

# Uniwersytet Medyczny

im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wydział Farmaceutyczny

z Oddziałem Analityki Medycznej



Monika Gasztych

Rozprawa doktorska

**Otrzymywanie i ocena termowrażliwego nośnika  
modelowej substancji leczniczej o działaniu  
przeciwzapalnym i przeciwbólowym**

Wrocław 2018

Promotor rozprawy:

**dr hab. Witold Musiał, prof. nadzw**

Kierownik Katedry i Zakładu Chemii Fizycznej

Składam serdeczne podziękowania  
Panu dr hab. Witoldowi Musiałowi, prof. nadzw.  
za cenne wskazówki, zaangażowanie oraz  
poświęcony czas w trakcie realizacji pracy.  
Serdeczne podziękowania za wsparcie składam również  
pozostałym członkom naszego Zespołu.

## Spis treści

|   |    |
|---|----|
| Publikacje stanowiące rozprawę doktorską.....   | 6  |
| Wstęp i cel pracy .....   | 7  |
| 1. Mikrosfery jako postać leku .....  | 8  |
| 2. Podłoża hydrożelowe .....  | 9  |
| 3. Inteligentne polimery.....   | 10 |
| 4. Termowrażliwe podłoża hydrożelowe .....  | 11 |
| 5. Poli (N-izopropylakryloamid) – charakterystyka oraz zastosowanie .....                               | 12 |
| Metody .....  | 17 |
| 1. Otrzymywanie polimerów pochodnych NIPA .....   | 17 |
| 2. Dializa i badanie przewodnictwa .....  | 20 |
| 3. Badanie pH.....  | 20 |
| 4. Metoda dynamicznego rozproszenia światła (DLS) oraz pomiar potencjału elektrokinetycznego zeta ..... | 21 |
| 5. Badanie spektroskopowe w podczerwieni .....  | 21 |
| 6. Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego .....  | 21 |
| 7. Skaningowa mikroskopia elektronowa .....   | 22 |
| 8. Pomiar masy cząsteczkowej.....   | 22 |
| 9. Przygotowanie żeli na bazie hydroksypropylometylocelulozy .....                                      | 22 |
| 10. Kinetyka uwalniania substancji czynnej.....   | 22 |
| Wyniki.....   | 23 |
| 1. Wyniki pomiarów przewodnictwa .....  | 23 |
| 2. Wyniki pomiarów pH.....  | 24 |
| 3. Wartość potencjału elektrokinetycznego badanych polimerów w zakresie temperatur od 18 do 42 °C.....  | 25 |

|   |    |
|---|----|
| 4. Średnica hydrodynamiczna w temperaturze nieprzekraczającej VPTT..... | 26 |
| 5. FTIR - spektroskopia w podczerwieni .....                            | 29 |
| 6. Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego .....                | 29 |
| 7. Skaningowa mikroskopia elektronowa.....                              | 30 |
| 8. Masa cząsteczkowa zsyntetyzowanych polimerów .....                   | 30 |
| 9. Przebieg uwalniania naproksenu sodowego .....                        | 31 |
| Dyskusja .....  | 33 |
| Wnioski .....   | 34 |
| Bibliografia .....  | 35 |
| Streszczenie .....  | 39 |
| Streszczenie w języku angielskim - abstract .....                       | 42 |
| Lista publikacji.....   | 44 |
| Curriculum vitae.....   | 49 |
| Oświadczenia współautorów opublikowanych prac .....                     | 52 |

**Publikacje stanowiące rozprawę doktorską  
zaprezentowane w tekście referatu (prace oryginalne)**

1. Gasztych M., Komsa K., Musiał M.: Influence of hydrophilic co-monomer on the drug release from hydrogel with thermosensitive NIPA derivatives. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, praca przyjęta do druku (potwierdzona przez wydawnictwo) (1,483 pkt. IF, 20 pkt. MNiSW). Prezentowana w tekście referatu jako [38].
2. Gasztych M., Kotowska A., Musiał W.: Application of Polymerization Activator in the Course of Synthesis of N-Isopropylacrylamide Derivatives for Thermally Triggered Release of Naproxen Sodium. *Materials*. 2018, 11: 1-13. (2,654 pkt. IF, 35 pkt. MNiSW). Prezentowana w tekście referatu jako [39].
3. Gasztych M., Gola A., Kobryń J., Musiał W.: Synthesis and Formulation of Thermosensitive Drug Carrier for Temperature Triggered Delivery of Naproxen Sodium. *Molecules*. 2016, 21: 1-11. (2,861 pkt. IF, 30 pkt. MNiSW). Prezentowana w tekście referatu jako [40].

