

Prof. dr hab. inż. Dorota Neugebauer
Politechnika Śląska
Wydział Chemiczny
Katedra Fizykochemii i Technologii Polimerów
ul. Strzody 9, 44-100 Gliwice
e-mail: dorota.neugebauer@polsl.edu.pl

Gliwice, 17.11.2017

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny H. Markiewicz
pt.: *Zastosowanie polimeryzacji rodnikowej z odwracalną dezaktywacją do otrzymywania magnetycznych materiałów polimerowo-nieorganicznych*
Praca wykonana na Wydziale Biologiczno-Chemicznym Uniwersytetu w Białymstoku.
Promotor: dr hab. inż. Agnieszka Z. Wilczewska.

Wysoko-wyspecjalizowane materiały polimerowe skupiają obecnie największą uwagę ze względu na zakres potencjalnych aplikacji. Wśród wiodących kierunków są zastosowania biomedyczne, takie jak terapia i diagnostyka. Diagnostyka medyczna obejmuje badania obrazowe, przy użyciu promieniowania rentgenowskiego, cieplnego, izotopów promieniotwórczych, także ultradźwięków, oraz własności pola magnetycznego. Pierwsze obrazy ciała ludzkiego z wykorzystaniem rezonansu magnetycznego wykonano w 1977 r., chociaż zjawisko magnetycznego rezonansu jądrowego odkryto znacznie wcześniej wykazując współdziałanie pola magnetycznego z falami radiowymi, a w 2003 r. została przyznana Nagroda Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny za odkrycia dotyczące obrazowania tą metodą (MRI). Metoda ta wymaga użycia środków kontrastowych, które kumulowane w tkance powodują wzmocnienie lub osłabienie odbieranego sygnału. Należą do nich m.in. związki żelaza o właściwościach ferromagnetyków i superparamagnetyków, które zaliczane są do środków cieniujących negatywnie. Badania wykazały, że nanocząstki magnetyczne łatwo ulegają agregacji i separacji w roztworach wodnych i organicznych, czemu może zapobiec ich modyfikacja powierzchniowa. Jednym z dogodnych rozwiązań jest szczepienie łańcuchów polimerowych prowadzące do utworzenia struktur hybrydowych nieorganiczno-organicznych typu rdzeń-korona, które mogą pełnić funkcję nowoczesnych środków kontrastowych w obrazowaniu magnetyczno-rezonansowym.

Zagadnienia podjęte w rozprawie doktorskiej przez mgr inż. Karolinę Mazurkiewicz bardzo dobrze wpisują się w tematykę projektowania wielkocząsteczkowych związków hybrydowych z udziałem tlenków żelaza. W badaniach wykorzystano kontrolowaną polimeryzację rodnikową z przeniesieniem addycyjno-fragmentacyjnym (RAFT) wobec monomerów metakrylowych z dodatkiem wybranych czynników przeniesienia łańcucha. Obok podstawowej charakterystyki hybryd wykazano właściwości superparamagnetyczne i kompleksujące oraz aktywność

antybakteryjną i hemokompatybilność mając na uwadze przyszłe zastosowania w katalizie chemicznej i oczyszczaniu wód oraz medycynie.

Rozprawa ma standardowy układ, obejmuje 220 stron, na które składają się: *Wprowadzenie* (2 strony), *Cel pracy* (pow. 1 strony), *Część literaturowa* (60 stron), *Część badawcza* (76 stron), *Podsumowanie i wnioski* (2 stron), *Część eksperymentalna* (34 strony), *Streszczenie* (2 strony) oraz *Wykaz skrótów* (6 stron). Następnie podano *Spis rysunków, schematów i tabel* (9 stron). W końcowej części pracy znajduje się *Dorobek naukowy* Doktorantki (4 strony) i *Literatura cytowana* (14 stron, 297 pozycji).

