



Wydział Chemii
Uniwersytetu Warszawskiego
Prof. dr hab. Renata Bilewicz

23-12-2014, Warszawa

Recenzja rozprawy doktorskiej
Magister Krystyny Kijewskiej

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Krystyny Kijewskiej p.t. „Fotopolimeryzacja pirolu-synteza matrycowa struktur polimerowych” została wykonana w Pracowni Elektrochemii Zakładu Chemii Fizycznej na Wydziale Chemii UW pod kierunkiem dr hab. Macieja Mazura.

Poszukiwanie nowych typów nano- i mezo- struktur to jedno z ważniejszych zagadnień współczesnej chemii nowych materiałów. Stosuje się je do tworzenia materiałów wielowarstwowych, warstw katalitycznych, sensorowych, nośników barwników, gazów i leków. Jako główny składnik budulcowy tak tworzonych materiałów często stosowane są polimery. Zależnie od przeznaczenia struktury mogą mieć różny kształt, a także można je modyfikować, aby nadać im określone właściwości. Tematyka pracy jest więc ważna i aktualna. Celem pracy doktorskiej Pani Krystyny Kijewskiej było opracowanie syntezy polipirolowych struktur kapsułkowych, ich charakterystyka strukturalna i fizykochemiczna oraz badania możliwości ich zastosowania w enkapsulacji barwników, inhibitora kapu RNA i nanocząstek metalicznych lub z tlenku metalu

Praca składa się z części wstępnej, w której określono cel pracy, 43 stron Części Literaturowej, po której na 107 stronach Doktorantka opisała swoje badania i zakończyła je Podsumowaniem. Bibliografią jest bogata i zawiera 122 odnośniki ściśle związane z tematyką pracy. W części literaturowej na uwagę zasługują podrozdziały poświęcone strukturom polimerowym i metodom ich syntezy szablonowej. Poznajemy metody tworzenia polimerowej otoczki na różnego rodzaju miękkich i twardych templatach (szablonach?), nawet na pęcherzykach gazu – zdjęcia są wyjątkowo atrakcyjne. Ta część pracy potraktowana jest bardzo szczegółowo i nadaje się na dobrą pracę przeglądową, będąc odbiciem stanu wiedzy na dzień dzisiejszy w dziedzinie

templatowych metod przygotowania kapsułek. Autorka opisuje także wszystkie metody usuwania szablonów w celu pozostawienia samej otoczki, czyli pustej kapsułki.

Następny rozdział zawiera opis metod zamykania w kapsułkach wybranych substancji – leków, barwników, enzymów oraz nanocząstek nieorganicznych. We wszystkich rozdziałach Autorka pokazuje przydatność SEM oraz w przypadku znakowania np. fluoresceiną - mikroskopii konfokalnej fluorescencyjnej, do obrazowania takich struktur. Obecność innego typu struktur – nanocząstek metalicznych i tlenkowych np. magnetycznych w kapsułkach potwierdza przy użyciu transmisyjnego mikroskopu elektronowego.

Ważnym zagadnieniem omawianym w rozdziale 1.6 jest uwalnianie substancji umieszczonej w kapsułce. Można je wykonać stosując różne metody przełączania przez czynnik zewnętrzny (pole elektryczne, promieniowanie o określonej długości) lub prowadzić reakcje prowadzące do dezintegracji kapsułki. Doktorantka omawia szczegółowo reakcje rozszczepiania wiązań i depolimeryzacji, a także zmiany temperaturowe prowadzące do pęknięcia lub topnienia otoczki polimerowej i usunięcia zgromadzonej substancji. Autorka nie zajmuje się zagadnieniem kinetyki usuwania substancji zgromadzonej w kapsułce – powinno to mieć zasadnicze znaczenie np. w zastosowaniach biomedycznych. Zabrakło mi także rozdziału - przeglądu metod, które są szczególnie przydatne w badaniach kapsułek polimerowych. Zapoznajemy się z nimi dopiero przy okazji opisu aparatury pomiarowej stosowanej w pracy, w rozdziale II.3 i w części przedstawiającej przeprowadzone badania. A trzeba przyznać, że gama metod zastosowanych przez Autorkę do scharakteryzowania kapsułek polimerowych jest imponująca – część pomiarów była oczywiście wykonywana przez inne osoby, często współautorów publikacji doktorantki.