## **Wstęp i cel pracy**

Od wielu lat trwają badania nad poprawą skuteczności i bezpieczeństwa działania leków. Naukowcy skupiają się na poszukiwaniu nowych cząsteczek, jednak ogromna ilość badań prowadzona jest w celu udoskonalenia metod dostarczania do organizmu znanych już substancji leczniczych. Przez lata badacze doskonalili formy leków i sposoby ich podawania. Modernizowanie już istniejących oraz opracowywanie nowych postaci leku jest doskonałym pomysłem na optymalizację farmakoterapii. Wykorzystanie odpowiedniego postępowania technologicznego pozwala na modyfikację szeregu właściwości danej postaci leku.

Ogromny postęp nastąpił w doskonaleniu postaci leków o kontrolowanym uwalnianiu, głównie w celu uniknięcia komplikacji związanych z tradycyjnymi postaciami oraz w celu redukcji potrzeby wielokrotnego dawkowania. Preparaty o kontrolowanym uwalnianiu chronią oraz stabilizują lek, umożliwiają dostarczenie substancji aktywnej w precyzyjnie określonej ilości, często wprost do miejsca zmienionego chorobowo. Dodatkowo, projektowanie postaci o modyfikowanym uwalnianiu przyczynia się do lepiej nacelowanego działania cząsteczki, umożliwiając zmniejszenie stosowanej dawki, a tym samym redukcję działań niepożądanych. Coraz większym zainteresowaniem cieszą się polimerowe mikrosfery, które odpowiednio skonstruowane mogą posiadać wszystkie wyżej wymienione cechy.

Mikrosfery to porowate monolityczne sferyczne cząstki zazwyczaj o średnicy 1-500  $\mu\text{m}$ , zbudowane ze szkieletu jaki stanowi polimer, oraz zawierające rozpuszczoną bądź inkorporowaną w nim substancję aktywną. Polimery mogą być pochodzenia naturalnego lub syntetycznego, powinny spełniać określone warunki, m.in. takie jak: brak toksyczności, brak działania kancerogennego, a produkty ich metabolizmu nie powinny gromadzić się w organizmie.

W ciągu ostatnich lat nastąpił rozwój zainteresowania polimerami reagującymi na działanie bodźców zewnętrznych. Przeprowadzono wiele badań nad skonstruowaniem mikrocząstek wrażliwych na zróżnicowane czynniki środowiskowe.

W przedstawionej pracy główną rolę odgrywają polimery termowrażliwe. Należą one do tzw. „inteligentnych polimerów” („smart polymers”), które posiadają olbrzymi potencjał, oferując ogromne przewidywane zalety w procesie dostarczania

substancji leczniczych. Najbardziej pożądaną ich cechą jest to, iż dostarczają one lek w odpowiedzi na określony bodziec fizjologiczny. Stanowią one ważną strukturę, często wykorzystywaną przy projektowaniu kontrolowanych systemów dostarczania substancji aktywnych.

Wstępem dla zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej badań eksperymentalnych jest praca naukowa, w której zaproponowano materiały polimerowe zsyntetyzowane na bazie poli (N-izopropylakryloamidu) NIPA przy udziale inicjatora anionowego [1]; praca ta była podstawą otwarcia przewodu doktorskiego.

## **1. Mikrosfery jako postać leku**

Znane są różne podejścia umożliwiające dostarczenie substancji terapeutycznej do miejsca docelowego w sposób umożliwiający kontrolowane uwalnianie. Jedną z możliwości jest zastosowanie mikrosfer jako nośników leków. W ostatnich latach dużo uwagi poświęca się mikro- i nanocząstkom, spośród których największe znaczenie w dostarczaniu leków mają sfery, czyli okrągłe struktury o budowie warstwowej lub jednolitej. Mikrosfery mogą być wytworzone z różnych materiałów, naturalnych lub syntetycznych, często otrzymywane są drogą polimeryzacji z odpowiednich monomerów. Jeżeli chodzi o polimery nie podlegające biodegradacji, należą tu często: metakrylany glicydylu, polimery epoksydowe a także poli (N- izopropylakryloamid). Polimery biodegradowalne używane do produkcji mikrosfer to m.in.: polimery kwasu mlekowego (PLA), polimery kwasu glikolowego (PGA) oraz ich kopolimery (PLGA), polibezwodniki, polikaprolakton (PCL). Wśród polimerów pochodzenia naturalnego, badanych jako nośniki leku, należy wymienić: albuminy, żelatynę, kolagen, agarozę, karagen, chitozan, skrobię, polidekstran, poliskrobię. W zależności od przeznaczenia można regulować wielkość otrzymywanych mikrosfer. Zastosowanie donaczyniowe wymaga produkcji cząstek o wielkości do ok. 8  $\mu\text{m}$ . Do podania białek lub genów używa się cząstek o średnicy do 10  $\mu\text{m}$ . Materiały o średnicy 1-5  $\mu\text{m}$  mogą być użyte jako nośniki dostarczające substancje biologicznie czynne do płuc. W przypadku rozmiarów cząstek 10-20  $\mu\text{m}$  odnotowano ich aktywność w naczyniach guzów nowotworowych [2]. Mikro- i nanosfery mogą mieć zdolność



transportowania substancji aktywnych przez warstwy skóry, dlatego też znajdują zastosowanie jako preparaty transdermalne [3-5].

