

dr hab. inż. Małgorzata M. Jaworska, profesor uczelni
Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej
Politechnika Warszawska

Recenzja rozprawy doktorskiej mg inż. Anny Katarzyny RYŁ
pt. „Wpływ sił ścinających występujących podczas przepływu w naczyniach kapilarnych
na mechanizm żelowania polimerowych nośników leków”
Promotor: dr hab. inż. Piotr Owczarz, prof. uczelni

1. Treść i zakres rozprawy doktorskiej

Praca przedstawiona do oceny poświęcona jest określeniu wpływu pola ścinającego występującego w kapilarach stosowanych podczas aplikacji iniekcyjnej koloidalnych układów polisacharydowych wykorzystywanych jako nośniki leków na mechanizm i kinetykę termoindukowanej przemiany fazowej zol-żel prowadzącej do wytworzenia przestrzennej sieci polimerowej. Badaniom poddano koloidalne układy chitozanu z dodatkiem soli β -glicerofosforanu sodu oraz wodne roztwory hydroksypropylcelulozy (HPC) ulegające przemianie fazowej zol-żel w warunkach fizjologicznych (temp. 37°C, pH w zakresie 6,8-7,2). Podstawą oceny jest cykl 4 publikacji stanowiących osiągnięcie badawcze mgr inż. Anny Rył. Tematyka pracy dobrze wpisuje się w prowadzone obecnie na świecie badania nad opracowywaniem nowych nośników leków czy rusztowań do hodowli komórkowych z wykorzystaniem chitozanu. Takie zastosowania wymagają podania leku związanego z matrycą poprzez kapilarę w postaci igły lub aplikację materiału poprzez kapilarę drukarki 3D.

Chitozan, pochodna chityny, jest biopolimerem naturalnym, nietoksycznym, biodegradowalnym, nie wywołującym alergii a zatem spełniającym wszystkie wymagania pozwalające na stosowanie go w farmacji czy medycynie. Dodatkowo w temperaturze ciała w obecności np. β -glicerofosforanu, obserwuje się przejście fazowe zol-żel. Hydroksypropylceluloza to związek obojętny fizjologicznie, o dobrze udokumentowanym braku toksyczności, wykorzystywany w przemyśle farmaceutycznym jako substancja wiążąca oraz nośnik w produkcji tabletek i kapsułek. Oba biopolimery są interesujące dla przemysłu farmaceutycznego, gdyż podajemy lek w postaci płynnej, który w temperaturze ciała zmienia się w żel, uwalniający powoli lek do organizmu lub stanowi stelaż dla podanych komórek (np. chrząstki czy macierzystych). Choć przejście fazowe zol-żel zostało dosyć wcześniej opisane w literaturze, to wpływ naprężeń ścinających wynikających ze sposobu aplikacji do organizmu ludzkiego czy zwierzęcego poprzez iniekcję na zachowanie tych polimerów i sposób żelowania nie został w literaturze ani dostrzeżony, ani opisany. Słuszne zatem wybrano cel pracy

skupiając się na wpływie naprężeń ścinających na izotermiczną (37°C) oraz nieizotermiczną (5°-60°C) kinetykę przemiany fazowej.

Do badań wybrano 2 próbki chitozanu różniące się między sobą pochodzeniem (chitozan z pancerzy krewetek o masie cząsteczkowej 862 kDa i chitozan z pancerzy krabów o masie cząsteczkowej 680 kDa) i masami cząsteczkowymi oraz 1 próbkę hydroksypropylcelulozy o masie cząsteczkowej 100 kDa. Zakres pracy obejmował analizę wpływu reżimu agregacji i kierunku pola ścinającego na warunki termo indukowanej przemiany zol-żel, określenie szybkości ścinania podczas przepływu zolu przez igły iniekcyjne a także określenie wpływu krótkotrwałego impulsu ścinającego na termo indukowaną przemianę fazową zol-żel.

