

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Patrycji Bernat

Katedra i Zakład
Biofarmacji

Wydział
Farmaceutyczny

z Oddziałem
Medycyny
Laboratoryjnej

zatytułowanej

**„Wysokociśnieniowa metodologia syntezy ultraczystych materiałów polimerowych
do zastosowań biomedycznych i farmaceutycznych”**

41-200, Sosnowiec
ul. Jedności 8
www.sum.edu.pl

Kierownik
Katedry
prof. dr hab. n.farm

Janusz Kasperczyk
tel.: (+ 48 32) 3641249

SEKRETARIAT

tel.: (+ 48 32) 364 12 67

Badania przedstawione w rozprawie doktorskiej mgr inż. Patrycji Bernat pt. **„Wysokociśnieniowa metodologia syntezy ultraczystych materiałów polimerowych do zastosowań biomedycznych i farmaceutycznych”** zostały wykonane w Uniwersytecie Śląskim na Wydziale Nauk Ścisłych i Technicznych w Instytucie Chemii pod kierunkiem promotora Prof. dr hab. Kamila Kamińskiego oraz promotora pomocniczego Dr inż. Pauliny Maksym. Rozprawa dotyczy badań wpływu wysokiego ciśnienia na proces polimeryzacji wybranych monomerów cyklicznych i winylowych.

Rozprawa składa się z czterech oryginalnych artykułów opublikowanych w dobrych czasopismach z listy filadelfijskiej w *Polymer* IF4.43, w *RSC Advances* IF3.36 - dwa artykuły oraz w *Journal of Molecular Liquids* IF6.165. W *Polymer* oraz w jednej pracy w *RSC Advances* Pani Patrycja Bernat jest ich pierwszym autorem. Autorem korespondencyjnym wszystkich prac jest promotor pomocniczy Pani Dr Paulina Maksym.



HR EXCELLENCE IN RESEA

Wprowadzeniem do lektury w/w publikacji jest 10-stronicowy wstęp, w którym przedstawiono podstawowe informacje dotyczące rodzajów polimeryzacji ze szczególnym uwzględnieniem polimeryzacji z otwarciem pierścienia ROP oraz polimeryzacji związków winylowych. Dokonany zakres informacji podyktowany był wybranymi obiektami badań: polimeryzacja γ butyrolaktonu (GBL) i winylopirolidonu (VP). Doktorantka dokonała krótkiej charakterystyki alifatycznych poliestrów, popularnych biodegradowalnych materiałów obecnie stosowanych w medycynie i farmacji jako resorbowalne implanty, pokrycia stentów naczyniowych i nośniki substancji czynnych farmaceutycznie. Z tej grupy polimerów opisuje polilaktydy i jego kopolimery, poliglikolid i jego kopolimery oraz polikaprolakton. Znalazło się w tym miejscu nieścisłe sformułowanie, że w/w poliestry cyt. „wykazują najlepsze własności biodegradacyjne,

z uwagi na występowanie w ich łańcuchu głównym wiązań podatnych na atak enzymów hydrolitycznych". W łańcuchu występują wiązania estrowe, które jak wiadomo mogą ulegać hydrolizie i w przypadku alifatycznych estrów mechanizm degradacji hydrolitycznej jest dominujący. Opisuje również dokładniej trudnopolimeryzujący monomer γ -butyrolakton i dotychczasowe doniesienia o właściwościach poli(γ -butyrolaktonu) podkreślając jego w pełni biokompatybilność, cytując artykuł przeglądowy „Chemosynthesis of bioresorbable poly(GBL) by ring-opening polymerization: a review”. Ale warto wspomnieć o toksycznym działaniu kwasu 4-hydroksymaśłowego, produktu degradacji PGBL, co również przedstawiono w w/w artykule. Dziwi mnie również stwierdzenie, że PGBL charakteryzuje się najkrótszym czasem całkowitej biodegradacji wśród alifatycznych poliestrów (od 8 do 52 tygodni). Kopolimery PLGA degradujące i uwalniające substancję czynną do 4, 8, 12 tygodni są obecnie stosowane w wielu preparatach farmaceutycznych. Podobnie nici chirurgiczne na bazie poliestrów alifatycznych dlatego określenie PGBL jako polimeru o najkrótszym czasie degradacji jest nieuzasadnione.

