

Łódź, 5 lipca 2021 roku

dr hab. inż. Joanna Pietrasik, profesor uczelni
Politechnika Łódzka, Wydział Chemiczny
Instytut Technologii Polimerów i Barwników
joanna.pietrasik@p.lodz.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Justyny Odrobińskiej
pt. Projektowanie biofunkcyjnych polimerów liniowych i szczepionych z udziałem
reakcji „click” do zastosowań w terapii transdermalnej

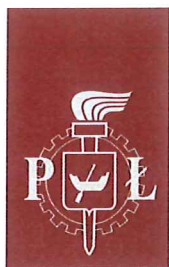
Promotor: prof. dr hab. inż. Dorota Neugebauer

Recenzja została wykonana na podstawie decyzji Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne
Politechniki Śląskiej z dnia 21 kwietnia 2021 roku.

Współczesne narzędzia do syntezy dobrze zdefiniowanych polimerów umożliwiają ich projektowanie na poziomie pojedynczej makrocząsteczki. W konsekwencji obszar zastosowań zaawansowanych materiałów polimerowych stale się poszerza. Niewątpliwie wskazać tu należy takie dziedziny jak nanotechnologia, inżynieria materiałowa, medycyna, elektronika, elektrotechnika, czy też przemysł samochodowy oraz farb i lakierów. Obserwowalny w literaturze trend dotyczący rozwoju badań w zakresie polimerowych materiałów funkcjonalnych wynika z faktu stawiania tym materiałom bardzo restrykcyjnych wymogów w często rewolucyjnych technologiach.

Niewątpliwie wynaleziona w 1995 roku polimeryzacja rodnikowa z przeniesieniem atomu, ATRP, jest obecnie jedną z najbardziej uniwersalnych kontrolowanych metod syntezy polimerów o zróżnicowanym składzie chemicznym, topologii łańcucha, czy też funkcyjności. ATRP umożliwia bowiem syntezę zarówno homopolimerów, kopolimerów, materiałów hybrydowych, sieci, żeli polimerowych czy biokoniugatów o ściśle określonej masie cząsteczkowej i niskim jej rozrzucie. Rozważając te polimery jako materiały funkcjonalne można wskazać następujące ich zastosowania, na przykład micle czy pęcherzyki polimerowe jako nośniki leków/substancji aktywnych, polimery z pamięcią kształtu, polimery odpowiadające na bodźce zewnętrzne, supramolekulane polimery, polimery przewodzące, polimery biomedyczne i inne.

Funkcjonalne materiały polimerowe wykorzystywane jako nośniki substancji aktywnych w terapii transdermalnej to interdyscyplinarne zagadnienie. Z jednej strony odpowiednio zaprojektowany nośnik polimerowy powinien zapewnić lokalnie odpowiednio wysokie stężenie substancji aktywnej dostarczonej zgodnie z odpowiednim mechanizmem na drodze dyfuzji w określonym czasie działania, z drugiej natomiast materiał ten musi wykazać się odpowiednią zawartością substancji aktywnej w samym nośniku i nie powodować żadnych podrażnień skóry, a zatem charakteryzować się



Politechnika Łódzka

Instytut Technologii Polimerów i Barwników

nietoksycznością, nieimmunogennością oraz biokompatybilnością. Wymaga to zintegrowania nie tylko wiedzy w zakresie samych materiałów polimerowych, ale również układów biologicznych, w szczególności tkanek miękkich.

W tym kontekście przedstawiona do recenzji praca Pani mgr inż. Justyny Odrobińskiej, pt. „Projektowanie biofunkcyjnych polimerów liniowych i szczepionych z udziałem reakcji „click” do zastosowań w terapii transdermalnej” wpisuje się w aktualne trendy badań dotyczące systemów dostarczania substancji aktywnych. Autorka udowadnia poprzez projektowaną syntezę dobrze zdefiniowanych polimerów o założonej architekturze makrocząsteczek otrzymanych z wykorzystaniem związków pochodzenia naturalnego użyteczność takich układów w tego typu terapii, weryfikuje również aktywność biologiczną otrzymanych polimerów.

Celem recenzowanej rozprawy było po pierwsze zsyntezowanie nowych biofunkcyjnych polimerów liniowych oraz szczepionych, które następnie organizowano w struktury micelarne oraz koniugaty. Zaprojektowane polimery otrzymywane były z wykorzystaniem polimeryzacji rodnikowej z przeniesieniem atomu ATRP oraz chemii „click”. Dalej, dokładna charakterystyka otrzymanych materiałów w kontekście enkapsulacji wybranych substancji aktywnych przeciwmarszczkowych, antyoksydacyjnych i redukujących przebarwienia, a następnie badanie procesu ich uwalniania. Dodatkowo przeprowadzono testy biologiczne z wykorzystaniem membrany imitującej sztuczną skórę. Synteza tego typu struktur polimerowych stosowanych jako nośniki substancji aktywnych jest kontynuacją prac badawczych prowadzonych w zespole prof. Neugebauer i niewątpliwie poszerza obecny stan wiedzy w zakresie syntezy, właściwości oraz potencjału aplikacyjnego badanych materiałów.

