

Prof. dr hab. inż. Ewa Schab-Balcerzak

Zabrze, 22.06.2021

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Justyny Odrobińskiej, zatytułowanej:

*„Projektowanie biofunkcyjnych polimerów liniowych i szczepionych z udziałem reakcji „click”
do zastosowań w terapii transdermalnej”*

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze Fizykochemii i Technologii Polimerów na Wydziale Chemicznym Politechniki Śląskiej w Gliwicach, pod kierunkiem promotora prof. dr hab. inż. Doroty Neugebauer.

Podstawę formalną wykonania recenzji stanowi pismo Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej z dnia 17.05.2021 r. zgodnie z Uchwałą Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Pol. Śl. podjętą w dniu 21.04.2021 r.

Informacje ogólne

Justyna Odrobińska uzyskała tytuł magistra na Wydziale Chemicznym Politechniki Śląskiej w Gliwicach w 2017 roku. Po ukończeniu studiów rozpoczęła studia doktoranckie na Politechnice Śląskiej. Otwarcie przewodu doktorskiego miało miejsce 27.02.2019 roku. Z przedstawionej dokumentacji wynika, że kandydatka nie ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora.

Na dorobek naukowy mgr inż. Justyny Odrobińskiej składa się 11 publikacji opublikowanych w czasopismach naukowych znajdujących się na liście Journal Citation Reports (JCR) oraz 6 artykułów w czasopismach nienotowanych w JCR. Dorobek mgr inż. Odrobińskiej uzupełnia zgłoszenie patentowe oraz 23 wystąpienia konferencyjne. Doktorantka była kierownikiem projektu MNiSW „Diamantowy Grant” oraz projektu statutowego Politechniki Śląskiej, a także wykonawcą w projekcie NCN Opus. Mgr inż. Odrobińska odbyła krótki pobyt badawczy na Uniwersytecie Tomasa Baty w Zlinie w Czechach. Ponadto, uczestniczyła w licznych szkoleniach i warsztatach, a za swoją działalność naukową otrzymała szereg nagród.

Ocena rozprawy doktorskiej

Rozprawę doktorską mgr inż. Justyny Odrobińskiej stanowi spójny tematycznie cykl siedmiu artykułów (P.1.-P.7.) opublikowanych w latach 2019-2021 w recenzowanych czasopismach naukowych z listy JCR o współczynniku wpływu IF w zakresie od 3,083 do 4,773, takich jak: eXPRESS Polymer Letters (1 praca), Polymers, (2 prace), Pharmaceutics (2 prace), Materials (1 praca) oraz Interenational Journal of Molecular Sciences (1 praca). Ponadto synteza nowego inicjatora 4-n-butyllorezorcynolu, opisana w pracy P.2., jest przedmiotem zgłoszenia patentowego. Należy podkreślić wysoki zarówno sumaryczny IF tego cyklu 26,74, jak i łączną liczbę punktów według MEiN – 780. We wszystkich pracach doktorantka jest pierwszym autorem. Fakt ten, jak i przedstawione oświadczenia współautorów stanowią dowód istotnej roli doktorantki w opracowywaniu koncepcji i wykonaniu badań oraz przygotowaniu publikacji.

Przystawione do recenzji opracowanie o typowym, nie budzącym zastrzeżeń układzie obejmuje:

- wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, z informacją o wkładzie autorskim doktorantki,
- wykaz stosowanych skrótów,
- wprowadzenie liczące 10 stron,
- cel i zakres badań,
- 25 stronicowe omówienie wyników,
- podsumowanie i wnioski liczące 3 strony,
- bibliografię obejmującą 142 cytowane pozycje,
- wykaz dorobku naukowego doktorantki,
- załączniki zawierające: streszczenie pracy doktorskiej w j. polskim i angielskim, publikacje stanowiące rozprawę doktorską oraz oświadczenia promotora i współautorów dotyczące cyklu publikacji.