W rozdziale II.4 opisano przygotowanie kapsułek z roztworu i na powierzchni kwarcu metodą fotopolimeryzacji z naświetlaniem lampą rtęciową oraz napełnianie kapsułek wybraną substancją przez prosty kontakt z jej roztworem przez określony czas. Nie wiemy, dlaczego stosowano wymiennie chloroform i bromoform. Dopiero później, w rozdziale II.5 okazuje się, że fotopolimeryzacja pirolu w bromoformie przebiega szybciej i powstają dłuższe układy wiązań sprzężonych, ale Autorka nie wyjaśnia możliwych powodów obserwowanych różnic. Ogólny mechanizm reakcji fotopolimeryzacji pirolu został wyjaśniony w pracy Guyarda, więc Autorka skupiła się raczej na wykorzystaniu tej metody do otrzymywania struktur polimerowych. Ciekawe,

że tło przy wszystkich długościach fali także się zwiększa przy użyciu bromoformu bardziej, niż gdy stosuje się chloroform.

W syntezie templatowej kapsulek, doktorantka wykorzystuje krople wody w chloroformie lub krople wody osadzone na płytce kwarcu. Na granicy faz chloroform–woda fotopolimeryzuje pirol, widoczny potem wyraźnie na obrazach SEM. Woda wyparowując z kapsulek w komorze mikroskopu prowadzi jednak czasem do pękania struktur polimerowych. Autorka skupia się na tworzeniu tych nowych struktur w jak najlepszym stanie, doborze warunków i czasu procesu polimeryzacji. Są to trudne eksperymenty, ale nagrodą jest możliwość zaobserwowania efektu swojej pracy - nowego materiału o kształcie kapsulek. Pieczołowicie liczone histogramy pozwalają ocenić wielkość kapsulek polipirolowych (800-900nm). Mniejsze struktury są wypełnione polimerem a większe są puste, jak wnioskuje Autorka na podstawie zdjęć TEM. Roztworowe kapsułki są nieco mniejsze 400-600nm (SEM) a grubość ścianki polipirolowej jest rzędu 60nm (TEM).

Typowe sygnały dla widma ramanowskiego i w podczerwieni polipirolu i XPS potwierdzają tworzenie się warstw polipirolowych w procesie fotopolimeryzacji. Autorka wyjaśnia także przekonująco pochodzenie zanieczyszczeń np. chloru oraz bromu (w przypadku syntezy w bromoformie) oraz oblicza stopień domieszkowania łańcucha polipirolowego tymi jonami na podstawie wyników XPS. Badania te razem z pomiarem termograwimetrycznym dają wyczerpującą charakterystykę nowych nanostruktur, które jako puste w środku można teraz było wypełnić różnymi substancjami. Za pracą Möhwalda napelniano gotowe kapsułki barwnikiem fluorescencyjnym – rodaminą 6G w pH 2, gdyż w tych warunkach polimer staje się bardziej przepuszczalny dla cząsteczek barwnika.

W sposób przekonujący, zmieniając pH, udało się Autorce pokazać pH-zależne włączanie i wyłączanie wypływania barwnika z kapsułki, choć nie wyjaśniono natury tego zjawiska. Przypisano je ogólnie zmianom przepuszczalności membrany polipirolowej – dużej w pH niskim lub wysokim, a małej w pH zbliżonym do obojętnego. Dopiero na końcu pracy (strona 146) doktorantka wskazuje na rolę ładunku dodatniego rodaminy i jej odpychania od dodatnio naładowanej ścianki polipirolowej w roztworze o pH obojętnym. Autorka nie komentuje znaczącej zmiany wymiaru kapsułki pełnej (wypełniona ok. 400nm, obraz na stronie 90) i 4x większy - kapsułki opróżnionej). Na rysunku str. 94, brakuje mi zależności anizotropii dla rodaminy w fazie roztworu w pH 2 i 10.