Recenzowana rozprawa to przewodnik po cyklu publikacji, na który składa się siedem spójnych tematycznie prac o charakterze eksperymentalnym. Wszystkie opublikowano w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym w latach 2019-2021. Są to prace wydane odpowiednio w *Pharmaceutics* (2 prace), *International Journal of Molecular Science* (1 praca), *Polymers* (2 prace), *eXPRESS Polymer Letters* (1 praca) oraz *Materials* (1 praca). O wysokim poziomie prac świadczą wskaźniki scjentometryczne w postaci sumarycznego współczynnika oddziaływań $IF=26,74$; punktacja MNiSW 780.

Prezentowana rozprawa mgr inż. Justyny Odrobińskiej zawiera komentarz do rozprawy na który składają się odpowiednie następujące rozdziały, 1. Wprowadzenie, 2. Polimery biofunkcyjne wykorzystywane w systemach dostarczania substancji aktywnych, 3. Reakcje „click” w syntezie nośników substancji aktywnych, 4. Status nauki w kontekście systemów dostarczania stosowanych w kosmetologii. W dalszej części Autorka przedstawiła Cel i zakres badań (rozdział 5), by następnie w kolejnym rozdziale omówić wyniki prac (rozdział 6). Całość kończy podsumowanie i wnioski (rozdział 7). Rozprawa zawiera również bibliografię, wykaz skrótów i symboli, oraz wykaz dorobku naukowego Pani mgr inż. Justyny Odrobińskiej, z wyszczególnieniem publikacji dotyczących



Politechnika Łódzka

Instytut Technologii Polimerów i Barwników

rozprawy doktorskiej. W sekcji zatytułowanej Załączniki Autorka zawarła odpowiednio streszczenie rozprawy w wersji polskiej i angielskiej, pełne teksty publikacji stanowiących podstawę recenzowanej dysertacji oraz oświadczenia współautorów.

Analiza tych oświadczeń potwierdza dominujący wkład autorski mgr inż. Justyny Odrobińskiej zarówno w prace eksperymentalne jak i edytorskie wyselekcjonowanych artykułów. Co jest bardzo istotne we wszystkich pracach stanowiących monotematyczny cykl Pani mgr inż. Justyna Odrobińska jest pierwszym autorem.

Zawarty w pracy dorobek naukowy Doktorantki wskazuje, iż jest ona współautorem czterech kolejnych publikacji, które ukazały się w czasopismach znajdujących się w wykazie JCR (sumaryczne IF=14,76), oraz sześciu, które opublikowano w czasopismach nienotowanych w bazie JCR lub jako publikacje pokonferencyjne. Ponadto jest współautorką jednego zgłoszenia patentowego, wystąpiła na siedmiu konferencjach w formie referatu ustnego, zaprezentowała 16 posterów konferencyjnych. Brała czynny udział w dwóch projektach badawczych finansowanych ze źródeł zewnętrznych, w jednym w roli kierownika (MNiSW, „Diamantowy Grant”), w drugim jako wykonawca (NCN, OPUS), oraz jednym projekcie statutowym Politechniki Śląskiej w roli kierownika. Jest laureatką licznych stypendiów i nagród, brała aktywny udział w kilku warsztatach i szkoleniach, oraz aktywnie wspierała działalność popularyzatorską Uczelni. Może pochwalić się również krótkim pobytem naukowym na uczelni za granicą (Tomas Bata University, Republika Czeska).

Jest to moim zdaniem wyróżniający się dorobek naukowy na tym etapie drogi zawodowej. Przede wszystkim odzwierciedla dojrzałość mgr inż. Justyny Odrobińskiej nie tylko jako naukowca, ale również jako dobrego organizatora zaplecza finansowego prowadzonych badań czy aktywnego członka społeczności akademickiej. Dodam, iż Pani Justyna Odrobińska uzyskała tytuł magistra w 2017 roku na Wydziale Chemicznym w Politechnice Śląskiej w Gliwicach, na kierunku Technologia chemiczna. Ponadto nie ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora.