Podjęte w ramach niniejszej pracy doktorskiej badania ukierunkowane były na opracowanie innowacyjnych polimerów dla kontrolowanego uwalniania substancji bioaktywnych w terapii transdermalnej. Tematyka pracy wpisuje się w aktualny nurt badań dotyczących syntezy nowoczesnych nośników substancji terapeutycznych, do których należą polimery syntetyczne. Opracowanie materiałów o kontrolowanych właściwościach uwalniania związków bioaktywnych w środowisku fizjologicznym jest zagadnieniem bardzo złożonym, wymagającym podejścia interdyscyplinarnego łączącego ze sobą chemię, farmację i biologię. Warto zaznaczyć, że doktorantka przeprowadziła również badania biologiczne w celu oceny możliwości bezpiecznego zastosowania wybranych syntezowanych nośników w dostarczaniu substancji kosmetycznych w głąb skóry.

W rozprawie przedstawiono syntezę i charakterystykę biofunkcyjnych polimetakrylanów liniowych oraz szczepionych, które następnie badano jako nośniki wybranych substancji bioaktywnych do zastosowania w kosmetologii. Do badań wybrano następujące substancje aktywne: witaminy A, C i E, arbutynę, argininę, kwas ferulowy (FA) i liponowy (FL) oraz 4-n-butylorczecynol, czyli związki o właściwościach antyoksydacyjnych, przeciwzmarszczkowych oraz redukujących przebarwienia skóry, które są składnikami różnych kosmetyków. Taki dobór związany jest z potencjalnym zastosowaniem opracowywanych układów w produktach kosmetycznych takich jak maski lub płatki pod oczy. Do syntezy biofunkcyjnych polimerów metakrylanów doktorantka zastosowała kontrolowaną polimeryzację rodnikową z przeniesieniem atomu (ATRP) oraz reakcję typu „click”.

Do otrzymania polimerów zastosowano dwa syntezowane inicjatory pochodne retinolu (RETBr) oraz 4-n-butylorczecynolu (4nBREBr₂), czyli związków o właściwościach przeciwstarzeniowych oraz stosowanych w leczeniu przebarwień skóry. W celach porównawczych otrzymano także serię związków wielkocząsteczkowych wykorzystując komercyjny inicjator ATRP, czyli 2-bromoizomaślan (EiBBr). Synteza inicjatora będącego pochodną 4-n-butylorczecynolu i jego zastosowanie w polireakcji ATRP były przedmiotem zgłoszenia patentowego. Nowe inicjatory RETBr i 4nBREBr₂, przedstawione w pracach P.1.-P.3., otrzymano w wyniku reakcji estyfikacji retinolu i 4-n-butylorczecynolu z bromkiem 2-bromoizobutyrylu. Na kolejnym etapie otrzymano kopolimery z metakrylanu metylu (MMA), metakrylanu 2-hydroksyetylu (HEMA) i metakrylanu eteru monometylowego glikolu polietylenowego (MPEGMA). W wyniku przeprowadzonych polireakcji przy różnych stosunkach komonomerów oraz różnych inicjatorów (RETBr, 4nBREBr₂; EiBBr) otrzymano 13 kopolimerów i dwa polimery z HEMA, które opisano w pracach P.1. - P.3. Zastosowanie różnych stosunków komonomerów umożliwiło otrzymanie kopolimerów o zróżnicowanej równowadze hydrofilowo-hydrofobowej. Kolejna, dominująca seria związków wielkocząsteczkowych otrzymanych przez doktorantkę to kopolimery szczepione zawierające łańcuchy poli(glikolu etylenowego) (PEG), poli(ε-kaprolaktonu) (PCL) i polidimetylosiloksanu (PDMS). Na pierwszym etapie pracy doktorantka otrzymała 9 kopolimerów przygotowanych z MMA i syntezowanego z HEMA, monomeru z alkinowymi grupami funkcyjnymi (AIHEMA) oraz 9 kopolimerów typu P(AIHEMA-co-MPEDMA) (P.2.-P.5.). Obecność grup alkilowych w kopolimerach, wykorzystano stosując reakcję „click” do przyłączenia PEG, PCL i PDMS, a także związków bioaktywnych (FA i LA), co prowadziło do otrzymania koniugatów polimerowych (P.2. - P.7.). Wprowadzenie łańcuchów PEG do kopolimerów P(AIHEMA-co-MMA) skutkowało otrzymaniem 7 kopolimerów amfifilowych o różnym stopniu szczepienia PEG. Natomiast łańcuchy PCL i PDMS wprowadzono do serii P(AIHEMA-co-MPEGMA), otrzymując 9

