



Gdańsk, 2.07.2020

Recenzja**pracy doktorskiej mgr Marty Miotke-Wasilczuk****pt. „Badanie procesów chłonności i uwalniania substancji czynnych z hydrożelowych nanokompozytów polimerowych”**

Rozprawa doktorska Pani mgr Marty Miotke-Wasilczuk, absolwentki studiów magisterskich kierunku fizyka na Uniwersytecie Gdańskim, została przygotowana pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Jerzego Kweli, przy współpracy promotora pomocniczego dr Justyny Strankowskiej, w Zakładzie Fizyki Stosowanej Wydziału Matematyki, Fizyki i Informatyki Uniwersytetu Gdańskiego.

Przedłożona mi do oceny rozprawa stanowi monografię składającą się z 10 rozdziałów zgrupowanych w trzech częściach: I. Charakterystyka badanych materiałów, II. Opis transportu substancji czynnej w hydrożelach, III. Charakterystyka procesów transportu wybranych substancji czynnych w matrycach hydrożelowych. Pracę zamyka krótki rozdział: Podsumowanie wyników i wnioski końcowe oraz streszczenie. Tekst pracy zawiera się na 144 stronach. Wykaz piśmiennictwa składa się ze 136 pozycji. Około 30 pozycji pochodzi z 10 ostatnich lat. Piśmiennictwo jest dobrze dobrane, ale pomocne byłoby, gdyby podane były również tytuły publikacji, a nie tylko dane bibliograficzne. Pragnę pochwalić staranność w edycji tekstu pracy, w którym błędy literowe lub stylistyczne są rzadkie.

Wyniki badań zostały opublikowane w 3 artykułach w renomowanych czasopismach (Polymer Bulletin, Journal of Molecular Liquids, European Physical Journal Plus) o łącznym IF 10,307. We wszystkich tych publikacjach Pani Marta Miotke jest pierwszym autorem.

Doktorantka postawiła jako główny cel badań analizę procesów fizycznych występujących w hydrożelowych matrycach polimerowych zawierających nanocząstki, w czasie wchłaniania roztworów i uwalniania substancji czynnych, z wyznaczeniem rodzaju oddziaływań między substancją czynną a matrycą i określeniem wpływu nanocząstek na kinetykę uwalniania substancji czynnej. Termin „substancja czynna” oznacza substancję leczniczą, ponieważ badania ukierunkowano na praktyczne zastosowanie tych układów jako nośników leku o kontrolowanym uwalnianiu. Współczesna technologia farmaceutyczna rozwija się dzięki materiałom polimerowym i wszelkie próby modyfikowania struktury takich nośników, szczególnie z użyciem nanocząstek są celowe i niezmiernie cenne. Z drugiej strony stawia się coraz większe wymagania przy projektowaniu leku coraz silniejszy nacisk kładzie się na

pogłębianie wiedzy o mechanizmach powiązanych procesów i niezwykle ważne jest charakteryzowanie materiałów/nośników pod względem właściwości dyfuzyjnych. Jednym z najważniejszych atrybutów jakościowym postaci leku jest kinetyka uwalniania substancji czynnej, określana *in vitro*, a jeżeli to możliwe, również w warunkach *in vivo*, oraz związane z tym transfery masy i zmiany struktury, jak pęcznienie czy porowatość. Podjęty temat badawczy oceniam jako ambitny, o istotnym znaczeniu zarówno naukowym jak i praktycznym, służący rozwojowi nowoczesnej technologii farmaceutycznej oraz poszukiwaniu sposobów kontroli kinetyki uwalniania.

W badaniach zostały użyte nanokompozyty zawierające nanocząstki montmorolinitu sodowego modyfikowanego surfaktantem - alkilową solą amoniową - o nazwie handlowej Closite 30B (Southern Clay Products). Matrycę hydrożelową stanowił kopolimer poliuretanu i poli(tlenku etylenu). Jako substancje czynne wprowadzono do nośnika paracetamol lub naproksen sodowy. Substancje czynne wybrano kierując się ich działaniem przeciwbólowym i potencjalnym zastosowaniem uzyskanego preparatu jako materiału sorpcyjnego w leczeniu ran. Niestety, chociaż obie substancje czynne mają rzeczywiście działanie przeciwbólowe i przeciwzapalne, ale nie są stosowane w preparatach na rany. Takie leki, należące do grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych, są uznawane za hamujące proces gojenia rany. Dlatego Doktorantka powinna potraktować te substancje wyłącznie jako modelowe, o ciekawych cechach strukturalnych i fizykochemicznych, których zastosowanie pozwoliło na uzyskanie ważnych informacji o strukturze i właściwościach dyfuzyjnych badanych nośników.