Komentarz do rozprawy napisany jest w sposób dojrzały i zrozumiały. Dokonany przegląd literatury w tematyce polimerów biofunkcyjnych z punktu widzenia ich zastosowań w systemach dostarczania leków, poprzez liczne przykłady chemii „click” jako narzędzia do syntezy nośników substancji aktywnych w oczywisty sposób prowadzą czytelnika do obecnego stanu wiedzy, gdzie Autorka wskazuje nowe perspektywy badawcze, uzasadniając przyczyny podjęcia przedstawionej tematyki badań. Ta część pracy napisana została w mojej ocenie bez zastrzeżeń.

Dalej w części dotyczącej wyników autorka prowadzi czytelnika poprzez poszczególne publikacje stanowiące podstawę recenzowanej pracy. W komentarzu mgr inż. Justyna Odrobińska odwołuje się do 142 odnośników literaturowych, głównie z ostatniej



Politechnika Łódzka

Instytut Technologii Polimerów i Barwników

dekady. Świadczy to o dobrej znajomości aktualnego stanu wiedzy w zakresie prowadzonych badań.

Odnosząc się do poszczególnych stadiów badań w początkowym etapie Doktorantka skupiła się na modyfikacji poprzez reakcję estryfikacji retinolu i 4-n-butylrezorcynolu, wybranych substancji aktywnych, działających przeciwmarszczkowo i redukujących przebarwienia, mającą na celu wprowadzenie grup inicjujących polimeryzację ATRP. Te substancje, ze względu na swój charakter, należy traktować jako substancje o znaczeniu biologicznym. Procedurę modyfikacji, charakterystykę uzyskanych produktów, jak również ich efektywność w działaniu jako inicjatory polimeryzacji mgr inż. Justyna Odrobińska opisała w publikacjach P1-P3. Produkty modyfikacji (RETBr i 4nBREBr₂) scharakteryzowała z wykorzystaniem technik spektroskopowych ¹H NMR, ¹³C NMR oraz FTIR, jak również spektrometrii mas ESI-MS. Efektywność działania nowych „bio”inicjatorów odniosła do α -bromoizomaślanu etylu, inicjatora stosowanego w polimeryzacji metakrylanów, wskazując na podobne stopnie konwersji polimeryzowanych monomerów.

Kolejny etap prac eksperymentalnych dotyczył kopolimeryzacji metakrylanu metylu (MMA), metakrylanu 2-hydroksyetylu (HEMA) oraz metakrylanu eteru monometylowego glikolu etylenowego (MPEGMA) za pomocą polimeryzacji ATRP z wykorzystaniem otrzymanych bioinicjatorów. Otrzymano kopolimery liniowe oraz szczepione o zmiennej zawartości merów hydrofobowych. Amfifilowy charakter uzyskanych polimerów umożliwił organizację badanych materiałów do struktur micelarnych, które następnie zbadano pod kątem enkapsulacji substancji aktywnych i ich uwalniania. Jako substancje aktywne stosowano arbutynę, kwas ferulowy, witaminę C oraz witaminę E. Wyniki tych prac Pani mgr inż. Justyna Odrobińska zawarła w publikacjach P1-P3. Ogólnie stwierdzono, iż położenie w łańcuchu polimerowym biomolekuły stanowiącej inicjator wpływa na proces micelizacji oraz proces kapsułkowania substancji aktywnych. Wartość krytycznego stężenia micelizacji zależy również od zawartości frakcji hydrofobowej w kopolimerze. Zawartość frakcji hydrofobowej miała także wpływ na rozmiar otrzymanych miceli, podobnie jak długość łańcucha polimeru oraz rodzaj enkapsulowanej substancji. W przypadku procesu enkapsulacji wnioskowano, że uzależniony jest on od następujących parametrów: równowaga hydrofobowo-hydrofilowa oraz charakter substancji aktywnej. Niewątpliwie istotnym spostrzeżeniem była rola światła w procesie uwalniania substancji aktywnych.

W odniesieniu do wspomnianego zakresu badań proszę Doktorantkę o wyjaśnienie skąd wynikał założony stopień polimeryzacji w mieszaninie reakcyjnej oraz finalny stopień konwersji poszczególnych monomerów. Ponadto wnioskowano różne oddziaływania łańcucha z substancjami aktywnymi, proszę o sprecyzowanie jakiego typu są to oddziaływania. Niewątpliwie w układach rzeczywistych istotnym jest obecność innych substancji, które takowe oddziaływania mogą zaburzać.



