

Prof. dr hab. Barbara Trzebicka

Zabrze, 7 stycznia 2026

Opinia o pracy doktorskiej**mgr. Bartosza Kopki „Sieci z poli(2-izopropenylo-2-oksazoliny) jako wielofunkcyjne materiały o zadanych właściwościach”**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr. Bartosza Kopki wykonana została w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi pod kierunkiem dr. hab. Małgorzaty Baśko w ramach szkoły Doktorskiej BioMedChem. Promotorem pomocniczym pracy był dr Bartłomiej Kost.

Poli(2-izopropenylo-2-oksazolina) to makrocząsteczka zawierająca węglowy łańcuch główny z bocznym pięcioczłonowym, heterocyklicznym pierścieniem oksazolinowym. Taka struktura chemiczna pozwala na wiele modyfikacji poprzez tworzenie stabilnych adduktów. W pracy doktorskiej ta możliwość została wykorzystana do wytworzenia różnych struktur usieciowanych.

Wyniki pracy doktorskiej ujęte zostały w trzech oryginalnych dołączonych publikacjach, które ukazały się w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, i jednej pracy przeglądowej opublikowanej w Polymer Chemistry w 2022 roku. Doktorant jest pierwszym autorem we wszystkich pracach. Rozprawa doktorska przedstawiona została w formie zbioru publikacji a jej ocena wymaga dokładnej analizy załączonych prac. W takim wypadku recenzent pełni więc niezręczną funkcję dodatkowego recenzenta publikacji już wcześniej zrecenzowanych a pytania czy uwagi powinien w zasadzie zgłaszać do edytora.

Autor zaopatrzył zbiór publikacji w autoreferat, stanowiący 70 stronicowe wprowadzenie, zawierające wstęp literaturowy, sformułowanie celu, opis badań i ich podsumowanie. Ostatnią jego częścią jest omówienie niepublikowanych dotychczas prac nad możliwym wykorzystaniem opracowanych sieci polioksazolinowych jako sorbentów zanieczyszczeń, materiałów o właściwościach przeciwgrzybiczych i przeciwbakteryjnych, nośników leków i podłoży do hodowli roślin. Publikacja przeglądowa (P4) w istotny sposób poszerza informacje zawarte we wstępie autoreferatu o obecnym stanie wiedzy na temat metod otrzymywania poli(2-izopropenylo-2-oksazoliny), właściwości tego polimeru, sposobów modyfikacji łańcucha i uzyskania makrocząsteczek o planowanych właściwościach a także wytwarzania materiałów usieciowanych. Pozwala to umieścić prace

Doktoranta na tle badań prowadzonych nad podobnymi zagadnieniami na świecie. Wprowadzenie jest napisane jasno, pomaga śledzić tok prac i porządkuje uzyskane przez Doktoranta wyniki. Zawiera niewiele błędów interpunkcyjnych i nieliczne błędne sformułowania.

Punktem wyjścia do wytwarzania sieci poli(2-izopropenylo-2-oksazolinowych) była synteza samego polimeru (opisana w pracy P1) oraz odpowiednich linkerów dikarboksylowych HOOC-poli(tlenek etylenu)-COOH (opisana w pracy P1) oraz HOOC-polilaktyd-COOH i HOOC-polikaprolakton-COOH (opisana w pracy P2). Wykorzystana przez Doktoranta metoda stanowi rozwinięcie metody sieciowania poli(2-izopropenylo-2-oksazolin) alifatycznymi kwasami dikarboksylowymi o różnej długości zaproponowanej przez Jerca et al. (Mater. Horizons 2020, 7 (2), 566–573, <https://doi.org/10.1039/c9mh01401b>). Badania ujęte w pracy doktorskiej zaplanowano bardzo starannie i konsekwentnie wykonano, co pozwoliło uzyskać dobrze scharakteryzowane nowe materiały o właściwościach wskazujących na możliwość ich wykorzystania w praktyce.

Publikacja P1 (Soft Matter, 2021, 17, 10683-10695) dotyczy syntezy i charakterystyki sieci polimerowych opartych na poli(2-izopropenylo-2-oksazolinie) (PiPOx) oraz di-karboksylowym polieterym linkerze (HOOC-PEO-COOH).