## **2. Podłoża hydrożelowe**

Jedno z pierwszych ważnych zastosowań hydrożeli zostało zaproponowane po raz pierwszy w latach 60 XX wieku przez Wichterle'go i Lim'a, w celu produkcji soczewek kontaktowych. W późniejszych latach hydrożele przeznaczono do produkowania kontrolowanych systemów dostarczania substancji biologicznie czynnych. Hydrożele, dzięki strukturze usieciowanej umożliwiają miejscowe, a także przedłużone uwalnianie substancji leczniczych, pozwalając przy tym na zastosowanie stosunkowo niskich dawek substancji czynnej [6-7]. Początkowo hydrożele miały na celu chronić cząsteczkę leku przed niekorzystnymi dla niej warunkami środowiska, np.: pH lub enzymami. Ponadto miały stanowić tzw. formę depot preparatów leczniczych, powoli uwalniającą substancję leczniczą. Intensywny rozwój nauki w ostatnich 50 latach pozwolił sięgnąć dalej w zastosowaniach syntetycznych hydrożeli i doprowadził do powstania materiałów tkankozastępczych oraz tzw. „inteligentnych polimerów”, wyraźnie reagujących na zewnętrzne bodźce.

Hydrożele stanowią usieciowane cząsteczki polimeru rozproszonego w odpowiednim ośrodku, którym zwykle jest woda. Mogą wykazywać różne właściwości w zależności od budowy, od typu komonomerów charakteryzujących się odpowiednimi grupami funkcyjnymi. Hydrożele wykazują zdolności do pęcznienia w wyniku zmian warunków środowiska, np. temperatura, pH itd. Można je różnicować na przykład ze względu na źródło pochodzenia (naturalne, syntetyczne, hybrydowe), rodzaj oddziaływań sieciujących (oddziaływania kowalencyjne, oddziaływania fizyczne), losy w organizmie (biodegradowalne, niebiodegradowalne) itp. Jedną z najważniejszych cech hydrożeli jest ich wysoka zawartość wody, dzięki czemu polimer często zyskuje biokompatybilność [8].

### 3. Inteligentne polimery

Inteligentne polimery mają olbrzymi potencjał w różnych zastosowaniach. Częsteczki te wykazują nieliniową odpowiedź na dany bodziec, co prowadzi do znaczącej zmiany ich struktury. Odpowiedź na bodziec może polegać na pęcznieniu polimeru, zapadaniu się sieci polimerowej, bądź nawet na rozpadzie makromolekuły. Najbardziej fascynujące cechy inteligentnych polimerów wynikają z wszechstronności ich potencjalnych zastosowań i ich zaskakującej wrażliwości na zróżnicowane i często nieznaczące zmiany czynników otoczenia. Konstruowanie inteligentnych systemów polimerowych może prowadzić do bardziej dokładnego i celowanego dostarczania substancji leczniczych.

W prowadzeniu farmakoterapii często napotyka się problemy wynikające np. ze słabej biodostępności leku, jego niewielkiej stabilności fizycznej lub chemicznej itp. Polimery reagujące na bodźce umożliwiają wytworzenie podłoża do kontrolowanego dostarczania substancji leczniczych, podłoża o satysfakcjonującej trwałości chemicznej, fizycznej i biologicznej. W ostatnim czasie odnotowuje się wzrost rozwoju wiedzy na temat wrażliwych cząstek polimerowych. Rodzaj grupy funkcyjnej decyduje o bodźcu zewnętrznym, na który polimer jest wrażliwy. W tabeli 1 zostały przedstawione różne bodźce i reagujące na nie przykładowe polimery.