kopolimerów szczepionych z PCL i 5 z PDMS. Przyłączenie łańcuchów polimerów wymagało modyfikacji PEG, PCL i PDMS, czyli wprowadzenia grupy azydkowej, co w przypadku PEG było reakcją jednoetapową. Natomiast funkcjonalizacja PCL i PDMS przebiegała w dwóch etapach, obejmujących estryfikację końcowej grupy hydroksylowej i wprowadzenia ugrupowania bromoestrowego, a następnie azydkowanie. Synteza koniugatów z kopolimerów P(AIHEMA-co-MPEGMA) z FA i LA również wymagała funkcjonalizacji, ale związków aktywnych i przebiegała w ten sam sposób jak w przypadku PCL i PDMS. Otrzymano 5 koniugatów z FA i 2 z LA.

Otrzymane kopolimery zbadano pod kątem ich zdolności do tworzenia miceli, wyznaczając dla nich wartości krytycznego stężenia micelizacji oraz enkapsulacji wybranych substancji aktywnych. W serii P(HEMA-co-MMA), P(HEMA-co-MPEGMA) oraz P(MMA-co-MPEGMA) badano proces enkapsulacji i uwalniania witaminy C i E, arbutyny (ARB) oraz kwasu ferulowego (FA). Natomiast w przypadku kopolimerów szczepionych z PEG, PCL i PDMS określano także ich zdolności do enkapsulacji i uwalniania witaminy C, ARB i FA oraz dodatkowo argininy i 4-n-butylorezorcyli. Podjęto także próbę jednoczesnej enkapsulacji ARB i witaminy C. Proces uwalniania bioaktywnych związków z miceli oraz z koniugatów polimerowych badano w warunkach zbliżonych do panujących na skórze człowieka, czyli w wodnym roztworze buforu fosforanowego (PBS) o pH = 7,4 w temp. 37 °C, z wykorzystaniem celulozowej membrany dializacyjnej. W przypadku serii kopolimerów heteroszczepionych z PCL i PDMS, czyli P((AIHEMA-graft-PCL)-co-MPEGMA) oraz P((AIHEMA-graft-PDMS)-co-MPEGMA) dodatkowo proces uwalniania 4nBRE, ARB i witaminy C przeprowadzono przy pH=5,5, co umożliwiło określenie wpływu pH na jego efektywność.

Ostatni etap badań doktorantki obejmował wstępną ocenę biologiczną wybranych układów polegającą na przeprowadzeniu testów przenikalności przez membranę będącą modelem ludzkiej skóry oraz badań na dwóch liniach komórkowych ludzkiej skóry i porównawczo na dwóch liniach nowotworowych czerniaka skóry. Testy przenikalności w celkach Franza przeprowadzono dla miceli utworzonych przez P((AIHEMA-graft-PCL)-co-MPEGMA), P((AIHEMA-graft-PDMS)-co-MPEGMA) oraz dla koniugatów. Oczekiwane byłoby uzasadnienie w przedstawionym Opisie cyklu publikacji takiego wyboru, wraz z podaniem informacji, dlaczego pominięto micelle powstałe z kopolimerów z serii P(HEMA-co-MMA), otrzymanych przy zastosowaniu inicjatorów EiBBr i RETBr, które także charakteryzowały się wysoką zawartością FA, czy też witaminy C i ARB. Ciekawe byłoby porównanie badań przenikalności w celkach Franza koniugatów oraz miceli P(HEMA-co-MMA) z FA. Nie podano także czym się kierowano w wyborze związków do dalszych badań na liniach komórkowych.