W *Części literaturowej* Autorka podała niezbędne informacje związane z tematyką badań rozpoczynając od opisu metody RAFT jako jednej z metod polimeryzacji rodnikowej z odwracalną dezaktywacją. Rozdział ten zawiera porównanie z konwencjonalną polimeryzacją rodnikową, szczegółowe wyjaśnienie mechanizmu i przedstawienie podstawowych składników mieszaniny reakcyjnej niezbędnych do przeprowadzenia polimeryzacji, w tym czynnik przeniesienia łańcucha (CTA) wraz z wpływem jego struktury na szybkość i kontrolę procesu. Wśród podstawowych kierunków badań związanych z metodą RAFT wymieniono m.in. jej wykorzystanie w przygotowaniu polimerowych hybryd z nieorganicznymi nanocząstkami, których omówienie zostało rozwinięte w drugim rozdziale ze szczególnym ukierunkowaniem na magnetyczne hybrydy polimerowo-nieorganiczne. Wcześniejsze prace dowiodły, że właściwości magnetyczne nanocząstek gwarantują metale oraz ich stopy i tlenki, w tym tlenki żelaza, które zostały wykorzystane przez Autorkę w pracy badawczej. Ze względu na ich zastosowania biomedyczne, obok biokompatybilności i braku toksycznego działania na zdrowe komórki istotna jest farmakokinetyka i farmakodynamika (właściwa cyrkulacja w krwioobiegu, sposób usuwania/wydalania z organizmu) nanocząstek. Z kolei obecność reaktywnych grup hydroksylowych na ich powierzchni może odegrać znaczącą rolę w poprawie stabilności koloidalnej. Zarówno zjawisko samoorganizacji podwójnie hydrofilowych kopolimerów blokowych w roztworze zawierających prekursorzy nanocząstek magnetycznych, tj. formowanie *in situ*, lub różne strategie szczepienia polimerów na powierzchni nanocząstki magnetycznej, tj. *grafting to*, *grafting through* i *grafting from*, prowadzą do utworzenia hybryd polimerowo-nieorganicznych. W przypadku zastosowania metody RAFT istnieją trzy opcje techniki *szczepienia* z nanocząstek ze względu na możliwość modyfikacji ich powierzchni wprowadzając jednostkę inicjatora, lub czynnika CTA poprzez grupę odchodzącą R lub grupę aktywującą Z. Wymienione powyżej techniki modyfikacji nanocząstek tlenku żelaza polimerami zostały udokumentowane licznymi przykładami z literatury. Doktorantka opracowała przegląd literaturowy na podstawie 207 pozycji, co wskazuje na jej bardzo dobre przygotowanie do prowadzenia prac eksperymentalnych, zaś niewielka liczba cytowania artykułów opublikowanych przed 2000 rokiem (7%) świadczy o

nowoczesnym charakterze podjętego zagadnienia, które stanowi popularny trend badawczy w zakresie chemii polimerów.

Część badawcza poświęcona omówieniu wyników pracy doświadczalnej obejmuje przygotowanie magnetycznych hybryd polimerowo-nieorganicznych przy użyciu technik *grafting from* i *in situ*. Etap 1 stanowiło otrzymanie sferycznych nanocząstek magnetycznych tlenku żelaza, tj. magnetytu i manghemitu (średnica ~12nm), przy użyciu uwodnionych soli chlorkowych Fe(III):Fe(II) (2:1), które następnie zmodyfikowano wprowadzając powłokę krzemoorganiczną (~1nm) z grupami aminowymi na powierzchni, po czym poddano reakcji amidowania bromkiem i wprowadzono czynnik CTA przez grupę R. Tak przygotowany magnetyczny czynnik CTA użyto w polimeryzacji RAFT otrzymując polistyren i poli(akrylan *n*-butylu) oraz ich kopolimery blokowe w obydwu możliwych sekwencjach. Ponadto, otrzymano hybrydy z udziałem zsyntezowanych przez Doktorantkę monomerów kompleksujących, tj. winylową pochodną tiosemikarbazonu benzaldehydu oraz w formie soli chlorkowej. Wcześniej jednak nowe monomery przetestowano w konwencjonalnej polimeryzacji rodnikowej i RAFT wobec niemagnetycznego czynnika CTA w celu optymalizacji warunków reakcji. Właściwości kompleksujące hybryd otrzymanych na bazie obydwu monomerów zweryfikowano na jonach palladu(II) wskazując na różny stopień kompleksowania ze względu na rodzaj monomeru lub grubość powłoki polimerowej. W tym przypadku pomocne byłoby wykonanie dodatkowego eksperymentu dla hybryd o podobnej grubości powłoki polimerowej różniących się rodzajem jednostki monomerycznej.