Tabela 1. Rodzaje polimerów reagujących na różne bodźce

| Bodziec zewnętrzny | Rodzaj polimeru                                 |
|--------------------|---|
| pH                 | Kwas poliakrylowy                               |
|                    | kwas polimetakrylowy                            |
|                    | poli(4-winylopirydyna)                          |
|                    | poli(metakrylan <i>N,N'</i> -dietyloaminoetylu) |
| temperatura        | poli( <i>N</i> -izopropylakryloamid),           |
|                    | poli( <i>N,N'</i> -dietyloakryloamid),          |
|                    | poli(karboksyizopropylometakryloamid),          |
|                    | poli( <i>N</i> -etyloakryloamid)                |
| światło            | pochodne akryloamidu z grupami azobenzenowymi   |
| pole elektryczne   | kopolimery kwasu akrylowego i akryloamidu       |

Podanie substancji leczniczej do organizmu w kontrolowany sposób jest zazwyczaj kluczowe dla uzyskania odpowiedniego efektu terapeutycznego. Jako najważniejsze elementy tego podania można wymienić dostarczenie substancji czynnej do pożądanego miejsca, np. do receptora farmakologicznego, we właściwym czasie oraz w odpowiednim stężeniu. „Inteligentne polimery” używane są w celu dostarczenia substancji leczniczych we właściwym czasie i stężeniu w wyniku zadziałania konkretnego bodźca, np. wynikającego ze zmian fizjologicznych, metabolicznych w ludzkim organizmie. Jeśli chodzi o polimery termowrażliwe, to sieci polimerowe mogą się np. zapadać pod wpływem wzrostu temperatury, dzięki czemu dochodzi do opróżnienia przestrzeni pomiędzy łańcuchami polimeru i uwalniania substancji leczniczej z nośnika; w niektórych przypadkach może dochodzić do pęcznienia makromolekuły w wyniku wzrostu temperatury [9-11].

#### **4. Termowrażliwe podłoża hydrożelowe**

Polimery hydrofilowe w środowisku wodnym tworzą zdyspergowane układy, w których poszczególne makromolekuły mogą łączyć się w większe struktury, za pomocą wiązań kowalencyjnych, jonowych lub wodorowych. Hydrożele termowrażliwe jako kowalencyjnie połączone sieci polimerowe wykazują zmianę stopnia pęcznienia m.in. w odpowiedzi na bodziec jakim jest temperatura. Ze względu na wysoką zawartość wody właściwości hydrożeli przypominają właściwości tkanek biologicznych, co zapewnia doskonałą biokompatybilność. Pojedyncze cząstki hydrożelowe mogą być nośnikami dla określonych substancji leczniczych.

W obecności patogenów temperatura ciała ludzkiego, lub określonej tkanki, często odbiega od wartości fizjologicznej. Odchylenie to może działać jako bodziec, który powoduje uwalnianie substancji aktywnych [12].

Hydrożele termowrażliwe są zwykle skonstruowane na bazie polimerów wykazujących tzw. dolną krytyczną temperaturę rozpuszczania (lower critical solution temperature, LCST). Żele te tworzą transparentne układy w temperaturach niższych od określonej wartości i zazwyczaj ich struktury zapadają się wraz ze wzrostem temperatury otoczenia; często prowadzi to do agregacji makromolekuł. Poniżej wartości LCST cząsteczki wody tworzą wiązania wodorowe z grupami polarnymi

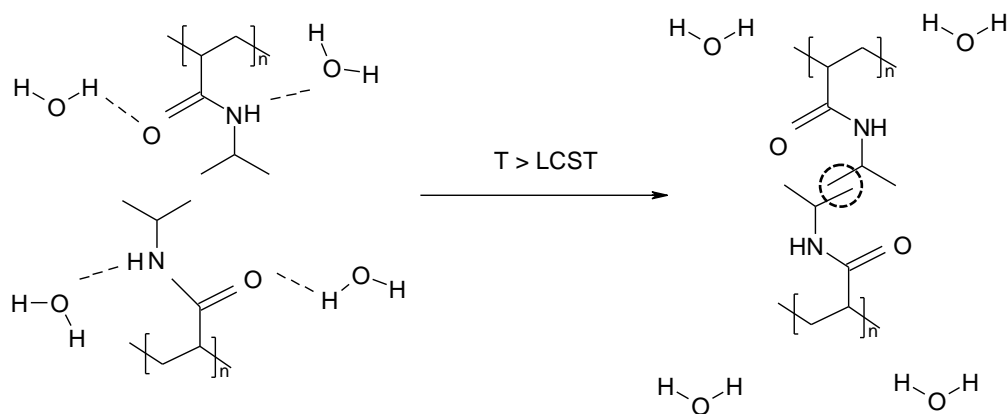
polimeru i układają się wokół grup hydrofobowych. Powyżej wartości LCST, związane wcześniej cząsteczki wody odzepiają się od cząsteczki makromolekuły i dochodzi do zapadnięcia się sieci polimerowej, poprzez wytworzenie wiązania hydrofobowego w podwyższonej temperaturze [6]. W tabeli 2 przedstawiono wybrane rodzaje polimerów posiadające LCST bliskie temperatury fizjologicznej ciała ludzkiego.

