

Prof. dr hab. Piotr Sobota  
Centrum Badawczo-Rozwojowe NOVASOME  
Grupa HASCO we Wrocławiu  
E-mail:piotr.sobota@chem.uni.wroc.pl

Wrocław 09. 11. 2017r

### **Ocena**

rozprawy doktorskiej mgr inż. Łukasza Lamcha  
pt. „*Synteza i właściwości nowych funkcjonalizowanych micel polimerowych o znaczeniu terapeutycznym*”

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska mgr inż. Łukasza Lamcha została wykonana w Zakładzie Technologii Organicznej i Farmaceutycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej, pod kierownictwem prof. dr hab. inż. Kazimierzy A. Wilk. Projektowanie i synteza nowych materiałów mających zastosowanie w wielu dziedzinach, takich jak medycyna, elektronika, nowe źródła energii i wielu innych, wytyczają nowoczesne kierunki rozwoju technologii chemicznej i inżynierii materiałowej. Współczesne badania w w/w zakresie dotyczą w dużej mierze syntezy biokompatybilnych i bioaktywnych materiałów mających zastosowanie w medycynie. Pożądane jest, aby lek docierał do miejsc działania w określonym stężeniu, oraz aby terapeutyczna dawka pozostała niezmienna przez wystarczająco długi czas, niezbędny do osiągnięcia żadanego efektu. W rzeczywistości jednak, działanie środków farmaceutycznych ograniczone jest przez degradację związków przed osiągnięciem celu, przez działanie na inne komórki i niezdolności do penetracji tkanek wynikająca z natury chemicznej. Z tych powodów poszukiwane są nowe rozwiązania, wykazujące zwiększoną odpowiedź farmakologiczną. Jednym z takich rozwiązań jest stosowanie układów nośnikowych opartych na polimerach. Różnorodność budowy chemicznej związków polimerowych i zdolność dołączenia się makrocząsteczek w określone struktury daje ogromne możliwości w zakresie projektowania nowoczesnych, bardzo efektywnych nośników leków, biofarmaceutyków lub materiałów dla inżynierii tkankowej. Stosowane obecnie w onkologii klinicznej metody, takie jak radio- czy chemioterapia, nie działają selektywnie na tkankę nowotworową, co prowadzi do licznych powikłań związanych z uszkodzeniem zdrowych tkanek. Dlatego też nowa, obecnie jeszcze powszechnie niestosowana terapia fotodynamiczna – PDT (ang. *photodynamic therapy*), wydaje się w tym aspekcie bardzo obiecującą. Metoda ta opiera się na wykorzystaniu światłoczułych związków, które selektywnie kumulują się w tkance nowotworowej. PDT jest procedurą kilkuetapową, której skuteczność zależy od indukcji reakcji fotocytotoksycznych, będących wynikiem aktywacji światłem zaaplikowanego wcześniej fotouczulacza. Dlatego też badania nowych generacji nanoosiłków substancji leczniczych obejmują procesy solubilizacji i enkapsulacji

związków hydrofobowych w systemach dostarczania docelowego leków (ang. *drug delivery systems*, DDS), takich jak nanocząstki, nanokapsuły, liposomy, micelle polimerowe oraz inne układy micelarne, i mogą nie tylko umożliwić zwiększenie biodostępności i biodystrybucji dla oddziaływań selektywnych z tkanką nowotworową, ale również spowodować obniżenie kosztów całkowitych terapii. Badania te prowadzi z dużym powodzeniem promotor niniejszej pracy, prof. dr hab. inż. Kazimiera A. Wilk. Wpisują się one w światowy nurt badań i stanowią duże wyzwanie naukowe. Jest to projekt interdyscyplinarny z zakresu chemii i inżynierii materiałowej oraz technologii chemicznej. Praca doktorska mgr inż. Łukasza Lamcha dotyczy badań nad syntezą i właściwościami nowych funkcjonalizowanych micel polimerowych o znaczeniu terapeutycznym, zdolnych do solubilizacji substancji aktywnych, a także określenia miejsca ich lokalizacji w nanonośnikach. Badania te mają zarówno charakter podstawowy, jak i aplikacyjny. Dlatego też podjęcie ich uważam za ważne i w pełni uzasadnione.

Praca jest obszerna i liczy **175** stron, a układ rozprawy jest klasyczny. Składa się ona z wprowadzenia, streszczenia, przeglądu literaturowego, prezentacji celu pracy, części eksperymentalnej, opisu i dyskusji wyników badań własnych oraz spisu cytowanej literatury. W dwustronicowym wprowadzeniu Autor podaje ogólne założenia pracy, które następnie precyzuje w rozdziale zatytułowanym „Cele i założenia pracy”. Rozdział ten jest poprzedzony **65**-stronicowym przeglądem literatury, związanej z tematyką rozprawy. Przegląd literatury podzielono na trzy podrozdziały. W pierwszym z nich omówiono metody otrzymywania kopolimerów blokowych, ich właściwości oraz zdolność do tworzenia micel polimerowych. W przypadku, gdy micelle tworzą się w układach zawierających lek, można uzyskać system, w którym lek będzie zamknięty w ich rdzeniu. Łatwość formowania micel polimerowych zawierających leki, enkapsulowane w ich wnętrzu, oraz ogromna różnorodność związków polimerowych o właściwościach ułatwiających proces micelizacji spowodowała, że struktury micelarne otrzymywane z polimerów zarówno naturalnych (biopolimerów), jak i syntetycznych, są coraz częściej stosowane jako nośniki leków oraz używane jako prekursorzy nanostruktur polimerowych pod kątem potencjalnych zastosowań w różnych dziedzinach medycyny, farmacji, katalizie chemicznej i inżynierii materiałowej.