Budowę chemiczną syntezowanych związków potwierdzono metodami spektroskopowymi (^1H , ^{13}C NMR i FTIR) oraz spektrometrią mas. Za pomocą chromatografii

żelowej (GPC) określono ciężary cząsteczkowe otrzymanych kopolimerów. Wyznaczono stopień polimeryzacji związków wielkocząsteczkowych na podstawie widm ^1H NMR i wyników z chromatografii gazowej. Określono średnice hydrodynamiczne powstałych miceli na podstawie pomiarów dynamicznego rozpraszania światła (DLS). Utworzenie struktur micelarnych potwierdzono także za pomocą mikroskopii SEM i TEM. Na podstawie stężenia uwalnianej substancji określonej na podstawie pomiarów UV-vis wyznaczono profile kinetyczne uwalniania. W ramach badań biologicznych przeprowadzono testy przenikalności, ocenę toksyczności względem zdrowych i nowotworowych linii komórkowych, ocenę wpływu roztworów nośników ze związkami aktywnymi na proliferację komórek, a także badania starzeniowe.

Jak wynika z przedstawionego opisu, pani mgr inż. Justyna Odrobińska podjęła się i zrealizowała kompleksowe badania wykazując się bardzo dużymi umiejętnościami w zakresie preparatyki organicznej oraz charakterystyki otrzymanych materiałów, jak i prowadzenia wstępnych badań biologicznych.

Otrzymanie tak bogatego materiału badawczego umożliwiło prześledzenie i określenie wielu zależności, rozpoczynając od wpływu rodzaju inicjatora i komonomerów na przebieg polireakcji, rozkład jednostek monomerów w makrocząsteczkach i stopień polimeryzacji, poprzez wpływ budowy kopolimerów na zdolność do (i) dalszej modyfikacji w reakcji „click”, (ii) do micelizacji z uwzględnieniem wielkości utworzonych miceli, (iii) enkapsulacji określonych związków bioaktywnych w tym tworzenia koniugatów, kończąc na określeniu kinetyki uwalniania badanych substancji. Rozprawa zawiera szereg interesujących wyników, które przyczyniają się do poszerzenia wiedzy dotyczącej nośników substancji aktywnych dla zastosowań w produktach aplikowanych na skórę. Ponadto, biorąc pod uwagę wyniki badań biologicznych, wybrane układy stanowią obiecujący materiał do dalszych badań.

Opis cyklu publikacji stanowiących rozprawę doktorską jest bardzo dobrze przygotowany i widać doskonale, że doktorantka posiada umiejętność syntetycznego opisu złożonych zagadnień poprawnym chemicznym językiem. We Wprowadzeniu doktorantka przedstawiała, na podstawie dokonanego przeglądu literaturowego, istotne zagadnienia związane z podjętym w rozprawie problemem badawczym. Opisała polimery biofunkcyjne i reakcje typu „click” wykorzystane do przygotowania układów dostarczania związków aktywnych oraz aktualne rozwiązania dotyczące nośników substancji kosmetycznych. Cel pracy został jasno sformułowany, a zakres badań podzielono na kilka etapów, które schematycznie zilustrowano na rysunku 2. W kolejnym rozdziale Opracowania doktorantka przedstawia syntezę zaprojektowanych układów dostarczania substancji bioaktywnych oraz główne wyniki uzyskane z przeprowadzonych badań. Szczegółowe opisy eksperymentalne, wyniki badań i dyskusję przedstawiono w publikacjach stanowiących rozprawę doktorską. Należy podkreślić, że wybór inicjatorów, komonomerów, polimerów jak i