Politechnika Łódzka

Instytut Technologii Polimerów i Barwników

Znaczna część pracy dotyczy syntezy i właściwości kopolimerów szczepionych. Wyniki eksperymentalne otrzymane w tym zakresie zostały opisane w pracach P2-P6, które dotyczą wykorzystania jako nośników substancji aktywnych struktur otrzymanych na bazie kopolimerów szczepionych, w tym heteroszczepionych. W tej części eksperymentów wykorzystano modyfikacje polimerów na drodze reakcji typu „click”. W tym celu sfunkcjonalizowano wykorzystywany do syntezy polimerów liniowych monomer, HEMA i wprowadzono do jego struktury odpowiednie grupy umożliwiające reakcje „click”; grupy alkinowe, AIHEMA. W kolejnym etapie zsyntezowano odpowiednio kopolimery AIHEMA z MMA lub MPEGMA. Do otrzymanych kopolimerów P(AIHEMA-co-MMA) oraz P(AIHEMA-co-MPEGMA) przyłączano kwas ferulowy lub kwas liponowy jako jednostki bioaktywne oraz jednostki polimerowe PEG, polikaprolakton, PCL lub polidimetylosiloksan, PDMS. Kopolimeryzację AIHEMA prowadzono w warunkach analogicznych do tych, stosowanych w przypadku HEMA, aczkolwiek uzyskane kopolimery wykazywały szerszy rozrzut masy cząsteczkowej w porównaniu do analogicznych układów z udziałem HEMA, jak również biegły wolniej. Do reakcji „click” stosowano komercyjny PEG, PCL oraz PDMS, wprowadzając uprzednio odpowiednio grupę azydkową. Stwierdzono, iż na wydajność reakcji „click” wpływ miały takie parametry strukturalne jak rodzaj bioinicjatora, całkowity stopień polimeryzacji oraz zawartość grup alkinowych. Otrzymane kopolimery szczepione poddawano micelizacji, enkapsulacji oraz uwalnianiu substancji aktywnych. Wykazano, iż wielkość uzyskanych miceli zależała od zawartości łańcuchów szczepionych, jak również zawartości oraz charakteru substancji aktywnej. Proces uwalniania uzależniony był od warunków w jakich zachodził (pH roztworu) i rodzaju odpowiednio samego polimeru i substancji aktywnej. W przypadku biokoniugatów wykorzystano jeden rodzaj kopolimerów, P(AIHEMA-co-MPEGMA) o przeważającym udziale AIHEMA lub MPEGMA.

Proszę Doktorantkę o sprecyzowanie wyboru konkretnych mas cząsteczkowych PEG, PCL oraz PDMS. Wykorzystany PEG charakteryzował się znacznie niższym M_n w porównaniu z PCL czy PDMS.

Dodatkowo, proszę omówić mechanizm uwalniania FA oraz LA, tylko w obecności buforu, PBS.

Ostatnie omówione zagadnienie dotyczy biologicznej oceny możliwości wykorzystania zsyntezowanych nośników w terapii transdermalnej w formie masek lub płatków pod oczy. Do tego problemu Doktorantka odniosła się odpowiednio w pracach P4, P5 oraz P7. Badania przeprowadzono w celkach Franza, które imitują sztuczną skórę. Dodatkowo wykonano testy na dwóch liniach komórkowych ludzkiej skóry, tj. komórkach prawidłowych ludzkich fibroblastów oraz ludzkich keranocytów naskórka oraz dwóch liniach nowotworowych czerniaka skóry, tj. M45 i 451-Lu. Poszczególne badania przeprowadzono dla wyselekcjonowanych serii polimerów. Dodatkowo, badane nośniki zbadano również z punktu widzenia ich wpływu na procesy starzenia skóry.



Politechnika Łódzka

Instytut Technologii Polimerów i Barwników

W tym miejscu poproszę Panią mgr inż. Justynę Odrobińską o skomentowanie zakresu stężeń testowanych w celkach Franza w porównaniu z jak mniemam dużym stężeniem nośników substancji aktywnych w założonych produktach finalnych, tj. maskach czy płatkach pod oczy.

Praca nie budzi zastrzeżeń pod względem edytorskim, autorka przygotowała ją bardzo starannie, znalazłam zaledwie kilka błędów związanych z formatowaniem nagłówków, które nie mają praktycznego znaczenia. Stosowana terminologia jest poprawna, wprowadzone skróty wyjaśnione.

Na podstawie powyższej dyskusji uznaję zatem, iż przedstawiona praca w pełni spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim w Ustawie „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” z dnia 14 marca 2003 roku z późniejszymi zmianami i wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej o dopuszczenie Pani mgr inż. Justyny Odrobińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Omówione wyniki wnoszą znaczący wkład w rozwój dyscypliny, wskazując na rolę szeregu czynników w terapii transdermalnej. Mając na uwadze dorobek Doktorantki, stanowiący zarówno cykl publikacyjny recenzowanej pracy, jak i prace nie stanowiące integralnej części rozprawy oraz pozostałe osiągnięcia wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej rozprawy.

Janina Kefron