Szukano także innych związków, dla których celowe byłoby wiązanie w kapsułkach. Takim układem okazał się analog kapu mRNA (wybór wynikał raczej chyba z dostępności dla Autorki tego typu związków) i w trakcie syntezy kapsulek dodawano go do roztworu wykazując potem obecność w otrzymanych kapsułkach. Znakowane selenem lub fluoresceiną cząsteczki obrazowano metodą SEM-EDS i wykazywano akumulację związku w kapsułkach. Zakładano, że fotopolimeryzacja nie wpływa negatywnie na aktywność inhibitora, co nie jest jednak dyskutowane w pracy, a jest to pewnie bardziej istotne niż niezbyt znaczące zmiany czasów reorientacji w wodzie i wewnątrz kapsułki. Rozdziałowi II.8, w którym stosowano gamę metod analizy efektywności kapsułkowania cząsteczek, brakuje wniosków zbierających te obserwacje i pokazujących przydatność procesu kapsułkowania w innych zastosowaniach wybranych związków. Dotyczy to szczególnie tak oryginalnych związków jak analogi kapu mRNA. Czy zamknięcie tego związku w kapsułce ułatwiłoby jego transport w pożądane miejsce w organizmie? Czy byłyby jakieś sposoby kontrolowania miejsca i szybkości uwalniania, czy może są jakieś inne powody kapsułkowania tych analogów.

W rozdziale II.9 trochę lepiej wyjaśniono, jakie motywy kierują Autorką w badaniach możliwości kapsułkowania nanocząstek magnetycznych lub złotych. W tym przypadku kropla ferrofluidu była szablonem w procesie kapsułkowania, a stosunkowo znaczny rozmiar nanocząstek magnetycznych uniemożliwiał ich wydobywanie się na zewnątrz kapsułki. Obecność nanocząstek potwierdzono metodami TEM, a zachowanie ich składu w kapsułce – metodami SEM-EDS, metodą fluorescencji rentgenowskiej (XRF) oraz TOF-SIMS. Imponujący zestaw metod. Metody TEM i TOF-SIMS dają też możliwości określenia gdzie w kapsułce kumulują się nanocząstki magnetyczne – głównie na granicy warstwy polipirołowej po wewnętrznej stronie kapsułki. Dlaczego głównie tam – pytanie nie znajduje propozycji wyjaśnienia. Masę nanocząstek i warstwy polimerowej określano na podstawie pomiarów termogravimetrycznych.

Zgodnie z moim oczekiwaniem, właściwości magnetyczne nanocząstek nie zmieniają się po umieszczeniu ich w kapsułkach, co potwierdziły badania magnetyzacji w 2 i 300K. Autorka nie wyjaśnia, jakich zmian i dlaczego się spodziewała w wyniku enkapsulacji cząsteczek magnetycznych, ich zachowanie nie odbiega od opisanego w pracach dotyczących paramagnetyzmu nanocząstek ferrytowych i zależności tych właściwości od temperatury.

Najciekawsze w recenzowanej pracy, wydaje się jednocześnie umieszczenie leku znakowanego barwnikiem z nanocząstkami magnetycznymi w kapsułce polipirołowej, ten fragment pracy ma bowiem istotne cechy nowości naukowej i daje możliwość kierowania dużych ilości leku w pożądane miejsce, a obecność barwnika umożliwia śledzenie tej drogi i ostatecznej lokalizacji leku.

Mgr Kijewska stosuje także kapsułki polipirołowe z nanocząstkami złota. Nie podaje jednak w żadnym miejscu pracy, jak otrzymała wodną zawiesinę nanocząstek złota modyfikowanych tiolowanym PEG w chloroformie lub bromoformie. Krople zawiesiny posłużyły jako templat do fotopolimeryzacji i utworzenia na ich powierzchni kapsułek podobnie jak w przypadku nanocząstek magnetycznych.