W drugim podrozdziale mgr inż. Łukasz Lamch omawia szczegółowo metody otrzymywania i właściwości micel polimerowych, sposób enkapsulowania substancji aktywnych i metod funkcjonalizowania micel polimerowych oraz ich koniugacji z substancjami aktywnymi. Trzeci podrozdział to omówienie związków chemicznych, stosowanych jako fotouczulacze, które wykazują zdolność do przenoszenia energii



promieniowania świetlnego. Terapia fotodynamiczna (ang. PDT-*photodynamic therapy*) jest metodą leczenia, w której komórki rakowe, uczulone uprzednio na światło, można zniszczyć poprzez ich naświetlanie. Metoda ta jest już stosowana w Japonii, USA, Kanadzie, Australii, a także w niektórych krajach Unii Europejskiej. W terapii fotodynamicznej można wyróżnić trzy kluczowe elementy: fotouczulacz, światło o odpowiedniej długości fali i tlen. Nanomateriały w połączeniu z fotouczulaczami mogą zwiększyć wydajność terapii fotodynamicznej oraz eliminować jej efekty uboczne. Co więcej, dzięki manipulacji rozmiarami nanocząsteczek, można uniknąć przedostawania się toksycznego fotosensybilizatora do zdrowych tkanek. W rozdziale tym szczegółowo omówiono przykłady różnych związków chemicznych, a także ich struktur, wraz z możliwością ich enkapsulowania w nanonośnikach. Część literaturową pracy oceniam bardzo dobrze. Jest to kompetentnie napisany rozdział, który w pełni zasługuje na wyróżnienie. W tej części rozprawy zacytowano 165 pozycji literaturowych, z ogólnej liczby 234 cytowanych w całej pracy.

Druga część rozprawy (24 stron) obejmuje część doświadczalną. Zamieszczono tutaj opisy stosowanych reagentów i rozpuszczalników oraz sposoby ich przygotowania do reakcji. Identyfikacji i oceny czystości stosowanych reagentów Autor dokonał za pomocą metod badawczych:  $^1\text{H}$  NMR, FT-IR, UV-Vis. Przedstawione wyniki badań pozwalają stwierdzić, że prawidłowo zidentyfikował i scharakteryzował otrzymane związki. Różnorodność przeprowadzonych reakcji oraz wszechstronność stosowanych technik badawczych świadczy o dużym talencie eksperymentatorskim Doktoranta.

Trzecia część rozprawy (70 stron) obejmuje wyniki własne i dyskusję. Z przedstawionego obszernego omówienia wynika, że praca doktorska mgr inż. Łukasza Lamcha zawiera bogaty i dobrze udokumentowany materiał doświadczalny. Tematyka badawcza jest ważna i aktualna, a uzyskane wyniki są oryginalne i stanowią istotny wkład w poznanie mechanizmu i metod syntezy micel o hydrofobowym rdzeniu i hydrofilowej otoczce, powstające w wyniku agregacji (samoorganizacji) makrocząsteczek, w tym amfifilowych kopolimerów blokowych. Podstawą sukcesu recenzowanej rozprawy doktorskiej był trafny, świadczący o dużej intuicji naukowej wybór odpowiednich bloków budulcowych do konstruowania DDS typu miceli polimerowych, a także otrzymanie nanonośników o ściśle określonych rozmiarach, w celu uzyskania możliwości przenikania przez różne bariery fizjologiczne i selektywnej akumulacji w określonym środowisku wewnątrz- i zewnątrzkomórkowym. Świadczy to o dojrzałości naukowej Autora, który wykazał się umiejętnością syntetycznego ujmowania problemu w dyskusji naukowej.