Praca rozpoczyna się od Wprowadzenia (Rozdział 1.) gdzie w wystarczająco szczegółowy sposób przedstawiono termowrażliwe nośniki leków, przedstawiono charakterystykę chitozanu i celulozy, metody badawcze stosowne do analizy układów termowrażliwych, omówiono aplikację iniekcyjną, przepływ przez kapilary, wpływ pola ścinającego na układy koloidalne. Rozdział zakończono wnioskami wypływającymi z przeglądu danych literaturowych. Następnie przedstawiono cel i tezę rozprawy doktorskiej (Rozdział 2.), przedstawiono materiały, techniki pomiarowe oraz zakres pracy (Rozdział 3.). Wyniki badań zaprezentowano w kolejnych 4 angielskojęzycznych rozdziałach poświęconych: badaniom zachowania roztworów chitozanu w pomiarach prowadzonych z użyciem reometru rotacyjnego i oscylacyjnego (Rozdział 4.), termo indukowanej agregacji chitozanu w reżimie perykinetycznym i ortokinetycznym (Rozdział 5.), badaniom przepływu termo wrażliwych roztworów przez kapilary w warunkach wysokich szybkości ścinania (Rozdział 6.) oraz badaniom sposobu iniekcji hydrożeli polisacharydowych na przejście fazowe zol-żel (Rozdział 7.). Pracę zakończono Podsumowaniem i wnioskami (Rozdział 8.).

Praca ma dobrą konstrukcję i prowadzi czytelnika przez zagadnienia omawiane i badane w pracy. Praca napisana jest częściowo w j. polskim (Wprowadzenie, Teza, cel i zakres pracy, materiały metody, podsumowanie i wnioski) a częściowo w j. angielski (4 publikacje zawierające wyniki przeprowadzonych badań). Przegląd danych literaturowych zawiera wszystkie informacje niezbędne do oceny części doświadczalnej. Cel, zakres oraz tezy rozprawy zostały wyraźnie określone, zaś przedstawione wyniki badań pozwalają stwierdzić, że zamiary zostały osiągnięte.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska p. mgr inż. Anny Rył liczy 173 stron z licznymi rysunkami, tabelami, streszczeniem, spisem literatury. W pracy zamieszczono także wykaz dorobku naukowego doktorantki: patenty (1), rozdziały w monografiach (3), wykaz publikacji nie wchodzących w zakres rozprawy doktorskiej (11), udział w konferencjach naukowych (23), projektach badawczych (2), stażach naukowych (1) oraz otrzymane nagrody (7).

2. Ocena merytoryczna rozprawy

Recenzowana rozprawa doktorska miała na celu określenie wpływu pola ścinającego występującego w kapilarach na mechanizm i kinetykę termoindukowanej przemiany zol-żel układów polisacharydowych. Cel pracy realizowano w 3 etapach: najpierw przeprowadzono analizę wpływu obecności i kierunku pola ścinającego na warunki żelowania prowadzonego przy rosnącej temperaturze oraz w warunkach izotermicznych (etap 1), następnie

przeprowadzono rozważania teoretyczne dotyczące określenia zakresu szybkości ścinania występujących w trakcie iniekcji wraz z jego eksperymentalną weryfikacją (etap 2), badania zakończono wyjaśnieniem wpływu intensywnego pola ścinającego na kinetykę przemiany fazowej zol-żel (etap 3). Tak przyjęty i zrealizowany zakres badań stanowi kompletny cykl wyjaśniający problem postawiony w tezie rozprawy. W wyniku realizacji badań stwierdzono, że w celu zagwarantowania przejścia fazowego zol-żel w organizmie należy użyć kapilar (igły 14G-16G) o dużej średnicy (łatwa iniekcja, przyspieszone żelowanie), co jednak jest związane z dyskomfortem pacjenta (zwiększone odczucie bólu). Natomiast w przypadku stosowania kapilar o małej średnicy (igły 21G-23G) iniekcja może być trudna (chitozan) lub niemożliwa (HPC) a także może dochodzić do rozpadu aglomeratów polimerowych w wyniku działania dużych naprężeń ścinających.

Stwierdzam, że mgr inż. Anna Rył zrealizowała wyznaczone w pracy cele, wykazała się umiejętnością planowania i właściwej realizacji prac badawczych, a uzyskane wyniki stanowią istotny wkład w rozwój badań nad wykorzystaniem chitozanu i hydroksypropylcelulozy jako nośników leków podawanych pacjentom domięscowo za pomocą iniekcji. Praca posiada elementy nowości, napisana jest poprawnie. Publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w czasopismach z listy WoS takich jak: Chemical and Process Eng. (IF 0,66), Polymers (IF 4,33), Int. J. Molecular Sci (IF 5.92), Carbohydrate Polymers (IF 9.38).