Termograwimetrycznie i metodą XRF Autorka ustaliła skład kapsułek, a obrazy TEM pokazały preferencyjne wbudowywanie się nanocząstek w ścianki kapsułek, potwierdzone wystąpieniem wzmocnienia powierzchniowego rozproszenia ramanowskiego, podobnie jak to ma miejsce dla substancji zaadsorbowanych na chropowatych powierzchniach metalicznych. Gdy do kapsułki jednocześnie wprowadzony zostaje barwnik, obserwuje się częściowe wygaszanie fluorescencji, ale zachowane są właściwości pH-zależnego transportu barwnika przez ścianki polipirołowe. Autorka pokazuje też, że działaniem ultradźwięków można doprowadzić do zniszczenia kapsułek, szczególnie, gdy zawierają one nanocząstki złota. Nie wiem, jakie to miałyby zastosowanie w przypadku barwników i nanocząstek w mikrokapsułkach, ale mogłoby być przydatne w przypadku kapsułkowania leków jednocześnie z nanocząstkami magnetycznymi, szczególnie dla tych leków, których nie można usuwać z kapsułki w wyniku odpowiedniej zmiany pH. Usuwanie badanego inhibitora – analogu kapu mRNA z kapsułki modyfikowanej nanocząstkami następuje samoistnie. Uwalnianie śledzono fluorymetrycznie wyznaczając zmianę intensywności fluorescencji w roztworze zewnętrznym w czasie. Otrzymane wyniki dają nadzieje na zastosowania polimerowych kapsułek do stabilizowania nietrwałych leków podobnych do kapu mRNA i ich uwalniania w miejscu przeznaczenia, bez degradacji leku.

Podsumowując pracę doktorską pani mgr Kijewskiej uważam, że jest to wartościowy i poważny wkład w dziedzinie wykorzystania materiałów polimerowych, wśród których te, o potencjalnych zastosowaniach w diagnostyce i terapii medycznej budzą obecnie szczególne zainteresowanie.

Pozytywnie oceniam sumienność eksperymentalną Autorki i trud włożony w określenie właściwości mikrokapsułek polimerowych i zbadanie ich zdolności do

zamykania cząsteczek i nanocząstek, lub jednych i drugich naraz, a także rzeczowy i jasny opis przeprowadzonych badań. Doktorantka uzyskała w czasie swojej pracy umiejętności analizowania wyników pomiarów wyjątkowo szeroką gamą metod, w szczególności obrazów mikroskopowych badanych układów i jest obecnie w tej dziedzinie wysokiej klasy specjalistą.

Pani mgr Krystyna Kijewska jest współautorką 11 publikacji w bardzo dobrych czasopismach naukowych, prawie wszystkie dotyczą mikrokapsulek polipirołowych i ich zastosowań. Jej wkład w dopracowanie syntezy kapsuł polimerowych i ich charakterystykę jest niepodważalny i musi budzić uznanie. Praca jest także perfekcyjnie przygotowana pod względem edytorskim – błędów i literówek jest bardzo mało; na podkreślenie zasługuje jakość prezentowanych obrazów mikroskopowych.

W oparciu o przeprowadzoną analizę rozprawy stwierdzam, że praca mgr dr Krystyny Kijewskiej spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim przez Ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym i wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Dzięki Jej pracy (oraz innych w zespole dr hab. Macieja Mazura) nastąpił niewątpliwy postęp w naszym rozumieniu właściwości kapsulek polimerowych i procesów zamykania w nich różnych substancji. Dlatego też zgłaszam wniosek o wyróżnienie pracy.

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'RBilewicz', with a stylized, cursive script.

Renata Bilewicz



Prof. dr hab. Maria Nowakowska
Wydział Chemii
Uniwersytet Jagielloński
ul. R. Ingardena 3
tel: (48 12) 663 2250
email:nowakows@chemia.uj.edu.pl

O C E N A

**pracy doktorskiej Pani mgr Krystyny Kijewskiej
zatytułowanej: „Fotopolimeryzacja pirolu – synteza matrycowa struktur
polimerowych”**

Praca doktorska Pani mgr Krystyny Kijewskiej została przygotowana w Pracowni Elektrochemii Zakładu Chemii Fizycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, pod opieką promotorską Pana dr hab. Macieja Mazura.

Celem badań zrealizowanych w ramach niniejszej rozprawy była synteza mikrokapsulek polipirolowych metodą fotopolimeryzacji prowadzonej na kroplach cieczy pełniących funkcję szablonów, określenie właściwości fizykochemicznych otrzymanych obiektów oraz ich modyfikacji poprzez wprowadzenie nanocząstek nieorganicznych, a także

opracowanie metodologii zamykania i uwalniania z ich wnętrza cząsteczek modelowych związków organicznych.