Kolejną grupę eksperymentów wykonano z magnetycznymi nanocząstkami tlenku żelaza o właściwościach bakteriobójczych, dzięki wprowadzonej warstwie złota w wyniku redukcji kwasu tetrachlorozłotowego(III), która spowodowała mniejszą regularność kształtu nanocząstek (~13 nm). Następnie nanocząstki modyfikowano ditiowęglaanem immobilizując jednostki CTA poprzez wiązanie Au-S, po czym użyto w polimeryzacji RAFT z udziałem monomerów winylowych, tj. styren i monomery kompleksujące, w tym wytwarzając jednostki kompleksujące w procesie *post-polimeryzacji*. Przed immobilizacją ditiowęglaan przetestowano w reakcji RAFT wobec styrenu i akrylanu etylu w celu optymalizacji warunków. Co prawda nie sprawdzono czy złota powłoka w hybrydach miała wpływ na efektywność kompleksowania, ale badania biologiczne prowadzone z udziałem wybranego szczepu bakterii potwierdziły działanie antybakteryjne, a badania aktywności hemolitycznej wykluczyły zniszczenie błony ludzkich erytrocytów w badanym zakresie stężeń monomerów kompleksujących i utworzonych z ich udziałem hybryd.

W ostatnim rozdziale części badawczej przedstawiono wyniki formowania hybryd *in situ* wykorzystując różne udziały wagowe hydratów chlorków żelaza(II) i (III) oraz podwójnie hydrofilowych kopolimerów blokowych, tj. PAA-*b*-PNIPAM i PAA-*b*-PEG, w których segment polikwasu Doktorantka otrzymała za pomocą RAFT. Uzyskane wyniki wskazały na lepsze

właściwości stabilizujące segmentu PEG wykluczając kopolimery PNIPAM z dalszych eksperymentów, z kolei segment poli(kwasu akrylowego) odpowiedzialny za „wychwytywanie” nanocząstek magnetycznych zastąpiono poli(kwasem winylofosforowym), aby zwiększyć stabilność formowanych hybryd. Podobnie jak w przypadku poprzednich kopolimerów blokowych, kwas winylofosforowy polimeryzowano za pomocą RAFT wobec funkcjonalizowanego PEG jako makroczywnika CTA oraz dla porównania syntezowano homopolimer stosując niskocząsteczkowy czynnik CTA sfunekjonalizowany grupą karboksylową. Otrzymane hybrydy zawierające łańcuchy o strukturze kopolimeru blokowego wykazały wpływ udziału wagowego kopolimer/sole Fe na wielkość nanocząstek, które charakteryzowały się hemokompatybilnością. Z kolei większe początkowe wartości współczynnika korelacji oznaczone w funkcji czasu za pomocą FT-IR i DLS dla próbek po dodaniu soli Fe sugerowały preorganizację łańcuchów polimerowych wokół prekursorów nanocząstek magnetycznych wykazując utworzenie się cząstek koloidu, których rozmiary powinny być większe niż dla pojedynczych łańcuchów polimeru.