W takim ujęciu wybór tematu pracy uważam za właściwy, ponieważ nadal brakuje informacji na temat cech dyfuzyjnych materiałów, które mogłyby być zastosowane do kontrolowanego uwalniania substancji leczniczych. Chociaż przybywa takich badań i liczne są opisy modelowania matematycznego dyfuzji, to okazuje się, że każdy nowy materiał wymaga nadal indywidualnej charakterystyki, z koniecznością prowadzenia prac eksperymentalnych.

Plan badań jest przejrzysty i w pełni służący celowi pracy. Obejmuje badania wstępne właściwości chłonnych nanokompozytu w stosunku do wody i 50% etanolu, oraz badania główne transportu substancji czynnych – chłonności i kinetyki uwalniania oraz solwatochromizmu i wzajemnych korelacji tych zjawisk. Pomocniczo Doktorantka rozszerzyła grupę modelowych substancji o acetanilid i etyloanilinę. Ważnym elementem badań była ocena struktury nanokompozytu o różnym składzie (różna masa cząsteczkowa PEG i zawartość nanocząstek). W szczególności ważne było określenie wielkości porów metodą termoporymetrii.

Metodyka zastosowana w prowadzonych podstawowych doświadczeniach została maksymalnie uproszczona – eksperymenty polegały na umieszczaniu cylindrycznych próbek nanokompozytów w rozpuszczalnikach i w określonym czasie oceniano albo zmiany masy próbek albo przenoszenie masy substancji czynnych na podstawie zmian ilości cząsteczek w rozpuszczalnikach, w których umieszczano próbki. Dzięki tym prostym eksperymentom

Doktorantka uzyskała pokaźny materiał doświadczalny, który mogła wykorzystać do modelowania kinetyki zachodzących procesów oraz wnioskowania o zachodzących oddziaływaniach i zmianie struktury materiału matrycy. To właśnie ta część interpretacyjna pracy stanowi o jej wartości naukowej i wyciągnięte wnioski pozwalają uznać, że cel został osiągnięty. W metodyce badawczej należy docenić zastosowanie techniki spektroskopii absorpcyjnej i fluorescencyjnej do charakterystyki solwatochromizmu badanych substancji czynnych.

W efekcie analizy Doktorantka opisała wpływ nanocząstek na właściwości dyfuzyjne nanokompozytu. Obserwowane efekty spowolnionej dyfuzji są nieduże i moim zdaniem raczej nie wskazują na przydatność materiału w technologii farmaceutycznej do spowolnionego uwalniania, ale uznałabym je jednak za przydatne do wyjaśnienia obserwowanych często w praktyce zjawisk zmiany kinetyki uwalniania na skutek obecności w matrycach różnych substancji pomocniczych.

Pani Marta Miotke-Wasilczuk modelując kinetykę dyfuzji zgodnie z teorią opisaną przez Peppasa, Langerę, Korsmeyera, Berensa i Hopfenberga opisała procesy kinetyczne z wyszczególnieniem etapów, w których dominującą rolę odgrywa dyfuzyjność materiału lub relaksacja łańcuchów. Jak można było się spodziewać, obserwowane efekty zmieniały się w obecności nanocząstek i uzależnione były od właściwości modelowych substancji. Jest to więc kolejne badanie wskazujące na to, że wszelkiego rodzaju oddziaływania należy nadal rozpatrywać indywidualnie – w układzie konkretnego nośnika i konkretnej substancji czynnej, ale można też wierzyć, że dzięki takiej analizie praca wnosi wkład w budowanie ogólnej wiedzy o zależnościach, tak że w przyszłości będzie można lepiej przewidywać takie efekty bez pracochłonnych i czasochłonnych eksperymentów.