W pierwszym etapie otrzymano poli(2-izopropenylo-2-oksazolinę) metodą polimeryzacji rodnikowej i szczegółowo scharakteryzowano polimer. Potwierdzono jego strukturę (^1H NMR, ^{13}C NMR) i wyznaczono masę molową. Następnie otrzymano polimerowy linker oparty na PEO (HOOC-PEO-COOH) w reakcji enzymatycznej z użyciem bezwodnika bursztynowego z wykorzystaniem Candida antarctica lipase B. Hydrożele PiPOx-PEO otrzymano w wyniku reakcji addycji pomiędzy bocznymi pierścieniami w łańcuchu polimeru i końcowymi grupami karboksylowymi linkera. W trakcie sieciowania dodatkowo wprowadzono związki małowcząsteczkowe o potencjale przeciwbakteryjnym, które były kowalencyjnie związane z łańcuchem głównym (kwas benzoesowy, kwas cytrynowy) lub były umieszczane w sieci bez kowalencyjnego połączenia (eugenol). Otrzymane hydrożele analizowano z wykorzystaniem ^{13}C NMR CP MAS i ATR FT-IR potwierdzając ich oczekiwaną strukturę. Wyznaczono frakcję nierozpuszczalną i zbadano stopień pęcznienia sieci, który przekraczał 140%, przy jednoczesnym zachowaniu integralności sieci.

Zbadano właściwości mechaniczne i reologiczne hydrożeli. Wartości modułu elastyczności świadczą o dobrych właściwościach mechanicznych hydrożeli nawet przy znacznej kompresji. Również badania reologiczne pokazały, że hydrożele PiPOx-PEO wykazują wystarczającą stabilność dla ich ewentualnych zastosowań praktycznych.

Ocenę aktywności przeciwbakteryjnej hydrożeli przeprowadzono w stosunku do pięciu typów bakterii. Niestety kwas benzoesowy i kwas cytrynowy przyłączone kowalencyjnie do usieciowanych łańcuchów nie wpływały na aktywność antybakteryjną hydrożeli. Jedynie rozproszony

w sieci eugenol uwalniany z niej w trakcie badań poprzez dyfuzję wykazuje działanie antybakteryjne. Jak piszą autorzy w pracy P1, w kolejnym etapie zamierzają oni przeprowadzić bardziej systematyczne badania właściwości przeciwbakteryjnych hydrożeli.

Czy Doktorant sądzi, że właściwości hydrożeli mogą być zoptymalizowane poprzez zmianę proporcji PiPOx i HOOC-PEO-COOH, ilości związków przeciwbakteryjnych oraz czas sieciowania. Czy były lub są planowane jakieś badania dotyczące biokompatybilności i toksyczności hydrożeli względem komórek, wobec których hydrożele mogłyby być wykorzystane. W zasadzie tylko sieci PiPOx-PEO napełnione eugenolem niosą możliwość praktycznego wykorzystania. Nie wiadomo jednak, i to stwarza dalsze pole badań, jak materiał zachowuje się pod wpływem czynników środowiskowych (np. enzymów, zmiennego pH, jonów).

Kolejna publikacja P2 (Soft Matter, 2023, 19, 6987-6999) stanowi rozwinięcie poprzedniej koncepcji. Do łańcuchów PiPOx Doktorant przyłączył polilaktyd lub polikaprolakton o różnej masie molowej i o małej dyspersyjności przez sprzęganie końcowych grup karboksylowych poliestrów z bocznymi pierścieniami w łańcuchu polimeru. Zmieniając stosunek linkerów do pierścieni oksazolinowych uzyskał materiały o różnym stopniu usieciowania. Zastąpienie hydrofilowego PEO bardziej hydrofobowymi linkerami poliestrowymi pozwoliło na kontrolę hydrofobowości segmentów sieci i uzyskanie materiałów amfifilowych pęczniejących w wodzie i wykazujących znacznie większy stopień spęcznienia w rozpuszczalnikach organicznych. Przeprowadzono kompleksową charakterystykę materiałów ustalając wpływ składu i parametrów sieci na ich zachowanie. Wyznaczono zawartość frakcji nierozpuszczalnej, zbadano pęcznienie, właściwości mechaniczne i termiczne sieci. Wykorzystując termograwimetrię określono przebieg degradacji termicznej a tym samym stabilność termiczną sieci. W pracy potwierdzono także biogodność sieci w badaniach MTT wobec mysich fibroblastów. Opisana charakterystyka polimerów i otrzymanych materiałów daje podstawę do dalszego rozwoju tych systemów oraz kontrolę i optymalizację ich parametrów strukturalnych i funkcjonalnych.

Zaprojektowany materiał zawierał poliestrowe bloki degradujące, co jest istotne w kontekście zastosowań w medycynie. Sama degradacja łańcuchów poliestrowych w sieciach w warunkach fizjologicznych nie była jednak badana. Czy Doktorant planuje takie prace szczególnie wobec prowadzonych już badań nad podłożami do hodowli komórek (P3 i część 4.2.1.4) czy nośników leków opisanych w części 4 Autoreferatu?