Zakres wykonanej pracy badawczej przez Doktorantkę, tj. przygotowanie cząstek magnetycznych i synteza polimerów, w tym hybryd, wymagał interdyscyplinarnej wiedzy teoretycznej i umiejętności preparatywnych związanych z otrzymaniem związków mało- i wielkocząsteczkowych, a użycie różnych warunków procesu pozwoliły na określenie korelacji z parametrami produktów. Doktorantka wykazała się znajomością różnorodnych technik analitycznych na podstawie, których potrafiła opracować wyniki. Do charakterystyki cząstek magnetycznych wykorzystwała mikroskopię TEM, rentgenowską dyfraktometrię proszkową, pomiary namagnesowania. Z kolei charakterystyka części polimerowej bazowała głównie na metodach spektroskopowych (FT-IR, NMR), chromatografii żelowej, różnicowej kalorymetrii skaningowej i termograwimetrii, a metody spektroskopii UV-vis i fluorescencyjnej użyto do analizy właściwości kompleksujących. Szkoda, że nie przedstawiono reprezentacyjnych widm NMR dla poszczególnych grup polimerów, w szczególności dla tych otrzymanych z syntezowanych monomerów. Wstępne badania hemozgodności i bakteriobójczości zostały wykonane ze względu na możliwości wykorzystania otrzymanych hybryd w diagnostyce medycznej.

Wyniki badań przedstawionych w pracy są opublikowane w formie 4 publikacji w czasopiśmie z listy filadelfijskiej o zasięgu międzynarodowym (IF: 5,375-2,50), w tym w trzech Pani Karolina jest pierwszym autorem, a w dwóch autorem korespondencyjnym. Artykuły, ze szczególnym wskazaniem na pozycję 2 (*Polymer Chemistry* IF=5,375), są potwierdzeniem, że podjęte w ramach pracy doktorskiej badania polegające na otrzymaniu hybrydowych materiałów polimerowych o właściwościach superparamagnetycznych są ważne i znajdują zainteresowanie w świecie naukowym. Dodatkowo, Doktorantka aktywnie uczestniczyła w pracach zespołowych Promotora, czego efektem jest 10 publikacji (IF:1,364-4,747), które nie wchodzą w zakres

niniejszej rozprawy. Imponujące są także dane bibliometryczne, tj. sumaryczny $IF=48,224$ (475 pkt MNiSW) oraz liczba cytowań 257. Część promująca badania obejmuje także monografie pokonferencyjne (3) oraz udziały w konferencjach krajowych i zagranicznych, na których Doktorantka wygłosiła 5 komunikatów, w tym 4 w jęz. angielskim, i przedstawiła 3 postery. Warto podkreślić, że część pracy Autorka wykonała podczas 5-cio miesięcznego stażu naukowego na Uniwersytecie w Tuluzie prowadząc badania w grupie prof. Destarac.

Wyniki otrzymane przez Doktorantkę świadczą o możliwości stosowania różnorodnych technik syntezy struktur hybrydowych, które zawierają nieorganiczny rdzeń o charakterze paramagnetycznym i łańcuchy polimerowe otrzymane za pomocą polimeryzacji RAFT. Sposób ich przedstawienia i interpretacja nie budzą zastrzeżeń merytorycznych, mam jednak kilka uwag, które wymagają wyjaśnienia:

1) Stwierdzenie, że PNIPAm powyżej LCST ze względu na przejście zol-żel osiąga postać półstałą (str. 64) jest ryzykowne, gdyż sugeruje tworzenie się sieci polimerowej, co w tym przypadku jest możliwe przy użyciu dodatkowego czynnika.

2) Metodę rozpuszczenia rdzenia magnetycznego zastosowano dla wybranej grupy hybryd, aby scharakteryzować łańcuchy polimerowe za pomocą analizy NMR (konwersja monomeru, średni stopień polimeryzacji) i SEC (średni ciężar cząsteczkowy i jego rozrzut). Jednak charakterystyka dla części polimerów (np. 5-15, 19-25, 40-43) nie jest kompletna.

3) W przypadku hydrolizy PnBA do polikwasu, potwierdzenie struktury można uzyskać wykonując analizę NMR w deuterowanym rozpuszczalniku polarnym.

