

**dr hab. inż. Małgorzata M. Jaworska, prof. PW**

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

Politechnika Warszawska

**Recenzja rozprawy doktorskiej mg inż. Marii WIŚNIEWSKIEJ-WRONA  
pt. „BADANIA NAD OPRACOWANIEM FUNKCJONALNYCH  
BIOKOMPOZYTÓW POLIMEROWYCH DO LECZENIA RAN”**

**Promotor: prof. dr hab. Mirosława El Fray**

**1. Treść i zakres rozprawy doktorskiej**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska poświęcona jest opracowaniu transdermalnego systemu terapeutycznemu pozwalającemu na kontrolowane uwalnianie leków. W rozprawie przedstawiono materiały biokompozytowe na bazie chitozanu, alginianu oraz karboksymetylocelulozy przygotowane w formie jedno-, dwu-, i trójwarstwowego filmu. Do badań wybrano następujące substancje lecznicze: sulfanilamid (środek bakteriostatyczny), chloramfenikol (środek bakteriostatyczny), siarczan cynku siedmiowodny (środek immunostymulujący), lidokaina (lek o działaniu znieczulającym) oraz chlorowoderek lidokainy (lek o działaniu znieczulającym). Taki dobór leków związany jest z potencjalnym zastosowaniem opracowanych biokompozytów jako materiałów opatrunkowych w leczeniu trudno gojących się ran ze szczególnym przeznaczeniem do leczenia ran odleżynowych. Problem ran odleżynowych dotyczy pacjentów długotrwale unieruchomionych w wyniku wypadków lub choroby. Dochodzi wtedy do martwicy tkanek spowodowaną nieprawidłowym ukrwieniem tkanek. Dodatkowo uszkodzona skóra nie stanowi bariery dla mikroorganizmów patogennych i dochodzi często do zakażenia, co znacznie utrudnia proces gojenia się rany. Rany odleżynowe są zatem nie tylko trudno gojące, ale także bardzo bolesne. Zatem opracowanie materiału opatrunkowego, który nie tylko przyspieszałby gojenie ran, ale także działał znieczulająco wydaje się niezwykle istotne dla dużej grupy pacjentów, szczególnie tych w podeszłym wieku często trwale unieruchomionych w łóżku. Tematykę badań uważam za niezwykle istotną, mającą duże zapotrzebowanie społeczne.

Doktorantka w swojej pracy zwróciła szczególną uwagę na biopolimery naturalne: chitozan, alginian sodu czy karboksymetyloceluloza, które posiadają niezwykle istotne właściwości takie jak: biogodność, biodegradowalność, zdolność do przyspieszania gojenia się ran, stymulację mechanizmów odpornościowych organizmu, działanie bakteriostatyczne. Wybór materiałów stanowiących nośnik dla środków farmaceutycznych uważam za bardzo trafny.

Wytworzone opatrunki transdermalne zostały scharakteryzowane z wykorzystaniem nowoczesnych technik pomiarowych takich jak spektroskopia w podczerwieni (FTIR), analiza termiczna (DSC), analiza termiczna dynamicznych właściwości mechanicznych

(DMTA), magnetyczny rezonans jądrowy (NMR <sup>13</sup>C). Na podstawie tych badań wnioskowano o strukturze i rodzaju oddziaływań między biopolimerami oraz między biopolimerami i substancjami farmakologicznymi. Zbadano także elastyczność i rozciągliwość przygotowanych biokompozytów a także transmisję par wilgoci, chłonność, sorpcję wody oraz podatność na degradację hydrolityczną oraz enzymatyczną (właściwości te decydują o cechach użytkowych opatrunków). W kolejnym etapie badań określono tempo uwalniania wybranych substancji leczniczych wykazując, że proces jest procesem złożonym, przebiegającym zgodnie z kinetyką pierwszorzędową. Zbadano także działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze opracowanych biokompozytów z dodatkiem sulfanilamidu, siarczanu cynku oraz lidokainy wykazując, że testowane materiały wykazują działanie bakteriostatyczne zarówno względem bakterii Gram (+) (*Staphylococcus aureus*) jak i bakterii Gram (-) (*Escherichia coli*). Wybrane opatrunki o najlepszych cechach poddano także ocenie cytotoksyczności wykazując, że nie wpływają one negatywnie na fibroblasty mysie linii NCTC klon 929 (ATCC).