substancji aktywnych zastosowanych do przygotowania układów, czyli miceli i koniugatów został wyjaśniony i umotywowany doniesieniami literaturowymi. Rozdział Omówienie wyników uzupełniają rysunki i tabele, przedstawiające budowę chemiczną syntezowanych związków i substancji bioaktywnych oraz najważniejsze dane dotyczące syntezowanych poszczególnych grup kopolimerów, z uwzględnieniem wyników badania procesu enkapsulacji i uwalniania odpowiednich związków. Opis kończy rozdział Podsumowanie i wnioski, w którym doktorantka zebrała uzyskane zależności z przeprowadzonych kompleksowych badań. Doktorantka podsumowuje, że do grupy efektywnych i bezpiecznych do stosowania na skórze nośników micelarnych zaliczyć można układy otrzymane z „kopolimerów liniowych z udziałem HEMA”, jednak nie znajdują danych z badań biologicznych potwierdzających ten wniosek. Zamieszczona bibliografia składa się z 142 pozycji dobrze dobranej piśmiennictwa obejmującego artykuły opublikowane w ostatnich latach.

Reasumując, stwierdzam, że rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i podjęty przez mgr inż. Justynę Odrobińską temat został zrealizowany z dużym sukcesem, a uzyskane wyniki doktorantka potrafiła przedstawić syntetycznie. W Opisie cyklu publikacji, który bardzo dobrze się czyta, trudno doszukać się istotnych błędów. Należy podkreślić niezwykle staranną stronę edytorską Opisu. Doktorantka wykazała, że posiada ogólną wiedzę teoretyczną w zakresie chemii polimerów i syntezy nośników substancji bioaktywnych, wpisujących się w obszar dyscypliny nauk chemicznych. Zgromadziła bogaty materiał eksperymentalny. Udowodniła, że posiada umiejętności w zakresie syntezy związków mało- i wielkocząsteczkowych, przygotowania oraz badania miceli i koniugatów, a także biegle interpretuje wyniki z przeprowadzonych badań, również wykraczających poza obszar chemii, co świadczy o jej predyspozycjach i bardzo dobrym przygotowaniu do pracy naukowej.

Biorąc powyższe pod uwagę, stwierdzam, że przedstawiona rozprawa doktorska, stanowiąca spójny tematycznie cykl siedmiu publikacji pod wspólnym tytułem „*Projektowanie biofunkcyjnych polimerów liniowych i szczepionych z udziałem reakcji „click” do zastosowań w terapii transdermalnej*”, w pełni odpowiada warunkom określonym w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (j.t. Dz.U. z 2020 r. poz. 85, z póź. zm.) i wnoszę o dopuszczenie mgr inż. Justyny Odrobińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Schab-Balczuk

Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Justyny Odrobińskiej

Wyniki uzyskane przez panią mgr inż. Justynę Odrobińską w trakcie realizacji pracy doktorskiej stanowią istotny wkład naukowy w dziedzinie nośników substancji bioaktywnych w terapii transdermalnej. Na szczególne uznanie zasługuje otrzymanie kopolimerów o zdefiniowanej budowie, zdolnych do efektywnego zarówno enkapsulowania jak i uwalniania wybranych substancji stosowanych w kosmetykach, które biorąc pod uwagę wyniki wstępnych badań biologicznych, mogą być perspektywiczne dla zastosowań w produktach kosmetycznych typu maski, czy płatki pod oczy.

Wartość naukowa ocenianej rozprawy doktorskiej, potwierdzona także faktem, że artykuły dotyczące przeprowadzonych badań opublikowano w renomowanych czasopismach, jak i opis uzyskanych wyników zasługują na wyróżnienie. Należy podkreślić bardzo wysoki sumaryczny IF tych prac wynoszący 26,74 oraz fakt, że doktorantka jest we wszystkich pracach pierwszym autorem. Ponadto Doktorantka spełnia wymagania formalne dotyczące wyróżnienia pracy doktorskiej na Wydziale Chemicznym Politechniki Śląskiej określone w Uchwale Nr 91/2016/2017 Rady Wydziału Chemicznego z dnia 22.03.2017 r.

Uwzględniając powyższe przesłanki wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pani mgr inż. Justyny Odrobińskiej.

Schab-Balczuk