Doceniając wartość uzyskanych wyników i dojrzałość dyskusji, chciałabym ustosunkować się do niektórych kwestii, które są dla mnie niejasne lub z którymi chciałabym polemizować:

- Uważam, że pewne utrudnienie w lekturze pracy wiąże się z brakiem wyraźnego podziału na część teoretyczną i doświadczalną. Na przykład trudno jest ocenić, czy określenie wielkości porów metodą termoporometryczną (część II) to część doświadczalna pracy, czy też Doktorantka skorzystała z wyników uzyskanych wcześniej przez jednostkę syntezującą materiał, tzn. Katedrę Polimerów Politechniki Gdańskiej (cel pracy i opis prowadzonych eksperymentów to dopiero rozdział w części III pracy).
- Brakuje w pracy określenia właściwości organoleptycznych badanego materiału – twardość, kruchość, elastyczność – w stanie suchym i zwilżonym. Pozwoliłoby to ocenić, czy właściwości sorpcyjne mogłyby być rzeczywiście wykorzystane do opatrywania ran.
- Analiza graficznie przedstawionych profili i obliczonych parametrów byłaby łatwiejsza, gdyby zestawione je w większych tabletkach lub na tych samych

wykresach - dotyczy to np. tabel na str. 112-115 lub rycin na str. 74 i 75. Dopiero w części dyskusji pojawia się nieduża tabela porównawcza

- Temperatura to ważny czynnik wpływający na zjawiska sorpcji, desorpcji, dyfuzji i w pracy ten aspekt został zbadany w odniesieniu do paracetamolu, acetanilidu i etyloaniliny. Doktorantka przeprowadziła badania w temperaturze 25°C i 37 °C. Brakuje mi jednak dokładnie sprecyzowanej metody termostatowania próbek, tym bardziej, że w innych częściach pracy wielokrotnie jest mowa o temperaturze pokojowej, która może jednak być różna.
- Nie została podana liczba powtórzeń eksperymentów. Niestety przy tak małych często zmianach w przebiegu profili uwalniania lub sorpcji ta informacja wraz z podanymi odchyleniami wyników stanowi podstawę rzetelnej ich oceny, z uwzględnieniem oceny statystycznej. Oczekuję przedstawienia tej informacji w trakcie prezentacji.
- Wielokrotnie Doktorantka posługiwała się terminem plateau na określenie stanu równowagi, ja jednak mam zastrzeżenia co do istnienia plateau na kilku rycinach (np. 7.3a, 8.3a, 8.16 c). Czy było ustalono kryterium różnicy wyników by uznać je za ustabilizowane?
- Podstawowym tematem, który powinien zostać uzupełniony jest wyjaśnienie, dlaczego w badaniach sorpcji, po wysuszeniu próbki Doktorantka uznała, że przyrost masy wynika z pozostałego rozpuszczalnika (wody). Dlaczego nie została przeanalizowana ilość pozostającego w nanokompozycie naproksenu lub paracetamolu? Dlaczego nie została podjęta próba oznaczenia wody pozostałej w próbkach (metodą Karla Fischera)? Moim zdaniem oznaczonej wagowo różnicy masy nie wolno traktować jako „wody związanej” (str. 57) ani jako „masy roztworu pozostałej w matrycy po suszeniu próbki” (str. 56). Do pełnej analizy tej pozostałości potrzebna byłaby informacja o masie próbki polimeru (na str. 108 wspomniano o 1 g – czy uwzględniano dokładną masę?) i ilości użytego roztworu. Niestety takie informacje są niekompletne w pracy. Dodatkowo układ komplikuje się, gdy w badaniu chłonności próbkę, z zabsorbowanym naproksenem poddaje się ponownemu chłonięciu w roztworze tej substancji leczniczej, a nie wody. Jaka była przyczyna takiego prowadzenia eksperymentu?
- Brakuje mi informacji o pH stosowanych roztworów i dysocjacji naproksenu sodowego. Na pewno ciekawym wątkiem badawczym byłaby ocena procesów w obecności płynów fizjologicznych (np. osocza lub płynów elektrolitowych).
- W wyniku analizy kinetyki dyfuzji naproksenu pojawiło się stwierdzenie, że dyfuzja naproksenu w hydrożelach z nanocząstkami zachodzi szybciej, co tłumaczy Doktorantka poszerzeniem przestrzeni międzylańcuchowych i zwiększeniem porów (str. 56). Tymczasem w podsumowaniu pracy (str. 125) ten wniosek nie pojawił się, natomiast Doktorantka pisze „W przypadku naproksenu sodu wykazano, że proces dyfuzji w trakcie uwalniania trwa dłużej z przestrzeni hydrożeli zawierających

nanocząstki”. Mam nadzieję, że w trakcie prezentacji pracy Doktorantka wyjaśni te stwierdzenia.

