



Zachodniopomorski  
Uniwersytet  
Technologiczny  
w Szczecinie



Katedra  
Inżynierii Polimerów  
i Biomateriałów

---

Al. Piastów 45, 71-311 Szczecin

**prof. dr hab. inż. Mirosława El Fray**

tel: (+48) 91 499 48 28

fax: (+48) 91 499 40 98

Email: mirfray@zut.edu.pl

---

**Ocena pracy doktorskiej Pani mgr inż. Roksany Bernat**

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

zrealizowanej pod kierunkiem promotora,  
prof. dr hab. Kamila Kamińskiego  
oraz promotora pomocniczego,  
dr inż. Pauliny Maksym

Recenzja została opracowana na podstawie uchwały Rady Naukowej Instytutu Chemii  
Uniwersytetu Śląskiego z dnia 8 lutego 2022.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska ma formę opracowania zawierającego omówienie wyników zawartych w 4 powiązanych ze sobą tematycznie artykułach naukowych zgodnie z art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r oraz kilku towarzyszących rozdziałów zawierających treści artykułów stanowiących podstawę rozprawy, oświadczenia współautorów, podsumowanie i bibliografię. Opracowanie składa się z 6 rozdziałów poprzedzonych wstępem zawierającym podstawy literaturowe dotyczące procesów polimeryzacji z otwarciem pierścienia i polimeryzacji wolnorodnikowej z wykazem publikacji wchodzących w skład powiązanych ze sobą tematycznie artykułów oraz wykazu pozostałych 5 publikacji i wystąpień konferencyjnych. Całość opracowania obejmuje 119 stron. Ocenę merytoryczną i naukową pracy doktorskiej pragnę przedstawić w następujących punktach.

1. Aktualność tematu
2. Elementy nowości w pracy
3. Analiza doboru technik eksperymentalnych i metodyk badawczych
4. Uwagi dyskusyjne
5. Wnioski końcowe

### **Aktualność tematu pracy**

Wyzwania współczesnego świata i oczekiwania społeczeństwa coraz dłuższego życia spowodowały gwałtowny rozwój technik medycznych i przyczyniły się do opracowania wielu nowoczesnych materiałów, głównie polimerów, które znalazły zastosowanie jako elementy aparatury medycznej, nośniki leków czy implanty. Stosowanie materiałów polimerowych w bezpośrednim kontakcie z tkankami człowieka stawia szczególne wymagania co do ich nietoksyczności, specyficznej funkcjonalności czy braku oddziaływania z tkankami produktów ich rozpadu. Dlatego kluczową rolę w opracowaniu nowych materiałów polimerowych do zastosowań medycznych, a tym samym skutecznych rozwiązań przekładających się na praktykę kliniczną, odgrywają nie tylko czyste i biogodne surowce (monomery) oraz układy katalizujące/inicjujące reakcję, ale również metody ich wytwarzania. Dlatego też stosowanie procesów, które pozwalają na pełną kontrolę architektury polimeru, topologii, morfologii i funkcyjności łańcuchów polimerowych jest kierunkiem niezwykle ważnym w rozwoju nowych polimerów, projektowanych „na miarę” i dedykowanych do konkretnych zastosowań medycznych. Wprowadzenie dodatkowego czynnika, jakim oprócz wyżej wspomnianych surowców jest wysokie ciśnienie – czynnik znacząco przyspieszający i kontrolujący reakcję – powinien znacząco wpłynąć na uzyskanie makrocząsteczek o wyższych masach cząsteczkowych przy jednoczesnym wyeliminowaniu często szkodliwych inicjatorów i/lub katalizatorów.

Doktorantka, na podstawie dokonanego przeglądu literatury i zamieszczonego w pracy wprowadzenia, które zostało bardzo dobrze zredagowane i które świadczy, że Doktorantka porusza się ze swobodą w tematyce chemii polimerów, zajęła się badaniami wpływu podwyższonego ciśnienia na przebieg procesu polimeryzacji monomerów cyklicznych i winylowych oraz na parametry i właściwości fizykochemiczne otrzymanych polimerów. Szczególną uwagę Doktorantka zwróciła na trudno polimeryzujący  $\gamma$ -butyrolakton będący prekursorem poli( $\gamma$ -butyrolaktonu) oraz na tzw. „mniej aktywowany” 1-winylo-2-pirolidon jako prekursor poli(winylo pirolidonu). Tym samym, przedmiotem badań Doktorantki było zastosowanie wysokiego ciśnienia do procesów różniących się mechanizmem polireakcji, tj. polimeryzacji z otwarciem pierścienia oraz polimeryzacji wolnorodnikowej.