Czy Doktorant mógłby wyjaśnić, jak mierzona była masa molowa poliestrów opisana w pracy P2? Wykorzystano do tego celu zestaw chromatografii żelowej z detektorem rozpraszania światła. Równocześnie wskazano na kalibrację standardami polistyrenowymi, a w tabeli 1 w publikacji P2 uwzględniona jest korekcja masy. Współczynnik korygujący był po raz pierwszy wprowadzony w pracy A. Duda, A. Kowalski, S. Penczek, *Macromolecules* 1998, 31, 2114, a we wskazanej w P2

pracy [48] jedynie wykorzystano takie podejście. Bardzo proszę o uściślenie stosowanej metody wyznaczenia masy molowej.

Czy Doktorant mógłby wskazać, które sieci, zawierające PEO czy poliestry jako linkery, wykazują jego zdaniem korzystniejsze właściwości z punktu widzenia potencjalnych zastosowań biomedycznych? Czy masa molowa PiPOx wykorzystanej w eksperymentach ma wpływ na właściwości sieci?

W wypadku badanych sieci PiPOx zarówno z PEO jak i poliestrami pojawia się pytanie o termoczułość takich układów. W pracy Jerca et al. (Mater. Horizons 2020, 7 (2), 566–573, <https://doi.org/10.1039/c9mh01401b>) autorzy obserwowali odpowiedź sieci PiPOx na temperaturę i jej zależność od typu użytego kwasu karboksylowego. W wypadku sieci PiPOx otrzymanych przez Doktoranta takich zależności nie badano. Czy zdaniem Doktoranta objętościowe przejście termiczne może występować w otrzymanych żelach i jaki to może mieć wpływ na ich wykorzystanie?

Otrzymywanie porowatych sieci PiPOx-poliester opisał Doktorant w publikacji P3 (Soft Matter, 2024, 20, 6655–6667). Sieci te wytwarzano z wykorzystaniem soli NaCl jako porogenu dodając do nich hydroksyapatyt jako składnik wspierający wzrost i regenerację tkanki kostnej. Wykorzystując kryształy NaCl o różnej wielkości oraz stosując stosunek wagowy polimer/sól 1:24 uzyskano materiały o zróżnicowanej porowatości. Skład sieci potwierdzono w pomiarach ^{13}C CP-MAS NMR oraz FT-IR. Zawartość około 95% frakcji nierozpuszczalnej w materiałach wskazuje, że obecność porogenu nie zmniejszała zdolności łańcuchów PiPOx-poliester do sieciowania. Badania objęły szeroką analizę właściwości: pomiary termogravimetryczne, pomiary zdolności pęcznienia, ocenę morfologii (SEM) i powierzchni porów (BET), parametrów mechanicznych (testy ściskania i rozciągania) oraz cytotoksyczności (test MTT) a także proliferacji osteoblastów. Porowate żele wykazywały znaczną zdolność absorbowania wody, powyżej 2000% zachowując stabilną formę. Zmierzono i porównano parametry porowatej struktury żeli wskazując, że w wypadku obu sieci PiPOx-poliester można uzyskać rozmiary porów odpowiednie do stosowania żelu w rekonstrukcji tkanki kostnej. Ponadto wykazano, że z materiałów można tworzyć różne kształty o dowolnej wielkości. Materiały PiPOx-PLA oraz PiPOx-PCL z hydroksyapatytem w teście MTT wykazały pełną biokompatybilność względem ludzkich osteoblastów. Śledzono także proliferację osteoblastów na porowatych hydrożelach i stwierdzono stymulujące działanie obu ich rodzajów na proces wzrostu komórek. Wyniki te dają podstawę do dalszego rozwoju systemu w kontekście zastosowań w inżynierii tkanki kostnej.

Pewną trudność w analizie danych zamieszczonych w pracy P3 stwarzają nie w pełni jasne oznaczenia żeli. Sześć porowatych żeli, trzy z PiPOx-PLA i trzy z PiPOx-PCL wytworzone z wykorzystaniem różnych typów NaCl redukuje się w pracy do dwóch oznaczeń. W żelach z HA wykorzystywano, co można znaleźć między wierszami, jeden typ porofora (sól B) do badań biogodności

i hodowli, a także do wszystkich badań mechanicznych. Fakt ten nie został jasno opisany w części eksperymentalnej.

Proces degradacji stanowi istotny element w wypadku sieci, szczególnie w aspekcie biomedycznych zastosowań otrzymanych porowatych hydrożeli. Czy Doktorant planuje badania degradacji dla uzupełnienia danych?

