W. and D. Z. and Y. Z. and L. W. and X. L. and J. Nanocluster of superparamagnetic

- iron oxide nanoparticles coated with poly (dopamine) for magnetic field-targeting, highly sensitive MRI and photothermal cancer therapy. *Nanotechnology* **2015**, 26, 115102.
55. Wu, M.; Wang, Q.; Zhang, D.; Liao, N.; Wu, L.; Huang, A.; Liu, X. Magnetite nanocluster@poly(dopamine)-PEG@ indocyanine green nanobead with magnetic field-targeting enhanced MR imaging and photothermal therapy in vivo. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2016**, 141, 467–475, doi:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.02.022>.
56. Zheng, R.; Wang, S.; Tian, Y.; Jiang, X.; Fu, D.; Shen, S.; Yang, W. Polydopamine-Coated Magnetic Composite Particles with an Enhanced Photothermal Effect. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, 7, 15876–15884, doi:10.1021/acsami.5b03201.
57. Ge, R.; Li, X.; Lin, M.; Wang, D.; Li, S.; Liu, S.; Tang, Q.; Liu, Y.; Jiang, J.; Liu, L.; Sun, H.; Zhang, H.; Yang, B. Fe₃O₄@polydopamine Composite Theranostic Superparticles Employing Preassembled Fe₃O₄ Nanoparticles as the Core. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, 8, 22942–22952, doi:10.1021/acsami.6b07997.
58. Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles. DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 210–216, doi:10.1021/ja0471525.
59. Marques, H. M. C. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flavour Fragr. J.* **2010**, 25, 313–326, doi:10.1002/ffj.2019.
60. Gidwani, B.; Vyas, A. A Comprehensive Review on Cyclodextrin-Based Carriers for Delivery of Chemotherapeutic Cytotoxic Anticancer Drugs. *Biomed Res. Int.* **2015**, 2015, 198268, doi:10.1155/2015/198268.
61. Kannan, R. M.; Nance, E.; Kannan, S.; Tomalia, D. A. Emerging concepts in dendrimer-based nanomedicine: from design principles to clinical applications. *J. Intern. Med.* **2014**, 276, 579–617, doi:10.1111/joim.12280.
62. Sharma, A.; Kakkar, A. Designing Dendrimer and Miktoarm Polymer Based Multi-Tasking Nanocarriers for Efficient Medical Therapy. *Mol.* **2015**, 20.
63. Esfand, R.; Tomalia, D. A. Poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers: from biomimicry to drug delivery and biomedical applications. *Drug Discov. Today* **2001**, 6, 427–436, doi:[https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(01\)01757-3](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(01)01757-3).
64. Wrońska, N.; Felczak, A.; Zawadzka, K.; Poszepczyńska, M.; Różalska, S.; Bryszewska, M.; Appelhans, D.; Lisowska, K. Poly(Propylene Imine) Dendrimers and Amoxicillin as Dual-Action Antibacterial Agents. *Mol.* **2015**, 20.
65. Twibanire, K. J.; Grindley, T. B. Polyester Dendrimers: Smart Carriers for Drug Delivery. *Polym.* **2014**, 6.
66. Kim, C.; Hong, H. J. Carbosilane and Carbosiloxane Dendrimers. *Mol.* **2009**, 14.
67. Parsian, M.; Mutlu, P.; Yalcin, S.; Tezcaner, A.; Gunduz, U. Half generations magnetic PAMAM dendrimers as an effective system for targeted gemcitabine delivery. *Int. J. Pharm.* **2016**, 515, 104–113, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.10.015>.
68. Nigam, S.; Bahadur, D. Dendrimer-conjugated iron oxide nanoparticles as stimuli-responsive drug carriers for thermally-activated chemotherapy of cancer. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2017**, 155, 182–192, doi:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.04.025>.
69. Nigam, S.; Chandra, S.; Newgreen, D. F.; Bahadur, D.; Chen, Q. Poly(ethylene glycol)-Modified PAMAM-Fe₃O₄-Doxorubicin Triads with the Potential for Improved Therapeutic Efficacy: Generation-Dependent Increased Drug Loading and Retention at Neutral pH and Increased Release at Acidic pH. *Langmuir* **2014**, 30, 1004–1011, doi:10.1021/la404246h.
70. Kainz, Q. M.; Reiser, O. Polymer- and Dendrimer-Coated Magnetic Nanoparticles as

Versatile Supports for Catalysts, Scavengers, and Reagents. *Acc. Chem. Res.* **2014**, 47, 667–677, doi:10.1021/ar400236y.

71. Pourjavadi, A.; Hosseini, S. H.; Hosseini, S. T.; Aghayeemeibody, S. A. Magnetic nanoparticles coated by acidic functionalized poly(amidoamine) dendrimer: Effective acidic organocatalyst. *Catal. Commun.* **2012**, 28, 86–89, doi:https://doi.org/10.1016/j.catcom.2012.08.018.

72. Wang, Y.; Su, P.; Wang, S.; Wu, J.; Huang, J.; Yang, Y. Dendrimer modified magnetic nanoparticles for immobilized BSA: a novel chiral magnetic nano-selector for direct separation of racemates. *J. Mater. Chem. B* **2013**, 1, 5028–5035, doi:10.1039/C3TB20889C.

73. Mochalin, K. T. and V. N. Biomedical applications of nanodiamond (Review). *Nanotechnology* **2017**, 28, 252001.

74. Zhu, Y.; Li, J.; Li, W.; Zhang, Y.; Yang, X.; Chen, N.; Sun, Y.; Zhao, Y.; Fan, C.; Huang, Q. The biocompatibility of nanodiamonds and their application in drug delivery systems. *Theranostics* **2012**, 2, 302–312, doi:10.7150/thno.3627.

75. Laube, C.; Oeckinghaus, T.; Lehnert, J.; Griebel, J.; Knolle, W.; Denisenko, A.; Kahnt, A.; Meijer, J.; Wrachtrup, J.; Abel, B. Controlling the fluorescence properties of nitrogen vacancy centers in nanodiamonds. *Nanoscale* **2019**, doi:10.1039/C8NR07828A.

76. Shenderova, N. N. and M. d'Amora and N. P. and A. M. P. and N. F. and M. D. T. and I. V. and P. R. and B. G. and J. M. R. and S. G. and O. Fluorescent single-digit detonation nanodiamond for biomedical applications. *Methods Appl. Fluoresc.* **2018**, 6, 35010.

77. Ju, K.-Y.; Lee, Y.; Lee, S.; Park, S. B.; Lee, J.-K. Bioinspired Polymerization of Dopamine to Generate Melanin-Like Nanoparticles Having an Excellent Free-Radical-Scavenging Property. *Biomacromolecules* **2011**, 12, 625–632, doi:10.1021/bm101281b.

78. Dreyer, D. R.; Miller, D. J.; Freeman, B. D.; Paul, D. R.; Bielawski, C. W. Elucidating the Structure of Poly(dopamine). *Langmuir* **2012**, 28, 6428–6435, doi:10.1021/la204831b.

Radosław Mrówczyński