Tabela 2. Roztwory wodne polimerów posiadające LCST blisko temperatury fizjologicznej ciała ludzkiego.

| Nazwa polimeru                 | Wartość LCST [°C] |
|--------------------------------|-------------------|
| poli (N-izopropylakryloamid)   | 30 - 34           |
| poli (N, N – dietylakryloamid) | 32 - 34           |
| poli winylometylowy eter       | 37                |
| poli (N-winylokaprloaktam)     | 30 - 50           |
| poli (pentapeptyd) elastyny    | 28 – 30           |

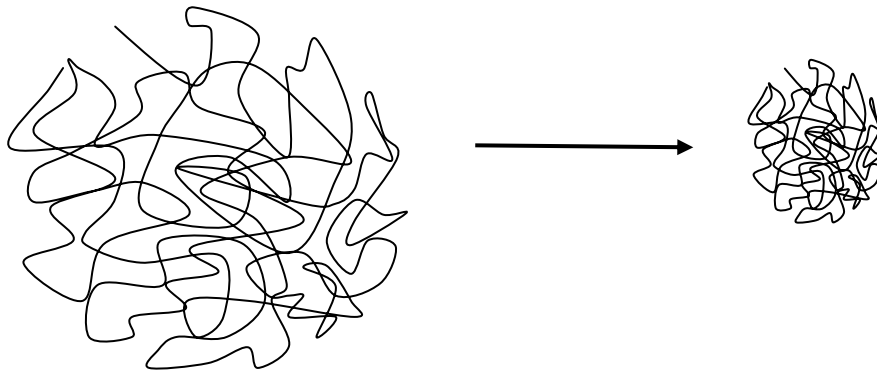
## 5. Poli (N-izopropylakryloamid) – charakterystyka oraz zastosowanie

Poli (N-izopropylakryloamid) (pNIPA) jest polimerem termowrażliwym oraz uznawanym za biokompatybilny, który od lat wzbudza wielkie zainteresowanie. Jego temperatura przejścia fazowego jest bliska temperaturze fizjologicznej człowieka i wynosi dla czystego polimeru na bazie monomeru N-izopropylakryloamidu, zgodnie z dostępną bibliografią, ok. 32 °C. Czyni go to bardzo interesującym materiałem. Wykorzystywany może być do produkcji preparatów o kontrolowanym uwalnianiu substancji leczniczych. Wartość LCST dla pNIPA nie zależy od masy cząsteczkowej ani od stężenia, jej miarę można zmienić poprzez wpływ na równowagę hydrofilowo – hydrofobową w makrocząsteczce [13]. Na rysunku 1 przedstawiono przemianę fazową pNIPA.



Rysunek 1. Schemat przemiany fazowej pNIPA: linią przerywaną zaznaczono schematycznie wiązania wodorowe, kółkiem oznaczono schematycznie wiązanie hydrofobowe pomiędzy łańcuchami polimeru.

Podstawy zagadnień syntezy mikrożeli na bazie NIPA zostały przedstawione przez Peltona i Chibante w latach 80 tych XX wieku [14]. pNIPA jest termowrażliwym polimerem, który zmodyfikowany odpowiednimi środkami sieciującymi jest zdolny do tworzenia struktur trójwymiarowych. Jak wspomniano powyżej, krytyczna temperatura przejścia fazowego wynosi 32-33 °C w rozcieńczonych wodnych roztworach i jest bliska fizjologicznej temperaturze powierzchni skóry człowieka. Wzrost temperatury roztworu powyżej 33 °C sprawia, że cząsteczki będące w postaci rozproszonej i rozciągniętej struktury przechodzą w postać zwartych form w kształcie kuleczek. Przemiana ta następuje w wyniku wzrostu temperatury o kilka stopni, obserwuje się wówczas zmętnienie roztworu polimeru. Dochodzi wtedy do agregacji cząstek kulistych oraz oddzielenia fazy od roztworu. W związku z zaistniałą przemianą następuje uwolnienie substancji czynnej wprowadzonej do hydrożelu utworzonego na bazie termowrażliwego pNIPA, pod wpływem czynnika zewnętrznego jakim jest temperatura. W punkcie LCST obserwuje się przemianę fazową i lepka ciecz przechodzi w formę sprężystą. Termowrażliwe polimery cieszą się dużym zainteresowaniem, m.in. ze względu na to, iż dość łatwo można manewrować bodźcem temperaturowym. Kolejnym argumentem za ich potencjalnym zastosowaniem jest to, iż polimery posiadające LCST blisko temperatury fizjologicznej wykazują możliwości do wykorzystania ich na polu biomedycznym [15-16]. Na rysunku 2 przedstawiono schemat przemiany fazowej pNIPA zainicjowany wzrostem temperatury w środowisku wodnym.



Rysunek 2. Przemiana fazowa pNIPAA zainicjowana poprzez wzrost temperatury w środowisku wodnym.