W ostatniej części Autoreferatu Doktorant omawia wyniki dotychczas niepublikowane, które wskazują możliwe obszary ich wykorzystania wytworzonych hydrożeli. Wykonano badania zastosowania hydrożeli porowatych i nieporowatych poli(2-izopropenylo-2-oksazolin) jako adsorbentów jonów metali i barwników z wody. Stwierdzono słabą zdolność hydrożeli do adsorpcji, co zdaniem Doktoranta wymaga poprawy poprzez wprowadzenie dodatkowych grup funkcyjnych zdolnych do oddziaływania z zanieczyszczeniami.

Wybrany porowaty hydrożel PiPOx-PLA przeprowadzono w materiał o działaniu przeciwwgrzybiczym i przeciwbakteryjnym dodając do niego kwercytnę. Badania miały na celu wskazanie takich hydrożeli jako możliwych opakowań żywności.

Doktorant prowadził też badania wykorzystania sieci hydrożeli polioksazolinowych jako możliwych nośników leków. Do łańcucha polioksazolinowego przyłączył kowalencyjnie probenecyd, kwas walproinowy i ibuprofen, zbadał struktury polioksazolin modyfikowanej lekami i oszacował skład wytworzonych sieci PiPOx-PLA. Badania uwalnianie probenecydu z nieporowatych i porowatych hydrożeli wskazuje na możliwości kontroli tego procesu poprzez zmianę porowatości nośnika.

Doktorant wykorzystał porowate hydrożele PiPOx-PLA i PiPOx-PCL jako podłoża do hodowli roślin. Oceniano kiełkowanie i rozwój nasion pszenicy zwyczajnej a następnie ryżu i grochu na obu podłożach wykazując, że rozwój roślin w różny sposób zależy dla każdego typu rośliny od porowatości i struktury sztucznej gleby.

Praca doktorska pana mgr. Bartosza Kopki stanowi wartościowy wkład w badaniach nad syntezą i charakterystyką biomateriałów uzyskanych z wykorzystaniem 2-izopropenylo-2-oksazolin oraz wpisuje się w aktualny trend poszukiwania różnych bioaktywnych hydrożeli. Doktorant z powodzeniem zastosował stosunkowo prostą metodę „one-pot” do modyfikacji łańcuchów poli(2-izopropenylo-2-oksazolinowych) w celu wytwarzania sieci polimerowych i przyłączenia związków bioaktywnych. Metoda sieciowania nie generuje produktów ubocznych i wymaga jedynie minimalnego oczyszczania materiału - takie podejście zwiększa możliwość wykorzystania materiału w praktyce. Doktorant opracował także metodę wytwarzania z otrzymanych kopolimerów sieci porowatych. Badania ujęte w pracy doktorskiej są dobrze przemyślane i starannie wykonane.

Dotychczasowe prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej stanowią bardzo dobry punkt wyjścia do dalszych badań. Wiele problemów, także wskazanych w rozprawie przez Doktoranta, pozostaje wyzwaniem, szczególnie jeśli uzyskane materiały polioksazolinowe miałyby być stosowane praktycznie.

Do wykonania zaplanowanych badań Doktorant musiał opanować wiele technik eksperymentalnych, które wykorzystał do przeprowadzenia charakterystyki otrzymanych polimerów i ich sieci. Osiągnięte przez Doktoranta wyniki, ich interpretacja i opublikowanie w bardzo dobrym czasopiśmie *Soft Matter* świadczy o wysokim poziomie naukowym rozprawy, a nieopublikowane badania potwierdzają znaczny potencjał aplikacyjny hydrożeli poli(2-izopropenylo-2-oksazolinowych).

Na podkreślenie zasługuje także aktywność Doktoranta w publikowaniu rezultatów badań. Oprócz czterech prac wymienionych jako podstawa rozprawy doktorskiej, pan mgr Kopka jest współautorem dwóch innych publikacji. Jest także współautorem 9 ustnych komunikatów i siedmiu posterów. Podziękowania dla NCN (National Science Centre, Poland, Grant No. 2020/37/B/ST5/03302), zamieszczone we wszystkich 4 publikacjach włączonych do rozprawy doktorskiej wskazują, że Doktorant aktywnie uczestniczył w realizacji grantu 2020/37/B/ST5/03302.

Uwagi zawarte w recenzji w żadnym stopniu nie zmieniają bardzo pozytywnej oceny pracy,

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca mgr. Bartosza Kopki spełnia wymagania określone w art. "art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz.U. 2018 poz. 1668, z późn. zm.) Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce" i zwracam się do Rady Naukowej Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi o dopuszczenie mgr. Bartosza Kopki do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia.

Duża merytoryczna wartość ocenianej pracy, krótki czas jej powstania, wyniki opublikowane w bardzo dobrych periodykach naukowych oraz aktywność konferencyjna Doktoranta stanowi w moim przekonaniu przesłanki do wnioskowania o wyróżnienie pracy.

B. Trębicki