

Zabrze, 13 czerwca 2022 r.

Dr hab. inż. Agnieszka Kowalczyk, prof. CMPW PAN
Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych
Polskiej Akademii Nauk
M. Curie-Skłodowskiej 34
41-819 Zabrze

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Marii Zatorskiej-Płachty

pt.: „Zamykanie substancji bioaktywnych w mikro- i nanostrukturach polimerowych”

Przedłożona do recenzji praca doktorska pani mgr Marii Zatorskiej-Płachty pt.: „Zamykanie substancji bioaktywnych w mikro- i nanostrukturach polimerowych” przygotowana została w Zakładzie Chemii Fizycznej i Elektrochemii na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, pod kierunkiem dr hab. Mariusza Kępczyńskiego, prof. UJ. Praca obejmuje badania nad czynnikami mającymi wpływ na efektywne enkapsulowanie substancji małowcząsteczkowych w nośnikach polimerowych, utworzonych z różnego typu amfifilowych kopolimerów blokowych, polielektrolitów oraz homopolimerów o charakterze hydrofobowym.

W obszernej, liczącej 174 strony rozprawie doktorskiej, oprócz wprowadzenia w tematykę badań, celu pracy, wykazu skrótów, streszczeń w języku polskim i angielskim, podsumowania i bibliografii odnoszącej się do 214 pozycji literaturowych, należy wyszczególnić dwa główne rozdziały. Pierwszy z nich obejmuje wstęp teoretyczny (25 stron) oraz rozbudowaną, składającą się z czterech podrozdziałów część eksperymentalną (100 stron) .

Założenia i cel pracy zostały jasno sformułowane, pozwalając czytelnikowi w prosty sposób zapoznać się z tematyką pracy. We wprowadzeniu Autorka wnikliwie omawia zagadnienia badawcze stanowiące podstawę podjętej tematyki, uzasadniając tym samym potrzebę przeprowadzenia badań. Informacje zawarte w części teoretycznej pracy zawierają omówienie nanostruktur i mikrostruktur polimerowych stosowanych do kontrolowanego dostarczania leków, w tym między

innymi układów micelarnych, polimerosomów i mikrosfer polimerowych, ze szczególnym uwzględnieniem sposobu ich otrzymywania i możliwości zastosowań. Autorka prezentuje również parametry decydujące o powinowactwie chemicznym i efektywności enkapsulacji substancji bioaktywnej, którą można „zamknąć” w nośniku polimerowym. Należy jednak zauważyć, że wprowadzający do pracy rozdział pierwszy – dotyczący polimerów i ich zastosowań jest bardzo ogólny i stanowi popularnonaukowy opis, który tak naprawdę niewiele wnosi do tematu rozprawy. Ciężko na trzech stronach opisać całościowo chemię polimerów i pełnię zastosowań tych makrocząsteczek we wszystkich dziedzinach. Część teoretyczną kończy rozdział poświęcony właściwościom substancji terapeutycznych, które zostały wykorzystane w pracy doktorskiej.

Najważniejszy rozdział, dotyczący wyników prac eksperymentalnych, podzielony jest na tematycznie odrębne podrozdziały dotyczące badań nad określonym typem nano- i mikrostruktur polimerowych. Każdy z podrozdziałów zawiera odpowiedni wstęp, opis stosowanych materiałów i analiz, opis wyników i wnioski. W efekcie w ramach tych części przedstawiona praca jest bardzo uporządkowana i przejrzysta.