Jednym ze sposobów na uzyskanie łańcuchów polimerowych pNIPAA jest proces prowadzony przy użyciu inicjatora redoks, który zapoczątkowuje reakcję polimeryzacji; może to być nadsiaroczan amonu (APS), nadsiaroczan potasu (KPS), bądź azobis-(izobutyronitryl) (AIBN). Każda z cząsteczek inicjatora powodująca aktywację, może stać się centrum polimeryzacji. Sferyczne struktury powstają wokół centrum polimeryzacji, są to cząstki stałe, zdyspergowane w fazie wodnej. Otrzymany materiał jest wypełniony wodą i łączy się w obszarach polimeru, w którym występują hydrofilowe grupy funkcyjne. Podwyższona temperatura podczas prowadzonej syntezy wpływa na izolację fazy polimerowej o niskiej zawartości wody z zewnętrznej fazy wodnej. Wolne rodniki pochodzące od cząsteczki inicjatora rozpuszczają się w wodzie, pozostają w roztworze, a co za tym idzie początkowym miejscem reakcji pozostaje faza wodna. Z upływem czasu trwania reakcji dochodzi do tworzenia się łańcuchów oligomerowych, które są amfifilowe ze względu na obecność grup jonowych łańcucha lipofilowego powstałego polimeru. Następnie powstają struktury micelarne, później większe cząstki stabilizowane przez wprowadzenie środków sieciujących. Grupy hydrofilowe tworzą zewnętrzną warstwę miceli. Ze względu na ładunek powierzchniowy dochodzi do wzajemnego odpychania się co stabilizuje koloid. Dodanie elektrolitu w trakcie prowadzenia reakcji, np. NaCl powoduje tworzenie się większych cząstek koloidalnych, poprzez zmniejszenie sił odpychających między cząstkami. Najczęściej stosowanymi czynnikami do inicjacji reakcji polimeryzacji są: temperatura, światło bądź promieniowanie ultrafioletowe czy rentgenowskie [14]. Inicjator KPS najczęściej jest stosowany w tandemie z  $N,N,N',N'$ -

tetrametyloetylenodiaminą (TEMED). Jest to pochodna diaminy, pełniąca w procesie polimeryzacji funkcję aktywatora, przyspieszającego tworzenie się wolnych rodników.

W celu uzyskania pochodnych NIPA należy właściwie opracować skład substratów: NIPA jako główny monomer, inicjator, środek sieciujący, komonomer. Proces polimeryzacji przeprowadza się w jednym reaktorze. Skład jakościowy mieszaniny w reaktorze może być dobierany w zależności od tego jakie pochodne są pożądane. Komonomery mogą stanowić kwas akrylowy, kwas metakrylowy, kwas fumarowy, akryloamid, kwas maleinowy, N-winylopirolidon itd. Dodatkowe komonomery stosowane są w celu uzyskania specyficznych właściwości hydrożelu. Zainteresowanie wzbudzają kopolimery blokowe, które składają się z różnych segmentów. Są to związki zbudowane z części termowrażliwej oraz z segmentu rozpuszczalnego w wodzie [17-18], co prowadzi do modyfikacji LCST poprzez kopolimeryzację z innymi monomerami. Zwykle dodatek monomerów hydrofilowych zwiększa LCST, podczas gdy monomery hydrofobowe prowadzą do obniżenia wartości LCST [19]. Jako segmenty hydrofilowe mogą być stosowane następujące związki: N, N – dimetyloakryloamid [20], N-hydroksymetyloakryloamid [21], kwas akrylowy [22-23], akrylan sodu [24], akryloamid [23, 25], N-hydroksyetyloakryloamid (HEAA) [14, 17]. HEAA jest hydrofilowym monomerem, jest biogodny oraz posiada sieciujące grupy hydroksylowe, które mogą świadczyć o utrzymaniu stabilnej struktury. Czynniki sieciujący wpływają na stabilność otrzymanego produktu. Ilość użytego środka sieciującego jest jednym z najważniejszych czynników wpływających na stopień pęcznienia żelu. Zwiększenie jego ilości jest jedną z metod, za pomocą której można zwiększyć wytrzymałość mechaniczną hydrożelu [26].

Najczęściej stosowanym czynnikiem sieciującym jest N,N–metylenobisakryloamid, w przeprowadzonych badaniach ocenia się wpływ czynnika na właściwości fizykochemiczne otrzymanych pochodnych NIPA. Usieciowany, termowrażliwy polimer reaguje zmianą objętości na zmiany temperatury. Kurczy się bądź pęcznieje adekwatnie powyżej lub poniżej temperatury przemiany fazowej (VPTT) [18]. W procesie tym dochodzi do tworzenia się lub zrywania odwracalnych wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami wody i hydrofilowymi grupami w łańcuchach polimerowych. Termoczułe polimery mogą być usieciowane, np.: N,N – metylenobisakryloamidem [19, 23] czy dimetakrylanem glikolu etylenowego [27].