Głównym celem pracy było zbadanie wpływu jednoczesnego stosowania „wewnętrznych” (klasycznych katalizatorów) i „zewnętrznych” (wysokiego ciśnienia) czynników katalizujących na reakcje polimeryzacji biokompatybilnych i/lub biodegradowalnych polimerów do zastosowań biomedycznych. Celem prac Doktorantki było również wyjaśnienie wpływu podwyższonego ciśnienia na przebieg procesu polimeryzacji z otwarciem pierścienia na strukturę i właściwości otrzymywanych

makrocząsteczek oraz zbadanie kinetyki procesu polimeryzacji wolnorodnikowej mniej aktywowanych polimerów. Te cele, o charakterze poznawczym zostały rozszerzone o cel użyteczny, jakim było zbadanie wpływu topologii i funkcyjności tak wytworzonych makrocząsteczek na zdolność do tworzenia struktur micelarnych, a następnie uwalniania substancji aktywnej z matrycy polimerowej. Aktualność tematyki pracy, ze względu na wartości poznawcze i potencjalne wykorzystanie badanych materiałów polimerowych w medycynie, jest bezdyskusyjna.

### Elementy nowości w pracy

Projektowanie polimerów o ściśle zdefiniowanych właściwościach i wykorzystanie nietoksycznych surowców przyczynia się do ciągłego rozszerzania palety produktów biomedycznych, w tym skutecznych nośników leków. Jednak ograniczenie stosowanych w praktyce klinicznej polimerów głównie do poli(laktydu) i jego kopolimerów stanowi istotne wyzwanie dla rozwoju nowych nietoksycznych polimerów. Jednym z takich materiałów jest poli( $\gamma$ -butyrolakton) będący analogiem strukturalnym poli(hydroksymaślanu). Jednak wytwarzanie tego polimeru z monomeru jakim jest cykliczny  $\gamma$ -butyrolakton jest procesem trudnym, a reakcja polimeryzacji z otwarciem pierścienia jest procesem niekorzystnym termodynamicznie i tym samym posiadającym liczne ograniczenia (m.in. wymaga stosowania toksycznych inicjatorów/katalizatorów). Dlatego też, w pracy opublikowanej w *Polymer* (2021), Doktorantka przeprowadziła badania nad dobozem optymalnych warunków termodynamicznych ( $T$ ,  $p$ ) dla procesu reakcji polimeryzacji z otwarciem pierścienia  $\gamma$ -butyrolaktonu. Wykazała, że dzięki zastosowaniu podwyższonego ciśnienia w zakresie 75-250 MPa możliwe jest otrzymanie dobrze zdefiniowanego poli( $\gamma$ -butyrolaktonu) przy wysokich wydajnościach i krótkim czasie (poniżej 1 godziny), co było niemożliwe w przypadku stosowania ciśnienia atmosferycznego. Co istotne, wytworzone polimery charakteryzowały się małą dyspersyjnością mas cząsteczkowych (1,12-1,89) przy umiarkowanych absolutnych masach cząsteczkowych wynoszących do 30 kg/mol. Doktorantka szczegółowo wyjaśniła korelację pomiędzy strukturą i topologią otrzymanych makrocząsteczek a właściwościami reologicznymi i mechanicznymi polimerów. Istotnym osiągnięciem Doktorantki było również wykazanie braku cytotoksyczności fibroblastów i osteoblastów w testach bezpośredniego kontaktu *in vitro*.

Ważnym elementem nowości prowadzonych przez Doktorantkę badań było wykazanie synergicznego efektu równoczesnego zastosowania wysokiego ciśnienia i katalizatora w postaci kwasu organicznego (publikacja w *RSC Advances*, 2021) w syntezie poli( $\gamma$ -butyrolaktonu), czego efektem było otrzymanie dobrze zdefiniowanych polimerów o małych/umiarkowanych dyspersyjnościach (1,05-1,46) oraz  $M_n$  do ok. 10 kg/mol przy wydajnościach do 60%. Wykazano również brak cytotoksyczności *in vitro* wobec mysich fibroblastów, choć w przypadku jednej z próbek, wynik przeżywalności komórek na poziomie 50% może budzić wątpliwości.