Cel pracy został dobrze zdefiniowany a tematyka prowadzonych badań wpisuje się w aktualne, światowe trendy badawcze. W ostatnich latach obserwuje się duże zainteresowanie syntezą dobrze zdefiniowanych układów nano/mikrostrukturalnych tak w kontekście badań czysto poznawczych jak i aplikacyjnych. Rozwijane są nowe metody syntezy takich układów, badaniom poddawane są unikalne właściwości otrzymywanych obiektów, a także wskazywane nowe obszary ich potencjalnych zastosowań.

Zaprezentowane w pracy badania mają charakter studiów interdyscyplinarnych, wymagających od Pani mgr Kijewskiej dobrego przygotowania i wiedzy z zakresu kilku gałęzi chemii i inżynierii materiałowej. Pomyślna realizacja badań była możliwa dzięki zastosowaniu szeregu nowoczesnych, komplementarnych technik badawczych. Doktorantka opanowała zarówno podstawy fizykochemiczne jak i zdobyła kompetencje instrumentalne umożliwiające właściwy dobór technik badawczych, przeprowadzenie pomiarów i interpretację wyników.

Pani mgr Kijewska przygotowała i przedstawiła rozprawę doktorską w tradycyjnej formie opracowania, które podzieliła na dwie zasadnicze części – literaturową i badawczą. Zwarta, bo obejmująca 43 strony, część literaturowa podzielona została na siedem rozdziałów, w których Doktorantka omówiła kolejno: wybrane właściwości polimerów przewodzących, metody polimeryzacji pirolu, metody otrzymywania struktur polimerowych z wykorzystaniem syntezy szablonowej, proces modyfikacji struktur polimerowych-wprowadzeniem doń lub zamknięciem w ich wnętrzu - odpowiednio związków nieorganicznych i organicznych oraz możliwości uwalniania tych ostatnich i wreszcie potencjalne zastosowania struktur polimerowych jako nośników leków. W mej ocenie dobór zagadnień omawianych w tej części pracy jest prawidłowy i logiczny. Wszystkie podjęte wątki tematyczne znajdują odniesienie w badaniach własnych prowadzonych przez Doktorantkę. Prezentowane zagadnienia omówione zostały jasno, a jednocześnie dostatecznie wyczerpująco i precyzyjnie. Tę część rozprawy przygotowała Pani mgr Kijewska na podstawie dobrze wyselekcjonowanych pozycji literaturowych - w liczbie 122. Lektura literaturowej części rozprawy pozwala mi stwierdzić, że Doktorantka posiada dobrą znajomość aktualnego stanu wiedzy w przedmiocie prowadzonych przez nią badań.

Pierwsze cztery rozdziały części badawczej zawierają kolejno; informacje dotyczące używanych odczynników, materiałów, aparatury pomiarowej i wykorzystywanych procedur doświadczalnych. Prezentacje przeprowadzonych eksperymentów i uzyskanych wyników

otwiera krótki rozdział, którego celem było wykazanie, że naświetlanie chloroformowego lub bromoformowego roztworu pirolu światłem o długości fali mniejszej niż 400 nm inicjuje fotopolimeryzację prowadzącą do otrzymania polipirolu. W oparciu o literaturę Doktorantka zaproponowała schemat przebiegu tej reakcji, w której kluczową rolę odgrywa generowanie reaktywnego kationorodnika pirolu w procesie fotoindukowanego przeniesienia elektronu do użytego rozpuszczalnika, będącego akceptorem elektronu.