Praca podzielona została na dwie części: część literaturową (5 rozdziałów) i część eksperymentalną (10 rozdziałów) uzupełnione spisem literatury, spisem tabel, spisem rysunków oraz dorobkiem naukowym Doktorantki. W części literaturowej Doktorantka omówiła problem ran odleżynowych, proces gojenia się ran, budowę i podział systemów transdermalnych, biopolimery stosowane w pracy (chitozan, alginian, sól sodową karboksymetylocelulozę) a także substancje farmakologiczne stosowane w badaniach (sulfanilamid, chloramfenikol, siarczan cynku, lidokainę i chlorowodorek lidokainy). W części eksperymentalnej przedstawiono charakterystykę stosowanych materiałów i odczynników (biopolimery, substancje lecznicze, enzymy, wzorcowe szczepy mikroorganizmów, linię komórkową fibroblastów mysich), stosowane metody analityczne, sposób wytwarzania kompozytów jedno-, dwu- i trójwarstwowych, oraz sposób prowadzenia badań. Wszystkie elementy zostały przedstawione w sposób wyczerpujący, pozwalający na odtworzenie i powtórzenie przeprowadzonych badań. Następnie Doktorantka zaprezentowała uzyskane wyniki badań kończąc każdy etap prac krótkim podsumowaniem. Całość dywagacji zakończono Podsumowaniem i wnioskami, zawierającym wszystkie najważniejsze osiągnięcia zawarte w rozprawie. W pracy zamieszczono także dorobek naukowy Doktorantki prezentujący publikacje naukowe, patenty, udział w konferencjach naukowych, udział w grantach oraz nagrody i wyróżnienia.

Praca ma dobrą konstrukcję i prowadzi czytelnika przez omawiane i badane zagadnienia. Cel i zakres pracy zostały wyraźnie określone, zaś przedstawione wyniki badań pozwalają stwierdzić, że zamiary zostały osiągnięte.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska p. mgr inż. Marii Wiśniewskiej-Wrona liczy 217 stron z licznymi rysunkami, tabelami, streszczeniem, spisem literatury.

## **2. Ocena merytoryczna rozprawy**

Rozprawa doktorska p. Marii Wiśniewskiej-Wrona rozpoczyna się od przedstawienia problemu trudno gojących się ran odleżynowych, przedstawienia podstawowych informacji na temat wykorzystywanych polimerów naturalnych oraz substancji farmakologicznych. Należy szczególnie podkreślić fakt, że Doktorantka bardzo umiejętnie wybrała i przedstawiła dane literaturowe prezentując jedynie te informacje, które są niezbędne dla śledzenia toku

pracy. Biorąc pod uwagę, że tematyka polimerów naturalnych jest bardzo obszerna, umiejętność wybrania informacji istotnych dla rozprawy była niezwykle ważna. Doktorantka w pełni sobie z tym poradziła, w dojrzały i analityczny sposób prezentując najważniejsze informacje.

Część eksperymentalna zawiera wyczerpujące informacje na temat wykorzystywanych związków, sposobu wytwarzania biokompozytów, metod pomiarowych i badawczych. Podkreślić należy, że charakteryzacja biokompozytów nie ograniczała się jedynie do badań fizyko-chemicznych, ale obejmowała także testy elastyczności, wytrzymałości oraz zdolności dopasowania się do rany, co jest niezwykle ważne z punktu widzenia ich zastosowania jako transdermalnych systemów terapeutycznych. Badania uwzględniały także degradację hydrolityczną, degradację enzymatyczną, określenie właściwości biostatycznych oraz cytotoksyczności. Metody wykorzystywane w badaniach biologicznych były metodami zalecanym przez Farmakopeę Polską lub publikowanymi w normach. Dodatkowo metody wykorzystywane w analizach fizyko-chemicznych były oparte o najnowsze techniki analityczne (GPC/SEC, FTIR, NMR, DSC, DMTA, SEM). Doktorantka swobodnie porusza się we wszystkich technikach i to zarówno fizyko-chemicznych jak i biologicznych. Sposób wykonywania analiz jest dokładnie opisany i świadczy o dużej znajomości wykorzystywanych technik.