Doktorantka w swoich badaniach zajęła się również opracowaniem sposobu syntezy wysokociśnieniowej poli(winylopirolidonu) z zastosowaniem tylko monomeru i termoinicjatora (AIBN) (publikacja w *RSC Advances*, 2020). Autorka wykazała, że zaproponowane przez nią rozwiązanie jest szybkie, wysoce wydajne i przyjazne dla środowiska ze względu na wyeliminowanie rozpuszczalnika. Zaproponowane warunki

syntezy pozwoliły Doktorantce wyeliminować/zminimalizować występowanie reakcji ubocznych (np. przeniesienia łańcucha) i dwucząsteczkowej terminacji. Doktorantka otrzymała polimery w bardzo krótkim czasie (ok. 30 min), o  $M_n$  do 280 kg/mol i małej/umiarkowanej dyspersyjności (1,27-1,45). Istotnym osiągnięciem było wyznaczenie kinetyki pseudo-pierwszego rzędu dla reakcji polimeryzacji wolnorodnikowej winylopirolidonu przy różnych stężeniach AIBN. Ponadto, Doktorantka wykazała, że polimeryzacja winylopirolidonu w masie prowadzi do otrzymania polimerów o znacznie niższych wartościach temperatury zeszklenia,  $T_g$  w stosunku do materiałów otrzymywanych metodą roztworową oraz że otrzymane produkty są rozpuszczalne nie tylko w wodzie, ale i w rozpuszczalnikach organicznych (acetonie, toluenie i ksylenie).

Bogaty materiał doświadczalny pozwolił Doktorantce również na zbadanie możliwości wykorzystania zsyntezowanych polimerów o zróżnicowanej topologii łańcuchów w zastosowaniach biomedycznych jako nośniki leków (publikacja w *Journal of Molecular Liquids*, 2021). Doktorantka opracowała sposób enkapsulacji metronidazolu w wytworzonych z polimeru strukturach micelarnych, zbadała efektywność enkapsulacji, a następnie wyznaczyła profile uwalniania leku. Wykazała, że istnieje ścisła zależność między topologią makrocząsteczek PVP (liniowych i gwiazdzystych) a zdolnością do agregacji struktur micelarnych, parametrami związanymi z załadowaniem leku oraz profilami i modelami kinetycznymi uwalniania leku. Uzyskane wyniki mają dużą wartość poznawczą przy wskazaniu konkretnego kierunku zastosowania zsyntezowanych nowatorską metodą polimerów PVP w kontrolowanym uwalnianiu leków.

### **Analiza doboru technik eksperymentalnych i metodyk badawczych**

Doktorantka zastosowała szereg nowoczesnych metod badawczych i analitycznych do scharakteryzowania struktury i właściwości zsyntezowanych materiałów polimerowych. Umiejętne połączenie technik analitycznych, spektroskopowych, mikroskopowych, reologicznych, kalorymetrycznych i mikroskopowych pozwoliło Doktorantce scharakteryzować zsyntezowane materiały polimerowe oraz przeprowadzić szereg badań, których celem było wyjaśnienie zależności pomiędzy strukturą i topologią makrocząsteczek a właściwościami termicznymi czy mechanicznymi. Zastosowanie nowoczesnych metod polimeryzacji wspomaganych wysokim ciśnieniem z umiejętnym doбором technik badawczych wskazują na bardzo dobre poruszanie się Doktorantki w przedmiocie rozprawy. Co więcej, w celu dokonania weryfikacji założeń możliwości aplikacyjnych zsyntezowanych materiałów polimerowych, Doktorantka przeprowadziła testy cytotoksyczności wobec wybranych linii komórkowych oraz przeprowadziła badania nad enkapsulacją i uwalnianiem modelowego leku, jakim był metronidazol.

Podsumowując, należy stwierdzić, że zastosowane techniki eksperymentalne i metody badawcze zostały dobrane w sposób trafny i odzwierciedlający bogaty, eksperymentatorski charakter pracy doktorskiej.

## Uwagi dyskusyjne

Praca doktorska została przedstawiona w postaci zbioru czterech opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych zgodnie z art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. Analiza opracowania – przewodnika po publikacjach skłania mnie do refleksji, że jest ona bardzo wartościowa i w pełni odzwierciedla bogactwo materiału doświadczalnego zgromadzonego w pracach naukowych, w których Doktorantka jest współautorem. W dwóch z czterech prac Doktorantka jest pierwszym współautorem, a wysoki współczynnik oddziaływania czasopism (IF od 3,361 po 4,430 i 6,165) świadczy o wadze podjętej w doktoracie tematyki badawczej. Postawione w pracy cele badawcze zostały w pełni zrealizowane. Na uwagę zasługuje staranne opracowanie przewodnika wskazujące na istotne znaczenie zebranych wyników. Doktorantka szczegółowo określiła swój udział w poszczególnych publikacjach wskazując na znaczący wkład w przeprowadzenie eksperymentów, analizę i interpretację wyników, a przede wszystkim przygotowanie manuskryptów do publikacji. Udział Doktorantki w tych pracach był więc dominujący.