Poprzez odpowiednie modyfikacje hydrożeli na bazie NIPA można manewrować wartościami VPTT. Do struktury dodaje się adekwatne kopolimery z pożądanymi grupami funkcyjnymi, które modernizują właściwości otrzymywanych pochodnych NIPA [28]. pNIPA jest jednym z najbardziej znanych oraz badanych polimerów, jeśli chodzi o zastosowanie biomedyczne, ponieważ jego LCST jest bliskie temperaturze fizjologicznej ciała. W badaniach przeprowadzonych przez zespół D. S. Jonesa opisano wykorzystanie hydrożeli na bazie pNIPA do potencjalnego zastosowania jako opatrunki na rany oraz jako nośniki do kontrolowanego uwalniania leków przeciwdrobnoustrojowych [9]. W badaniach nad dostarczaniem genów do ludzkiego organizmu wykorzystano wpływ temperatury na polimery. W eksperymentach przeprowadzonych przez zespół M. D. Lavigne zastosowano dwa skoniugowane polimery: polietylenoiminę (PEI) oraz pNIPA. Wykorzystano właściwości termowrażliwe polimerów i udowodniono, iż są w stanie indukować zależną od temperatury kontrolę ekspresji genów [29].

Inna grupa badaczy zsyntetyzowała termowrażliwy kopolimer: trimetylochitozan-g-pNIPA, jako nośnik genów o stosunkowo wysokiej wydajności oraz o małej cytotoksyczności [30]. Inżynieria tkankowa to kolejna dziedzina, która wykorzystuje specyficzne właściwości inteligentnych polimerów. Syntezuje się kopolimery, które stosuje się jako substraty umożliwiające wzrost oraz proliferację komórek [31]. Termowrażliwy NIPA znalazł również zastosowanie w inżynierii tkanki kostnej. Wyniki przedstawione w pracy badawczej wskazują na to, że hydrożele na bazie NIPA mają zdolność mineralizowania tkanki kostnej, dzięki hydrofobowości materiału [32].

Żele pochodne NIPA wrażliwe na temperaturę zawierające substancję przeciwbakteryjną, zaprojektowano także do zastosowania jako implanty w leczeniu zaburzeń jamy ustnej. Badacze udowadniają, iż kontrolę uwalniania leku można uzyskać manipulując składem surowcowym oraz zmianą temperatury. Interesującym wnioskiem w tych badaniach jest fakt, że poniżej wartości LCST uwalnianie leku następuje poprzez dyfuzję, natomiast powyżej LCST uwalnianie jest dwufazowe i ilościowo ograniczone [6].

Okuyama i in. opisali kinetykę pęcznienia sieci polimerowej na bazie NIPA. Zbadano kinetykę uwalniania kwasu benzoesowego oraz benzoesu sodu.



Udowodniono znaczenie stopnia usieciowania hydrożelu, a także charakteru wybranego leku na profil uwalniania [26]. Coughlan i in. wykazali wpływ właściwości substancji leczniczej związanej w sieci polimerowej, stężenia środka sieciującego i stężenia tej substancji leczniczej na szybkość uwalniania leku z żeli pNIPA [33-34]. pNIPA sprawdza się również w zastosowaniu w opatrunkach na rany. Preparaty pNIPA wykazują również odpowiednie właściwości aplikacyjne, takie jak: przyczepność, łatwość odrywania od opatrywanej powierzchni rany oraz wchłanianie wysięku. Hydrożele na bazie NIPA charakteryzują się zwiększoną lepkością. Cecha ta wiązana jest z hydrofilowością materiału [35-36].

Zasadne jest również wykorzystanie pochodnych NIPA do konstruowania postaci leku podawanych na skórę, m.in. ze względu na ich potencjalne foto-ochronne działanie. Przeprowadzone badania wykazują zdolność tych materiałów polimerowych do pochłaniania promieniowania UV [37].

## **Metody**

### **1. Otrzymywanie polimerów pochodnych NIPA**

Do otrzymania szeregu pochodnych N-izopropylakrylamidu (NIPA) PIMP 1 – PIMP 13 wykorzystano metodę polimeryzacji strąceniowej, bez zastosowania związków powierzchniowo czynnych (surfactant free emulsion polymerization, SFEP). Synteza każdego z polimerów przebiegała w sposób następujący: naczynie reakcyjne wypełniono 600 ml dejonizowanej wody o temperaturze 70 °C (w przypadku polimerów z użyciem aktywatora TEMED 35 °C), następnie dodano 0,5 g inicjatora wolnorodnikowego, rozpuszczonego w 200 ml dejonizowanej wody i pozostawiono do stabilizacji temperatury w zakresie ok. 70 °C (PIMP 5 oraz PIMP 6 - 35 °C). W kolejnym etapie dodawano odpowiednią mieszaninę pozostałych odczynników, także rozpuszczoną w 200 ml wody dejonizowanej. Szybkość mieszadła magnetycznego, przez cały czas trwania reakcji, ustawiono na 120 rpm, temperatura reakcji wynosiła 70 °C (w przypadku PIMP 5 oraz PIMP 6 - 35 °C) i była kontrolowana za pomocą systemu termometru elektronicznego, połączonego zwrotnie z elementem grzejnym mieszadła. Na podstawie badań pilotażowych oraz obserwacji punktu