W opisie polimeryzacji winylopirolidonu doktorantka krótko przedstawiła różne metody syntezy tego polimeru, ze szczególnym uwzględnieniem rodzajów polimeryzacji rodnikowej, które zbiorczo zaprezentowała na schemacie. Mimo wielu stosowanych metod polimeryzacji w dalszym ciągu trudno uzyskać PVP o wysokich średnich masach molowych i małej dyspersyjności. Poszukuje się oprócz stosowania różnych inicjatorów polimeryzacji koordynacyjnej również czynników zewnętrznych umożliwiających przebieg reakcji polimeryzacji i otrzymanie regularnych łańcuchów polimerowych o określonej taktyczności. Między innymi takim czynnikiem jest wysokie ciśnienie, które zastosowała doktorantka w swojej pracy.

Na końcu wstępu doktorantka w czterech punktach przedstawiła główny cel pracy doktorskiej, syntezę polimerów do zastosowań biomedycznych poli(γ -butyrolaktonu) i poliwinylpirolidonu z udziałem nietoksycznych organokatalizatorów i kontroli przebiegu reakcji polimeryzacji poprzez zastosowanie wysokiego ciśnienia i jego wpływu na właściwości fizykochemiczne otrzymanych polimerów.

W dalszej części rozprawy doktorantka omawia na 20 stronach otrzymane wyniki badań opublikowane w 4 w/w artykułach naukowych, których kopie są dołączone do rozprawy. Przed każdą kopią zamieszczono oświadczenie doktorantki o roli jaką pełniła w realizacji prac

badawczych i przygotowaniu manuskryptu. Podobne oświadczenia złożyli wszyscy współautorzy w/w artykułów.

W artykule pierwszym „The effect of high-pressure on organocatalyzed ROP of γ -butyrolactone” opisano polimeryzację γ -butyrolaktonu wobec jednego z triazabicyklodekkenów (TBD) przy zastosowaniu wysokiego ciśnienia mającego na celu przełamanie bariery termodynamicznej i niskiego naprężenia pierścienia. Zastosowanie szerokopasmowej spektroskopii dielektrycznej umożliwiło wyznaczenie optymalnych warunków termodynamicznych do przeprowadzenia szybkiej, kontrolowanej polimeryzacji monomeru przy jednoczesnym zablokowaniu niepożądanego procesu krystalizacji monomeru.

Wykazano, że poprzez zmianę temperatury i ciśnienia można kontrolować średnie masy molowe otrzymywanego polimeru, dyspersję łańcuchów polimerowych oraz szybkość i wydajność reakcji. Zastosowanie technik MALDI-TOF, GPC i DSC wykazało wzrost produktów cyklicznych wraz ze wzrostem czasu reakcji, wzrostem ilości katalizatora oraz spadkiem temperatury. Przeprowadzono badania reologiczne i mikroskopowe. Powstawanie frakcji cyklicznych ma wpływ na własności reologiczne otrzymywanych polimerów i zdolności do tworzenia filmu. Otrzymane produkty scharakteryzowano przy pomocy wysokorozdzielczej spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego H-1 i C-13 oraz spektroskopią w podczerwieni FT-IR. Badano adhezję komórek na otrzymanym materiale oraz przeprowadzono testy cytotoksyczności PGBL wobec normalnych linii komórkowych ludzkich fibroblastów i osteoblastów. Jednakże o stwierdzeniu biokompatybilności otrzymywanych materiałów polimerowych decydują wymagane testy w zależności od czasu i miejsca kontaktu biomateriału z tkankami ludzkimi zgodnie z normą ISO, dlatego pojedyncze testy cytotoksyczności nie przesądzają o biokompatybilności danego biomateriału.

W artykule drugim „High pressure as a novel tool for the cationic ROP of γ -butyrolactone” opisano wspomaganą wysokim ciśnieniem kationową polimeryzację GBL katalizowaną kwasami trimetanosulfonowym (TfOH) lub p-toluenosulfonowym (PTSA). Udowodniono powstawanie łańcuchów polimerowych PGBL o masach molowych rzędu kilku tysięcy wykorzystując wysokosprawną chromatografię żelową GPC, różnicową kalorymetrię skaningową DSC oraz spektroskopię NMR H-1 i C13. Zauważono paraboliczną zależność masy molowej MW i wydajności procesu polimeryzacji od zmian temperatury i ciśnienia w warunkach odpowiednio izobarycznych i izotermicznych oraz wyznaczono optymalne warunki

przewodzenia reakcji polimeryzacji pozwalające skrócić czas reakcji polimeryzacji oraz zwiększyć wydajność tej reakcji. Pomiary MALDI-TOF wykazały obecność frakcji cyklicznych w produktach polimeryzacji i ich udział zależał od rodzaju kwasu zastosowanego jako inicjatora.