W kolejnym etapie badań, wykorzystując fotopolimeryzację pirolu, Doktorantka otrzymała mikrostruktury polipirolowe osadzone na pełniących rolę szablonów, kroplach wody obecnych w emulsji woda/chloroform lub woda/bromoform. W zależności od warunków w jakich prowadziła naświetlanie otrzymała hemisferyczne kapsułki osadzone na powierzchni kwarcu lub sferyczne kapsułki, o rozmiarach w granicach 100 nm- 2 μ m, tworzące się w całej objętości układu. Doktorantka wykazała się dużą sprawnością i starannością eksperymentalną; zdołała doprowadzić do optymalizacji warunków prowadzonych doświadczeń, tak aby zapewnić stabilność emulsji w czasie trwania eksperymentu i przeprowadzić fotopolimeryzację tak aby uzyskać dobrze zdefiniowane, trwałe kapsułki lecz zminimalizować prawdopodobieństwo utworzenia wypełnionych polipirolem mikrosfer. Otrzymane kapsułki poddano starannym badaniom fizykochemicznym przy użyciu szeregu dobrze dobranych, komplementarnych technik badawczych. Metodami spektroskopowymi – widma Ramana oraz FTIR, oraz stosując termogravimetrię potwierdzono, że kapsułki są utworzone z polipirolu. Jednakże, przeprowadzone przez Doktorantkę bardziej precyzyjne badania wskazały, że materiał ten zawiera nie tylko makrocząsteczki polipirolu. Stosując metodę spektroskopii fotoelektronów (XPS) do analizy składu kapsulek osadzonych na powierzchni płytki kwarcowej stwierdzono, że w trakcie procesu fotopolimeryzacji w strukturę makrocząsteczek polipirolowych wbudowują się grupy zawierające tlen i chlor oraz, że azot obecny jest nie tylko w postaci azotu związanego z wodorem w pierścieniu pirolowym, ale także w postaci azotu obdarzonego ładunkiem dodatnim. Na podstawie widm FTIR ustalono, że w kapsułkach obecny jest monomer – pirol, zamknięty tam w trakcie fotopolimeryzacji. Dobrze oceniam tę dociekliwość badawczą Doktorantki, bo jakkolwiek obecność tych domieszek/podstawnych lub pochodnych polipirolu w strukturze otrzymanych kapsulek nie miała istotnego wpływu na proces realizacji Jej zamierzeń badawczych, to wiedza ta może być wykorzystana w badaniach mechanistycznych dotyczących procesu fotopolimeryzacji pirolu, a także w planowaniu strategii otrzymywania materiałów nano/mikrostrukturalnych o pożądanych właściwościach. Obserwacje te powinny jednak znaleźć odzwierciedlenie w kształcie

mechanizmu fotopolimeryzacji pirolu – nie mam wątpliwości, że proponowane przez Doktorantkę reakcje odgrywają kluczową rolę w procesie otrzymywania polipirolu, jednakże nie stanowią one zbioru kompletnego, ponieważ nie wyjaśniają obecności chloru w powstałym materiale, który, jak wykazała Doktorantka jest nie tylko skoordynowany z makrocząsteczkami (występuje nie tylko jako domieszka), ale jest także wbudowany w strukturę polimeru.

Do wnętrza uprzednio otrzymanych kapsulek polipirolowych wprowadziła Doktorantka cząsteczki barwnika – rodaminy 6G z jej wodnego roztworu, w wyniku umiejętnej manipulacji wartością pH fazy wodnej, co skutkuje odpowiednimi przesunięciami równowag proponowania- deprotonowania jednostek powtarzalnych polipirolu i zmianami wartości potencjału zeta kapsulek, a także jonizacji oraz protonacją - deprotonacją grup monoetylo aminowych w strukturze cząsteczki rodaminy. Skuteczność tego zabiegu potwierdziła Doktorantka rejestrując obraz otrzymanych obiektów przy użyciu fluorescencyjnego mikroskopu konfokalnego. Przeprowadzone pomiary widm wzbudzenia i emisji rodaminy zamkniętej we wnętrzu kapsulek wykazały, że cząsteczki barwnika zachowują swe charakterystyczne właściwości spektroskopowe. Doktorantka podjęła także próbę udzielenia odpowiedzi na pytania dotyczące mikrolepkości środowiska wewnątrz kapsulek oraz o to czy istnieje oddziaływanie pomiędzy polipirolem tworzącym powłokę nanokapsułki i cząsteczkami rodaminy. W tym celu przeprowadziła pomiary anizotropii fluorescencji barwnika w wodzie i cząsteczek rodaminy zamkniętych w kapsułkach (w stanie stacjonarnym i czasowo-rozdzielcze). Chociaż wyniki tych badań były obarczone dużymi błędami i nie pozwoliły na poczynienie jednoznacznych ustaleń warto może je powtórnie przeanalizować uwzględniając fakt, że na właściwości środowiska wnętrza kapsulek wpływać może obecność w nim oligomerów polipirolu i rozpuszczonego chloroformu (rozpuszczalność chloroformu w wodzie w temp. 20 C jest znaczna i wynosi $\sim 7 \times 10^{-3}$ M), co stawia pod znakiem zapytania dokonywanie porównań z sytuacją cząsteczki barwnika w wodzie.