Rozprawa jest obszerna i zawiera wiele ważnych i istotnych osiągnięć, których nie sposób omówić w ramach recenzji. Dlatego wymienię tylko, moim zadaniem, najważniejsze. Do szczególnych osiągnięć Autora należy zaliczyć opracowanie metod syntezy funkcjonalizowanych kopolimerów blokowych, przeznaczonych do formowania biokompatybilnych micel polimerowych. Doktorant wykazał, że otrzymane kopolimery zbudowane są z hydrofilowego łańcucha poli(tlenku etylenu) oraz hydrofobowej części poliestrowej jak poli(X-laktydu) ( $X = L, D, LD$ ) lub polikaprolaktonu (PCL) i są modyfikowane poprzez enkapsulację fotouczulacza z grupy ftalocyjanin cynku o zróżnicowanej hydrofobowości, oraz cytostatyku kolchicyny. Innym niezwykle ważnym osiągnięciem Doktoranta są unikatowe badania micel polimerowych, otrzymanych w wyniku procesów samoorganizacji funkcjonalizowanych kopolimerów blokowych i mieszanych, posiadających cechy ważne z punktu widzenia projektowania nowoczesnych efektywnych nośników leków, biofarmaceutyków oraz materiałów dla inżynierii tkankowej. Posiadają one niewielkie rozmiary: w granicach 100 nm. Badania ich morfologii metodą dynamicznego rozpraszania światła (ang. *dynamic light scattering*, DLS) oraz mikroskopii sił atomowych (ang. *atomic force microscopy*, AFM) – wykazały sferyczny kształt oraz odpowiednie średnice hydrodynamiczne otrzymanych micel polimerowych. Natomiast badania procesów solubilizacji z wykorzystaniem spektroskopii w zakresie światła widzialnego i bliskiego ultrafioletu (UV-Vis) potwierdziły, że otrzymane micelle polimerowe mogą być wykorzystane jako efektywne nanonośniki leków, cechujące się dobrą wydajnością solubilizacji substancji aktywnej. Enkapsułowane w micelach polimerowych fotouczulacze wykazują się dobrą stabilnością koloidalną co znacząco poprawia ich właściwości terapeutyczne.


Praca napisana została bardzo dobrze i nie sprawia trudności czytającemu. Niestety, zauważyłem pewne niedociągnięcia, które z obowiązku recenzenta muszę wymienić. Doktorant wielokrotnie używa potocznych sformułowań, takich jak np: „scharakteryzowane w aspekcie”, „zjawisk związanych z solubilizacją”, „na drodze samoorganizacji”, „nierozpuszczalnik”, „niewielkim rozrzutem rozmiarów”, „wykazuje doskonałą mieszalność”, „właściwości agregujące”, „flankowany przez dwa łańcuchy hydrofobowe”, „zawiera niekiedy”, „architekturę liniową”, „istotnych celów”, „przy fabrykowaniu nanofotouczulaczy”, „przefiltrowano”, „pustych oraz załadowanych ZnPc” itp. Przedstawione powyżej usterki wynikają zapewne z tego, że jest to nowa dziedzina chemii, o nieustalonej do końca nomenklaturze, i nie mają istotnego wpływu na ostateczną, pozytywną ocenę pracy doktorskiej mgr inż. Łukasza Lamcha. Włożył on wiele wysiłku w uzyskanie możliwie dużej



liczby informacji o niezmiernie skomplikowanych procesach chemicznych. Opanował liczne metody fizykochemiczne i umiejętnie je zastosował w swoich badaniach, a część przedstawionych wyników opublikował w 10 dobrych czasopismach o zasięgu światowym, z czego 6 wchodzi w zakres pracy doktorskiej. Jest również współautorem patentu i zgłoszenia patentowego oraz publikacji książkowej. Doktorant przedstawił także swoje wyniki na 9 konferencjach krajowych i zagranicznych.

Praca ta posiada fundamentalne znaczenie dla rozwoju innowacyjnych systemów dostarczania leków. Znalazły one szerokie zastosowanie w medycynie, a w szczególności w innowacyjnych systemach dostarczania leków. Korzyści płynące ze stosowania polimerów wnikają przede wszystkim z tego, iż polimery wykazują lepszy profil farmakokinetyczny w porównaniu z molekułami drobnocząsteczkowymi. Oprócz dłuższego czasu trwania, wykazują również wysoki potencjał w stosunku do docelowych tkanek. Synteza nowych bloków, kopolimerów i projektowanie nowych kombinacji polimerów będzie tak długo ulepszać system dostarczania leków, aż osiągnięty zostanie właściwy profil biodostępności i kontrolowanego uwalniania leku. Podjęcie przez Autora tak zaplanowanych badań uznaję za przedsięwzięcie ważne, w pełni uzasadnione, poszerzające w znacznym stopniu wiedzę na temat możliwości połączenia różnych komponentów w jeden materiał, działający selektywnie na tkankę nowotworową. Porównując cel i założenia pracy z przedstawionymi wynikami badań, mogę z przekonaniem stwierdzić, że plan badań został w pełni zrealizowany. Dlatego też z całym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska pt. *„Synteza i właściwości nowych funkcjonalizowanych micel polimerowych o znaczeniu terapeutycznym”* spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę o Nadaniu Stopni i Tytułów Naukowych i zawiera wszystkie elementy podane w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie mgr inż. Łukasza Lamcha do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie, biorąc pod uwagę niezwykle obszerny i wartościowy materiał zaprezentowany w pracy, o ogromnym znaczeniu poznawczym, udokumentowanym licznymi publikacjami w czasopismach o zasięgu światowym, wnoszę o uznanie pracy doktorskiej mgr inż. Łukasza Lamcha za wyróżnioną.

  
Prof. dr hab. Piotr Sobota