W artykule trzecim „Pressure-assisted solvent-free catalyst-free production of well-defined poly(1-vinyl-2-pyrrolidone) for biomedical applications” przedstawiono metodę otrzymywania w masie PVP z dodatkiem inicjatora rodnikowego azobisisobutyronitrylu AIBN oraz wysokiego ciśnienia. Poprzez odpowiedni dobór warunków termodynamicznych temperatury i ciśnienia oraz zmienną zawartość termoinicjatora rodnikowego uzyskano I rzędową kinetykę reakcji polimeryzacji. Umożliwiło to uzyskanie łańcuchów polimerowych o wysokich masach molowych, nawet do 280 tys. w krótkim czasie. Porównano rozpuszczalność oraz właściwości kalorymetryczne i mechaniczne otrzymanych PVP z PVP komercyjnymi o różnych masach molowych. Stwierdzono wpływ metody otrzymywania PVP na jego właściwości fizykochemiczne, na temperaturę zeszklenia (T_g) i rozpuszczalność. W tym miejscu brakuje mi analizy mikrostruktury PVP przy pomocy spektroskopii 1H i ^{13}C NMR i porównania ewentualnych różnic w strukturach łańcuchów PVP komercyjnych z PVP otrzymanym metodą „wysokociśnieniową” bez rozpuszczalnika.

W artykule 4 „Synthetic strategy matters: The study of a different kind of PVP as micellar vehicles of metronidazole” przedstawiono możliwość zastosowania otrzymywanych metodą wysokociśnieniową bez rozpuszczalnika liniowych i gwiazdzistych PVP do formulacji leków w postaci miceli polimerowych. Dla porównania uzyskano również micle z lekiem (metronidazol – MTZ) z poliwinylpirolidonu komercyjnego. Badano wpływ różnic struktury PVP na amorficzność metronidazolu, enkapsulację, stabilność struktur micelarnych i profil uwalniania leku z nośnika polimerowego. Badania dyfrakcji rentgenowskiej oraz pomiary kalorymetryczne DSC wykazały, że MTZ krystalizuje we wszystkich badanych układach obniżając temperaturę zeszklenia. Transmisyjna mikroskopia elektronowa i analiza dynamicznego rozpraszania światła wykazały możliwość formowania sferycznych, regularnych nanonośników. Wszystkie badane DDS oparte na PVP wykazały duży „burst effect” sięgający do 60% uwolnionego leku w ciągu pierwszych pięciu godzin.

Rozprawę kończy krótkie podsumowanie uzyskanych rezultatów badań oraz 66 pozycji bibliografii.

Podsumowując, chcę podkreślić, iż przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Roksany Bernat prezentuje wysoki poziom merytoryczny. Stanowi istotny wkład w badaniach nad polimeryzacją monomerów „trudno” polimeryzujących z przyczyn termodynamicznych. Otwiera nowe możliwości w otrzymywaniu materiałów polimerowych o specjalnych własnościach poprzez zastosowanie wysokiego ciśnienia i odpowiednie temperatury jako parametrów umożliwiającego sterowanie strukturą otrzymywanych łańcuchów polimerowych i tym samym ich własnościami fizykochemicznymi. Przedstawiony zakres badań i zastosowane metody badawcze doprowadziły do założonego celu. Rozprawa doktorska reprezentuje wysoki poziom z uwagi na rangę rozwiązane problemu badawczego, jak i zakres przeprowadzonych badań, wyróżnia się oryginalnością zastosowanych metod i narzędzi badawczych i ma walory zarówno poznawcze jak i użytkowe. Rozprawa doktorska spełnia warunek rozwiązania oryginalnego problemu naukowego. W rozprawie doktorantka wykazała ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie nauk chemicznych oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Ponadto Pani mgr Roksana Bernat wykazała w rozprawie doktorskiej umiejętność prowadzenia prac badawczych oraz poprawnego i przekonującego przedstawiania uzyskanych przez siebie wyników badań. Zakres rozważań rozprawy kwalifikuje ją do dziedziny nauk ścisłych i przyrodniczych, dyscypliny nauk chemicznych według klasyfikacji dziedzin i dyscyplin określonej w rozporządzeniu z dnia 20 września 2018 r. (Dz. U. z 2018 r. poz. 1818). Rozprawa spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz.U. z 2016 r. poz.882 ze zm. Dz.U. z 2016 r. poz. 1311) i z pełnym przekonaniem wnoszę o dopuszczenie jej do publicznej obrony.