Temat podjętych przez Autorkę badań jest bardzo interesujący. Zagadnienia dotyczące wykorzystania różnego typu liniowych makrocząsteczek do budowy nano – i mikrokontenerów zdolnych do transportu i uwalniania substancji biologicznie czynnych (w tym leków i proleków) wpisują się w popularny nurt projektowania i zastosowania materiałów polimerowych do rozwiązywania problemów medycznych i związanych ze zdrowiem. Badania te obecnie obejmują wiele obszarów, w tym między innymi dostarczanie leków, opracowywanie szczepionek, diagnostykę czy narzędzia do obrazowania. Niektóre z uzyskanych formułacji polimerowych zaczynają przekładać się na rentowne produkty kliniczne. Wielu badaczy zauważa jednak, że niewielkie zmiany rozmiaru i kształtu nośników polimerowych mogą znacząco wpłynąć na ich właściwości. Dlatego też precyzyjne zaprojektowanie nośnika jest niezbędne do wytworzenia materiału o docelowych funkcjach jak i skorelowania tych funkcji z określonymi właściwościami. Szczegółowa charakterystyka fizykochemiczna jak i badania określające nietoksyczność i biokompatybilność układów wykorzystywanych w zastosowaniach medycznych są również krytyczne ponieważ trzeba wiedzieć i rozumieć, co jest aplikowane do ciała ludzkiego. Należy zauważyć, że w wielu pracach zachowanie nośników polimerowych w roztworach wodnych, w tym nośników zawierających ładunek leku, rzutujące na ich potencjalne zastosowanie, jest jednak niewystarczająco wyjaśniane, a czasem wręcz pomijane.

W tym aspekcie pojawia się właśnie nowatorstwo przedstawionej pracy doktorskiej, która skupia się nie tylko na wpływie rodzaju i długości bloków kopolimerowych użytych do budowy nośników na efektywność ich załadunku ale także na analizie oddziaływań pomiędzy polimerem a

konkretnymi enkapsulowanymi substancjami. Takie wielopłaszczyznowe podejście jest w mojej ocenie niezwykle ważne.

Badania własne Autorki rozprawy, wnikliwe i szczegółowe, pozwoliły na analizę możliwych czynników wpływających na ilość substancji, która może zostać zaenkapsulowana w nano- oraz mikrostrukturach polimerowych. W tym celu substancje modelowe, w tym te o działaniu terapeutycznym (leki, enzymy, związki znakowane fluorescencyjnie) enkapsulowano w nośnikach przygotowanych z par polianionów i polikationów, ich kopolimerów z poliglikolem etylenowym oraz z amfifilowych kopolimerów blokowych na bazie polilaktydu, polistyrenu i polielektrolitów. Bardzo ciekawą częścią badań jest analiza procesu organizowania się kopolimerów w odpowiednie obiekty przeprowadzona za pomocą izotermicznej kalorymetrii titracyjnej i szczegółowa dyskusja zachodzących podczas tego procesu zjawisk. Interesującym rozszerzeniem tematyki pracy są również badania eksperymentalne i symulacje przeprowadzone techniką dynamiki molekularnej mające na celu ocenę dystrybucji kurkuminy w mikrosferach polistyrenowych i polilaktydowych.

Przedstawione w rozprawie wyniki badań zostały ujęte w sposób przejrzysty, z właściwą i rozbudowaną dyskusją prac eksperymentalnych. Język rozprawy pod względem merytorycznym, jak i stylistycznym jest również bardzo dobry.

Wyniki uzyskane w pracy zostały opublikowane w dwóch artykułach w bardzo dobrych czasopiśmie z Listy Filadelfijskiej. Ukażą się również dwie kolejne publikacje. Rezultaty badań zostały również zaprezentowane na 14 konferencjach o zasięgu międzynarodowym i krajowym. O innowacyjności i nowatorstwie świadczy również fakt dofinansowania prowadzonych badań ze środków Narodowego Centrum Nauki (projekt OPUS 11 „Nano- i mikrostruktury polimerowe powstające w wyniku samoorganizacji kopolimerów blokowych – otrzymywanie i zastosowanie, jako nośniki substancji bioaktywnych” (DEC-2016/21/B/ST5/00250).

Podsumowując, w mojej ocenie przedstawiona rozprawa stanowi wartościowe osiągnięcie naukowe, bez wątpienia zawierające istotne elementy nowości naukowej.

Niezależnie jednak od mojego uznania dla wysokiej wartości merytorycznej pracy, z obowiązku recenzenta, chciałabym zwrócić uwagę Autorki na kilka nieprecyzyjnych fragmentów pracy oraz na kilka elementów dyskusyjnych.