Opracowano i zastosowano z powodzeniem także alternatywny sposób wprowadzania cząsteczek związków organicznych do wnętrza kapsulek dokonując tego na etapie tworzenia tych struktur. Procedurę tę zastosowano w stosunku do analogów kapu, modelowych substancji biologicznie aktywnych, a jej skuteczność potwierdzono pomiarami widm EDS, analizą HPLC-MSK. Wykorzystując analogi kapu mRNA znakowane odpowiednio selenem oraz fluoresceiną i przeprowadzając pomiary widm EDS, SEM oraz rejestrując obrazy przy użyciu mikroskopu konfokalnego ustalono, że kap mRNA lokuje się głównie w bezpośrednim sąsiedztwie otoczki polipirolowej. Podjęte badania dynamiki dyfuzji rotacyjnej dla cząsteczek

kapu MRNA znakowanych fluoresceiną poprzez pomiary anizotropii fluorescencji fluoresceiny nie przyniosły rozstrzygających rezultatów, tak ze względu na złożoną naturę badanych układów jak i ograniczenia eksperymentalne.

Ciekawych wyników dostarczyły badania nad otrzymywaniem kapsuł polipirolowych modyfikowanych nanocząstkami magnetycznymi ferrytu niklowo-cynkowego i kapsuł zawierających nanocząstki złota. Nanocząstki wprowadzono do układów strukturalnych na etapie ich syntezy. Badania prowadzone technikami SEM, TEM, EDS, XRF, TOF-SIMS wykazały, że nanocząstki wbudowane są w strukturę polimeru tworzącego ścianki kapsuł. Pomiary termogravimetryczne pozwoliły określić ich zawartość w tym materiale. W przypadku badań prowadzonych dla kapsuł zawierających ferryt, stosując technikę SQUID wykazano, że w temperaturze pokojowej wbudowane w strukturę ścianki kapsuły nanocząstki ferrytu nadal zachowują swe właściwości superparamagnetyczne. Wyznaczono także magnetyzację nasycenia, która osiąga wartości charakterystyczne dla ferrytu niklowo-cynkowego.

Doktorantka otrzymała i poddała starannym badaniom kapsuły modyfikowane jednocześnie wprowadzonymi doń nanocząstkami nieorganicznymi i cząsteczkami rodminy G lub kapu MRNA. W kapsułkach zawierających polipirol-nanocząstki złota – rodmina G oraz polipirol- nanocząstki złota - modyfikowane heksylo-fluoresceiną cząsteczki kapu MRNA, zaobserwowała fluorescencję, odpowiednio: rodminy lub fluoresceiny głównie w okolicach polimerowej ścianki kapsuły a nie w całej jej objętości. Fakt ten wyjaśniła możliwością wygaszania wzbudzonych elektronowo cząsteczek barwnika przez nanocząstki złota obecne we wnętrzu kapsuły. Wyjaśnienie to nie jest pozbawione podstaw fizycznych, bowiem wykazano doświadczalnie i wyjaśniono teoretycznie zjawisko rezonansowego przenoszenia energii w układzie rodmina G- nanocząstki złota i fluoresceina- nanocząstki złota. Wydaje się jednak, że w badanym układzie należałoby rozważyć możliwość wpływu oddziaływań cząsteczek rodminy G z ligandem stabilizującym nanocząstki złota (1-l-merkaptoundecylo)tetra(etylo glikol) na organizację cząsteczek barwnika, pamiętając, że wnętrze kapsuły wypełnione jest głównie wodą. Podobnie można wyjaśnić lokalizację cząsteczek fluorescencyjnie znaczonego (grupa N6-heksylo-fluoresceina) kapu MRNA. Może warto przeprowadzić eksperymenty potwierdzające lub obalające tę hipotezę. Istotnym ustaleniem poczynionym w tym fragmencie pracy jest to, że modyfikacja ścianki kapsuły nanocząstkami nieorganicznymi pozwala na kontrolę kinetyki uwalniania substancji znajdującej się we wnętrzu kapsuły, a także stwarza potencjalne możliwości wykorzystania takich obiektów w procesach obrazowania i celowanego dostarczania substancji np. do