Podsumowując stwierdzam, że sposób przedstawienia osiągnięć w postaci zwięzłego opracowania odnoszącego się do zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych jest wyróżniający, podobnie jak wykonanie obszernego planu badawczego i opublikowanie wyników w renomowanych czasopismach, w wieloautorskich zespołach. Ważne jest, że w dwóch na cztery przedstawione prace, Doktorantka jest pierwszym współautorem. Staranne opracowanie obszernego materiału nie pozwoliło Doktorantce uniknąć wyciągnięcia zbyt daleko idących wniosków, jak chociażby interpretacja wysokiej biouzgodności *in vitro* na podstawie 50% proliferacji komórek. Czy taka interpretacja jest uprawniona i kiedy można mówić o braku efektu cytotoksycznego badanych materiałów?

Przedstawiona uwaga ma charakter dyskusyjny i prosiłabym, aby Doktorantka odniosła się do niej podczas publicznej obrony. Chcę podkreślić, że ta drobna uwaga nie umniejsza rangi dokonanych osiągnięć, które oceniam bardzo wysoko.

## Wnioski końcowe

Doktorantka zrealizowała bardzo obszerny program badań eksperymentalnych, uzyskując interesujące wyniki o niepodważalnych znamionach nowości naukowej. Praca wnosi cenny wkład w aspekty poznawcze i użytkowe dotyczące zagadnień z obszaru nauk chemicznych, a zwłaszcza nowych metod polimeryzacji monomerów cyklicznych i winylowych w obecności podwyższonego ciśnienia, w kierunku otrzymywania czystych i dobrze zdefiniowanych makrocząsteczek. Doktorantka wykazała, że dzięki zastosowaniu podwyższonego ciśnienia możliwe jest prowadzenie polimeryzacji z otwarciem pierścienia trudno polimeryzujących monomerów cyklicznych oraz polimeryzacji wolnorodnikowej mniej aktywowanych monomerów. Wykazała również, że otrzymane w takich warunkach polimery poli( $\gamma$ -butyrolaktonu) i poli(winylopirolidonu) wykazują biouzgodność *in vitro* w odniesieniu do wybranych linii komórkowych, a ich kontrolowana budowa chemiczna, topologia łańcucha i biodegradacja są ważnymi czynnikami predysponującymi je do zastosowań medycznych jako nośniki leków.

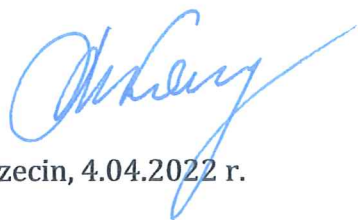


Na podkreślenie zasługuje fakt, że oprócz czterech prac będących podstawą dysertacji doktorskiej, Kandydatka do stopnia doktora jest współautorką pięciu innych artykułów, a także jednego patentu, na wdrożenie którego została podpisana umowa licencyjna z podmiotem gospodarczym.

Biorąc pod uwagę osiągnięte wyniki, stwierdzam iż przedłożona do recenzji praca doktorska mgr inż. Roksany Bernat spełnia warunki przewidziane ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (art. 192 ust. 2, Dz.U. poz. 1668, z późn. zm.) oraz art. 180 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. poz. 1669, z późn. zm.).

Dlatego wnoszę o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr inż. Roksany Bernat do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz publicznej obrony.

Ponadto, biorąc pod uwagę (i) wnikliwy sposób przedstawienia i realizacji głównych tez pracy doktorskiej, (ii) wysoki poziom merytoryczny dyskusji zawartej w przewodniku do publikacji, (iii) wysoką jakość opublikowanych prac, które przeszły wnikliwy proces recenzji i w których Doktorantka opublikowała wyniki z przeprowadzonych badań (sumaryczny IF czasopism 17,317), (iv) bogactwo metodyczne opracowanych procesów syntezy makrocząsteczek, (v) bogactwo różnorodnych i adekwatnych do zakresu badań narzędzi badawczych oraz (vi) możliwości praktycznego wykorzystania uzyskanych nowych, dobrze zdefiniowanych i biozgodnych polimerów jako nośniki leków, wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr inż. Roksany Bernat.



Szczecin, 4.04.2022 r.