Oceniając aspekty poznawcze rozprawy doktorskiej, za istotne osiągnięcia Doktoranta można uznać:

- określenie wpływu rodzaju deformacji mechanicznych (rotacyjne, oscylacyjne) na zdolność żelowania oraz warunki przejścia fazowego zol-żel koloidalnych roztworów chitozanu
- wyjaśnienie wpływu zewnętrznego pola ścinającego (reżim ortokinetyczny) na agregację układów chitozanowych
- wyjaśnienie spontanicznego żelowania chitozanu w trakcie pomiarów reologicznych w układzie rotacyjnym (zmiana konformacji cząsteczek chitozanu spowodowana ich deformacją i uporządkowaniem wzdłuż pola ścinania)
- doświadczalną weryfikację zaproponowanego modelu prognozowania siły wtrysku w trakcie iniekcji opartego wyłącznie na rozrzedzaniu ścinającym materiału bez konieczności uwzględniania właściwości sprężystolepkich ośrodka (uzyskano dobrą korelację danych doświadczalnych)
- wyjaśnienie korelacji między szybkością ścinania w trakcie iniekcji a czasem żelowania w przypadku stosowania hydroksypropylcelulozy oraz roztworów chitozanu oraz powiązanie tych obserwacji z własnościami tiksotropowymi badanych układów

W trakcie czytania pracy nasuwają się jednak pewne pytania mające na celu dyskusję zagadnień będących przedmiotem rozprawy.

1. W pracy brak informacji czy chitozan po rozpuszczeniu w HCl był jeszcze filtrowany. Obecność nierozpuszczonych cząsteczek polimeru mogła istotnie wpływać na wyniki pomiarów.
2. W badaniach skupiono się na iniekcji do organizmu materiału za pośrednictwem igieł o różnej średnicy. Należy jednak pamiętać, że materiał jest pobierany do strzykawki również za pośrednictwem igły. Powstaje zatem pytanie, czy pobranie materiału do strzykawki

- będzie miało wpływ na późniejszą przemianę fazową zol-żel po iniekcji do organizmu (problem dwukrotnego przejścia roztworu przez kapilarę).
3. W pracy wykorzystano chitozan o stosunkowo zbliżonych masach cząsteczkowych (680 kDa i 862 kDa). Jak zachowywałby się w trakcie iniekcji chitozan o masie cząsteczkowej znacznie niższej (300-400 kDa) oraz o masie znacznie wyższej (1000-1500 kDa).

Uwagi o charakterze edytorskim:

1. Należałoby się zastanowić czy cała rozprawa nie powinna być napisana w j. angielskim, gdyż w chwili obecnej część pracy napisana jest w j. polskim, natomiast publikacje stanowiące podstawę rozprawy zamieszczone są w j. angielskim;
2. Zakres pracy (p. 3.3.) zawiera oprócz określenia zakresu prowadzonych badań także wstępne omówienie uzyskanych wyników; rozdzielenie zakresu od omawiania wyników poprawiłoby odbiór pracy.

Uwagi przedstawione powyżej, poczynione z obowiązku recenzenta, nie umniejszają wartości poznawczej rozprawy.

Wspomnieć także należy, że sumaryczny IF publikacji autorstwa Anny Rył wynosi 35,47 (1120 pkt MEiN). Doktorantka posiada indeks Hirscha wynoszący 4 (Scopus, stan na 18.06.2022) oraz 19 cytowań (bez autocytowań).

3. Wniosek końcowy

Praca nie budzi zastrzeżeń zarówno pod względem formalnym, jaki i merytorycznym. Została sformułowana poprawnie i wnosi wiele elementów nowości naukowej. Analiza danych doświadczalnych jest prawidłowa. Uzyskane wyniki poszerzają wiedzę na temat możliwości wykorzystania polisacharydów ulegających w warunkach fizjologicznych przemianie zol-żel jako nośników leków. Opracowanie stanowi oryginalny i samodzielny dorobek autora.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska p. mgr inż. Anny Katarzyny Rył spełnia wymagania formalne w odniesieniu do pracy doktorskiej, odpowiada wymogom ustawy o tytule i stopniach naukowych z dnia 14 marca 2003 (Dz. Ustaw nr 65 poz., 595 wraz z późniejszymi zmianami). Zwracam się, zatem do Rady Naukowej Wydziału Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska Politechniki Łódzkiej o przyjęcie pracy oraz dopuszczenie p. mgr inż. Anny Katarzyny Rył do dalszych etapów postępowania przewidzianego w przewodzie doktorskim. Jednocześnie wysoko oceniając przedstawioną do oceny rozprawę wnioskuję o wyróżnienie przedstawionej pracy.