Analiza oddziaływań pomiędzy enkapsulowanym lekiem a polimerami o charakterze silnie hydrofobowym, przeprowadzona w mikrostrukturach zbudowanych z homopolimerów styrenu lub laktydu wykazała, że modelowy lek - kurkumina w zależności od zastosowanego polimeru grupuje się w różny sposób w obrębie takich układów. Czy można spodziewać się takiej samej dys-

trybucji leku w układach nanostrukturalnych utworzonych przez odpowiednie kopolimery blokowe? Co może mieć wpływ na ewentualne zmiany i czy może ktoś badał podobne układy próbując potwierdzić taką zależność?

Na stronie 97 Autorka postuluje, że różnice w szybkości procesu hydrolizy poliglikolidu i polilaktydu, wykorzystywanych do budowy nośników celekoksybu mogą skutkować tym, że lek uwalnia się z różną szybkością z nanocząstek zbudowanych z tych kopolimerów (kopolimery PEG-PLGA oraz PEG-PLLA). Czy wiadomo coś więcej na temat procesu hydrolizy tych kopolimerów i czy po 20 godzinach (czasie, w którym większość leku uwalnia się z nośnika polimerowego) można zaobserwować degradację łańcuchów kopolimerów?

W części literaturowej wielu przedstawionych przykładach brakuje szczegółów dotyczących składu chemicznego opisywanych kopolimerów. Np. na stronie 29 „Opracowano micelle z enkapsulowaną doksorubicyną, (...)”, na stronie 31 „Z przedstawionej metodologii skorzystał Wang i współpracownicy do uzyskania polimerowych pęcherzyków z wykorzystaniem amfifilowego kopolimeru blokowego”. O użytych polimerach już jednak nic więcej nie wiadomo, co znacznie utrudnia czytelnikowi zrozumienie opisu zachowania takich struktur w roztworach i ich potencjalnych zastosowań.

W rozdziale 2.2.1 na str. 32, sformułowanie „polimeryzacja kopolimeru z hydrofilowego makroinicjatora i rozpuszczalnego w wodzie monomeru” powinno zostać wyjaśnione ponieważ zazwyczaj jednak nie polimeryzuje się polimerów. W jaki sposób powstał kopolimer amfifilowy, skoro z powyższego zapisu wynika jedynie, że monomer i makroinicjator były rozpuszczalne w wodzie? Również w tym przypadku brakuje szczegółowych informacji o zastosowanych do budowy tych makrocząsteczek komonomerów, co pomogłoby czytającemu we właściwym zrozumieniu opisu syntezy.

W pracy pojawiają się nieliczne błędy redakcyjne; np.: na str. 27 powinno być „parametru” zamiast „parametr” , str 77. „potencjału” zamiast „ptencjału” str. 130 „kurkumina” zamiast „kurkumnina”. Na str. 32 poli(2 (diizopropylamino) etylometakrylan)) to niewłaściwie przetłumaczona z angielskiego nazwa odpowiedniego polimetakrylanu. W bibliografii, w niektórych miejscach sposób cytowania literatury, a w szczególności nazwisk autorów jest nieujednolicony, pojawiają się publikacje z zapisem Wang, Y. et al. (pozycja nr 52) jak i z pełnym spisem autorów (np. pozycja nr 53).

Liczba przedstawionych błędów jest jednak naprawdę znikoma, szczególnie w tak obszernej pracy i nie powoduje nieporozumień merytorycznych. Wymienione przeze mnie uwagi lub mają wyłącznie charakter dyskusyjny, a zauważone drobne usterki nie wpływają na moją wysoką ocenę pracy doktorskiej.

Praca doktorska pani mgr Marii Zatorskiej-Płachty obejmuje bardzo istotne zagadnienia badawcze biorąc pod uwagę badania podstawowe, jak i ich przyszły potencjał aplikacyjny. Założone cele badawcze pracy zostały w pełni zrealizowane. Rozprawa stanowi duży wkład do stanu wiedzy na temat nośników polimerowych do zastosowań w medycynie.

Stwierdzam, że przedstawiona praca spełnia formalne wymagania stawiane przewodom doktorskim i warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2013 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i art. 179 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. - Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w odniesieniu do rozpraw doktorskich.

W związku z tym wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie pani mgr Marii Zatorskiej-Płachty do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Agnieszka Kawoluf