zmienionej chorobowo tkanki. Takie wstępne, obiecujące wyniki badań biologicznych zamykają omawianą pracę doktorską.

Wnioski końcowe.

Po starannym zapoznaniu się z rozprawą doktorską Pani mgr Krystyny Kijewskiej stwierdzam, że główny cel pracy został dobrze zdefiniowany, a dobór materiału i metod badawczych pozwolił na jego realizację. Badania przeprowadzone w ramach niniejszej pracy należą do głównego, światowego nurtu badań nad nowymi układami nanostrukturalnymi, o szerokich potencjalnych zastosowaniach. Doktorantka wykazała się dobrym przygotowaniem merytorycznym i dużą sprawnością eksperymentalną. Należy zauważyć, że pomyślna realizacja badań była możliwa dzięki zastosowaniu szeregu nowoczesnych, komplementarnych metod badawczych. Pani mgr Kijewska opanowała zarówno podstawy fizykochemiczne jak i zdobyła kompetencje instrumentalne umożliwiające właściwy dobór technik badawczych, przeprowadzenie pomiarów i interpretację wyników.

Na podstawie bazy danych Scopus ustaliłam, że Pani mgr Kijewska jest współautorką 10 publikacji w prestiżowych specjalistycznych czasopismach naukowych, z których 6 ulokowanych w czasopismach takich jak: *Langmuir*, *Chemistry- A European Journal*, *Polymer*, *Biomacromolecules*, *Bioelectrochemistry* dotyczy ściśle problematyki badań realizowanych w ramach pracy doktorskiej.

Biorąc pod uwagę powyższe uważam, że spełnione są warunki ustawy o stopniach i tytułach naukowych z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. nr 65) znowelizowanej w dniu 18 marca 2011 r. (Dz.U. 2011 nr 84 poz. 455) i wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie Pani mgr Krystyny Kijewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoką wartość merytoryczną pracy, fakt opublikowania znacznej części zawartych w niej wyników w uznanych specjalistycznych czasopismach naukowych wnoszę o jej wyróżnienie.

Kraków 24 listopad 2014 r.



Prof. dr hab. Maria Nowakowska
Wydział Chemii
Uniwersytet Jagielloński
ul. R. Ingardena 3
tel: (48 12) 663 2250
email:nowakows@chemia.uj.edu.pl

WNIOSEK

**Niniejszym wnioskuję wyróżnienie rozprawy doktorskiej
Pani mgr Krystyny Kijewskiej zatytułowanej: „Fotopolimeryzacja pirolu
– synteza matrycowa struktur polimerowych”**

UZASDNIEINIE

Praca doktorska Pani Mgr Kijewskiej dotyczy ważnej i aktualnej tematyki badawczej koncentrującej się na otrzymywaniu, określeniu właściwości fizykochemicznych oraz wskazaniu obszarów potencjalnych zastosowań dobrze zdefiniowanych struktur polimerowych. Stosując nowatorską technikę fotopolimeryzacji matrycowej Doktorantka otrzymała serię kapsuł polipirolowych o wymiarach submikronowych wypełnionych modelowymi substancjami związków organicznych oraz zmodyfikowanych nanocząstkami nieorganicznymi. Układy te wykazują bardzo interesujące właściwości i mogą stanowić punkt wyjścia do dalszych badań, głównie o charakterze biomedycznym. O dobrej pozycji Pani mgr Kijewskiej w nauce i wysokiej jakości uzyskanych przez Nią wyników zaświadcza fakt, że jest Ona współautorką 10 publikacji, które ukazały się w prestiżowych specjalistycznych czasopismach naukowych, z czego 6 dotyczy ściśle tematyki Jej pracy doktorskiej.