Prezentację wyników badań Doktorantka rozpoczęła od analizy struktury jedno-, dwu- i trójwarstwowych transdermalnych systemów terapeutycznych. Zbadano także wpływ dodatku substancji farmakologicznych na ich własności oraz określono sposób wiązania tych związków z biopolimerami. Stwierdziła, że rodzaj interakcji zależy od dodanej substancji, co również ma wpływ na szybkość uwalniania leku do środowiska. Rodzaj dodanego leku wpływa także na właściwości sorpcyjne i chłonne oraz degradację hydrolityczną i enzymatyczną. Na podstawie tych badań wytypowano systemy najlepiej spełniające wymagania stawiane transdermalnym systemom terapeutycznym (opatrunek dwuskładnikowy CH/1/ALG/3/Lid, opatrunek trójskładnikowy CH/2/ALG/KMC/2/Lid, opatrunek dwuskładnikowy CH/1/ALG/3/Sul, i opatrunek dwuskładnikowy CH/1/ALG/3/Lid) i te układy poddano badaniom biologicznym obejmującym badania aktywności przeciwbakteryjnym wobec bakterii Gram(+) i Gram (-) oraz badaniom cytotoksyczności względem fibroblastów mysich NCTC klon 929. Doktorantka wykazała, że wszystkie systemy terapeutyczne wykazują własności bakteriostatyczne i nie wykazują własności cytotoksycznych. Można, zatem stwierdzić, że opracowane materiały biokompozytowe spełniają podstawowe wymagania użytkowe stawiane funkcjonalnym opatrunkom stosowanym do leczenia trudno gojących się ran odleżynowych.

Za niezwykle istotne należy uznać całościowe podejście Doktorantki do tematu. Zaprezentowane badania rozpoczynają się, bowiem badaniami o charakterze badań podstawowych (badania fizyko-chemiczne), zaś kończą badaniami o charakterze aplikacyjnym (charakteryzacja użytkowa i biologiczna materiałów). Takie podejście do tematu świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki. Stwierdzam, że mgr inż. Maria Wiśniewska-Wrona 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 polimerów naturalnych do leczenia trudno gojących się ran. Praca posiada wiele elementów nowości naukowych. Na uwagę zasługuje

także **znacznie przekraczający** wymagania stawiane doktorantom dorobek naukowy mgr inż. Wiśniewskiej Wrona. Dorobek ten obejmuje 58 publikacji naukowych (31 publikacji z „listy filadelfijskiej”), 26 wystąpień na konferencjach międzynarodowych, 79 wystąpień na konferencjach i seminariach krajowych, udział w 20 krajowych i międzynarodowych projektach badawczych (3 razy pełniła rolę kierownika projektu, 1 raz koordynatora), zrealizowała 12 projektów badawczych finansowanych z działalności statutowej IBWCh, jest autorem 4 przyznanych patentów (1 patent międzynarodowy), autorką 13 zgłoszeń patentowych (1 zgłoszenie międzynarodowe), laureatką 6 nagród, medali i wyróżnień za osiągnięcia w działalności naukowo-badawczej.

Indeks Hirsha Doktorantki wynosi 6, a liczba cytowań bez autocytowań 83 (wg bazy Scopus).

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

1. opracowanie jedno-, dwu- i trójwarstwowych materiałów opatrunkowych stanowiących nośnik dla substancji leczniczych,
2. określenie budowy chemicznej i struktury fazowej wytworzonych opatrunków,
3. określenie szybkości degradacji hydrolitycznej i enzymatycznej wytworzonych opatrunków,
4. wyznaczenie szybkości uwalniania wybranych leków z matryc opatrunkowych oraz określenie kinetyki ich uwalniania w temperaturze 37°C,
5. określenie aktywności antybakteryjnej oraz cytotoksyczności wybranych transdermalnych systemów terapeutycznych.

Badania przeprowadzone w pracy zostały przedstawione w sposób jasny, wyczerpujący, pozwalający na ich odtworzenie, zaś wnioski wysnute na ich podstawie są prawidłowe i nie budzą wątpliwości. W trakcie czytania wszystkie ewentualne wątpliwości zostały wyjaśnione i z tego względu praca nie wymaga uzupełnień czy komentarzy.

### **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 tworzenia opatrunków przeznaczonych do leczenia trudno gojących się raz ze szczególnym naciskiem na rany odleżynowe.. Opracowanie stanowi oryginalny i samodzielny dorobek autorki.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska p. mgr inż. Marii Wiśniewskiej-Wrona 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 Technologii i Inżynierii Chemicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o przyjęcie pracy oraz dopuszczenie p. mgr inż. Marii Wiśniewskiej-Wrona do dalszych etapów postępowania przewidzianego w przewodzie doktorskim. Jednocześnie wysoko oceniając całościowe podejście do problemu wnioskuje o wyróżnienie przedstawionej pracy.