4) Interpretacja chromatogramów i zestawienie wyników SEC w Tab. 11 nie zgadza się z oznaczeniem na rysunku. Dla niektórych krzywych DSC trudno dostrzec przegięcie pozwalające na określenie T_g .

5) Jakie są wielkości nanocząstek po szczepieniu, w podsumowaniu ogólnie podano szeroki zakres 50-200 nm. Czy zaobserwowano jakieś korelacje z długością łańcucha? Jakie są wartości wskaźnika polidispersyjności (rozrzut wielkości cząstek wg DLS)?

6) Jaka jest różnica pomiędzy konwencjonalną metodą SEC-RI a SEC-MALLS? Na czym polega analiza SEC-RI-MALLS?

7) Rozdz. 2.2 w przeważającej części jest dokładnym powtórzeniem Wprowadzenia. Podobnie rozdz. 5.1. str. 124 drugi paragraf identyczny jak na str.64 w cz. literaturowej. W tab.18 próbki 65c-f otrzymano dla takich samych lub bardzo zbliżonych stosunków wagowych polimer:jony żelaza jak dla 61g-e, 61c (Tab.16). Szczegóły techniczne w opisie syntezy w dyskusji wyników (str. 73-74) powinny być podane jedynie w części eksperymentalnej.

8) W jaki sposób otrzymano kopolimery PAA-*b*-PNIPAM (44)? Umieszczenie części wyników w cz. eksperymentalnej utrudnia czytanie pracy. W części eksperymentalnej opisana jest

metoda SEM, ale w pracy nie przedstawiono zdjęć lub komentarza wynikającego z użycia tej techniki, natomiast w przypadku winylowej pochodnej tiosemikarbazonu benzaldehydu podano wyniki z analizy LCMS/MS (ESI), ale bez opisu metody. W tab.34 ogólnie podano oznaczenia próbek 60(a-d) dla dwóch grup hybryd homopolimerowych.

Rozprawa jest przygotowana starannie i napisana językiem poprawnym. Chociaż Autorce nie udało się uniknąć takich błędów jak: skróty myślowe (np. synteza powłok polimerowych, duże rozmiary monomerów, hydroliza i kondensacja jako przemiany, modyfikacja widma FT-IR, wyjaśnienie skrótu MRI na str.31); niewyjaśnione skróty (np. RITP, NMP, SMR, MAA, AA); wymienne stosowanie terminów masa cząsteczkowa vs masa molowa; zapożyczenia z jęz. angielskiego (np. grupa terminalna, indeks dyspersyjności); niefortunne sformułowania i wyjaśnienia (reakcje dezaktywacji i aktywacji wystarczająco szybkie w porównaniu z propagacją, kopolimery blokowe i triblokowe, kopolimery hydrofilowe vs dihydrofilowe kopolimery blokowe, ciężary cząsteczkowe i dyspersyjność polimerów w tab. 26 zatytułowanej warunki reakcji); oznaczenia trudne do rozróżnienia (numery równań (1)-(4) i numeracja związków, zależności na wykresie Rys.53b).

Podsumowując, przedstawioną do recenzji pracę doktorską oceniam wysoko, Autorka podjęła się z zadowalającym efektem zaprojektowania nowoczesnych materiałów hybrydowych o właściwościach superparamagnetycznych wykorzystując kontrolowaną metodę polimeryzacji rodnikowej oraz różne opcje techniki szczepienia. Recenzowana praca spełnia kryterium nowości naukowej, co zostało udokumentowane artykułami opublikowanymi w czasopismach o zasięgu międzynarodowym znajdujących się na liście filadelfijskiej. Na tej podstawie stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia wymagania „Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym...” z dnia 18 marca 2011 r i zwracam się do Rady Wydziału Biologiczno-Chemicznego Uniwersytetu w Białymstoku o dopuszczenie mgr inż. Karoliny Markiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę wartość naukową rozprawy doktorskiej, na którą istotny wpływ miały umiejętności i zaangażowanie Doktorantki, wnioskuję także do Rady Wydziału o jej wyróżnienie.

Wengebauer D.