- Często trudno jest zorientować się, czy została rozróżniona dyfuzja rozpuszczalnika od dyfuzji substancji czynnej, gdyż zamiennie pojawiają się sformułowania: *dyfuzja penetranta*, *dyfuzja cząsteczki roztworu*, *dyfuzja leku*. Jak w tym kontekście można interpretować chociażby wyniki zaprezentowane na ryc. 7.14 i 8.14 z komentarzem „określono oddziaływanie naproksenu sodowego z rozpuszczalnikiem”. Czy są to oddziaływanie z wodą czy etanolem?
- Doktorantka dokonała analizy transferu mas substancji czynnych na podstawie szybkiej metody spektroskopowej, wyznaczając w ten sposób liczbę cząsteczek w badanych roztworach. Szkoda jednak, że wyniki nie zostały potwierdzone z zastosowaniem standardowej metody analizy tzn. HPLC. Czy wykluczono ewentualny wpływ na zmiany absorbancji ewentualnych zanieczyszczeń uwalniających się z matrycy polimerowej nanokompozytu?

Doktorantka nie ustrzegła się błędów terminologicznych, ale nie są one liczne, co szczególnie jest warte docenienia w odniesieniu do trudnej dla absolwentki fizyki terminologii farmaceutycznej. Mogę wskazać jako przykłady błędnych sformułowań :

naproksen sodu w postaci soli sodowej (str. 49)

lekarstwo (str. 28, 47)

środki terapeutyczne (str. 6)

Nieprecyzyjne są też czasami sformułowania dotyczące procesu uwalniania:

kinetyka uwalnianej substancji (str. 6 i 14)

ilość roztworu uwalnianego (str. 8)

penetrant (str. 31)

Błędnie wpisano:

1000s zamiast 10 000 s (str. 110)

odwołanie do numerów tabel w tytule tabeli na stronie 121

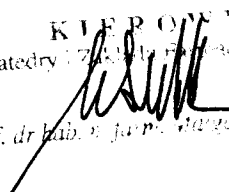
Oceniając rozprawę Pani mgr Marty Miotke-Wasilczuk mam obowiązek odnieść się do spełniania warunków określonych w art. 13 obowiązującej *Ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki*. Stwierdzam, że:

1. praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego – jest obszernym opracowaniem dotyczącym charakterystyki fizycznej nowego materiału nanokompozytowego. O nowości świadczą opublikowane trzy prace w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.
2. praca wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie: Doktorantka przyswoiła obszerną wiedzę z dziedziny nauk fizycznych, jednocześnie wkraczając w obszar nauk farmaceutycznych. Z dużym zainteresowaniem zapoznałam się z przedstawionym materiałem teoretycznym, uznając go również za przydatny dla technologów w farmacji.

3. rozprawa wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej – świadczy o tym zakres przeprowadzonych, uzupełniających się, badań: fizycznych i analitycznych, sposób przedstawienia wyników, z modelowaniem matematycznym oraz z ich prawidłową interpretacją.

W tym ostatnim punkcie pozwolę jednak na komentarz, że pomimo wskazywania tego warunku w Ustawie nie zgadzam się z takim zapisem, ponieważ rozprawa doktorska to nie jest jeszcze etap samodzielności naukowej, a jest to etap ścisłej współpracy z promotorem (w tym wypadku z promotorami). Dlatego też z pewnym zdziwieniem przyjmuję zawarte w pracy, obowiązujące na Uniwersytecie Gdańskim, oświadczenie, że praca doktorska została wykonana samodzielnie i nie narusza interesów innych osób. To oświadczenie może dotyczyć napisania rozprawy, a nie jej koncepcji, wykonania eksperymentów, interpretacji wyników. Na tym etapie kariery naukowej jest to niemal zawsze praca zespołowa, o czym świadczą wieloautorskie publikacje związane z rozprawą.

W związku z powyższą pozytywną oceną rozprawy zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Fizyczne z prośbą o dopuszczenie Pani mgr Marty Miotke-Wasilczuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Katedry Fizyki i Inżynierii Ścisłej

prof. dr hab. inż. Jolanta Szmitowska