zmętnienia i przewodnictwa mieszaniny reakcyjnej czas trwania ustalono na 6 godzin zegarowych.

Otrzymano 13 różnych polimerów, pochodnych NIPA, z czego w 7 z nich rolę inicjatora wolnorodnikowego pełnił inicjator kationowy - 2,2'-azobis(2-metylopropionamidyny) dichlorowodorek (AMP), dostarczający terminalnych zasadowych grup amidynowych. Natomiast w 6 pozostałych mieszaninach reakcyjnych jako inicjatora użyto nadsiarczan potasu (KPS), który zapewnił wprowadzenie do struktury polimeru terminalnej grupy anionowej o charakterze kwasowym. Skład surowcowy zsyntetyzowanych materiałów przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Skład surowcowy badanych polimerów.

| Akronim* | Akronim** | Monomer     | Inicjator  |            | Aktywator    | Czynnik sieciujący |                 | Komonomer     |             |            | Bibliografia<br>własna |
|----------|-----------|-------------|------------|------------|--------------|--------------------|-----------------|---------------|-------------|------------|------------------------|
|          |           |             | anionowy   | kationowy  |              | krótkołańcuchowy   | długołańcuchowy | hydrofilowy   | lipofilowy  |            |                        |
|          |           | NIPA<br>[g] | KPS<br>[g] | AMP<br>[g] | TEMED<br>[g] | MBA<br>[g]         | PEG-DMA<br>[g]  | PEG-MA<br>[g] | HEAA<br>[g] | NTB<br>[g] |                        |
| PIMP 1   | T1        | 5,0         | 0,5        | -          | -            | -                  | -               | -             | 0,5         | -          | [38]                   |
| PIMP 2   | T2        | 5,0         | 0,5        | -          | -            | 0,5                | -               | -             | 0,5         | -          |                        |
| PIMP 3   | T3        | 5,0         | 0,5        | -          | -            | -                  | 0,5             | -             | 0,5         | -          |                        |
| PIMP 4   | A1        | 5,0         | 0,5        | -          | -            | 0,5                | -               | -             | -           | 0,5        |                        |
| PIMP 5   | A2        | 5,0         | 0,5        | -          | 2,5          | 0,5                | -               | -             | -           | 0,5        | [39]                   |
| PIMP 6   | A3        | 5,0         | 0,5        | -          | 2,5          | -                  | 0,5             | -             | -           | -          |                        |
| PIMP 7   | F1        | 5,0         | -          | 0,5        | -            | 0,5                | -               | -             | -           | -          | [40]                   |
| PIMP 8   | F2        | 5,0         | -          | 0,5        | -            | 0,5                | -               | 0,5           | -           | -          |                        |
| PIMP 9   | F3        | 5,0         | -          | 0,5        | -            | 0,5                | -               | -             | -           | 0,5        |                        |
| PIMP 10  | F4        | 5,0         | -          | 0,5        | -            | -                  | 0,5             | -             | -           | -          |                        |
| PIMP 11  | T4        | 5,0         | -          | 0,5        | -            | -                  | -               | -             | 0,5         | -          | [38]                   |
| PIMP 12  | T5        | 5,0         | -          | 0,5        | -            | 0,5                | -               | -             | 0,5         | -          |                        |
| PIMP 13  | T6        | 5,0         | -          | 0,5        | -            | -                  | 0,5             | -             | 0,5         | -          |                        |

NIPA – N-izopropylakrylamid, PEG-MA – akrylan eteru metylowego polietylenoglikolu, NTB – N-tertbutyloakrylamid, MBA – N,N'-metylenobisakryloamid, PEG-DMA – dimetakrylan polietylenoglikolu, HEAA – hydroksyetyloakrylamid, KPS – nadsiarzan potasu, AMP – 2,2'-azobis (2-metylopropionamidyna), TEMED - (N,N,N',N'-tetrametyloetylenodiamina)

\* nazewnictwo polimerów wykorzystane do potrzeb autoreferatu

\*\* nazewnictwo polimerów używane w pracach opublikowanych

## 2. Dializa i badanie przewodnictwa

W celu oczyszczenia zsyntetyzowanych polimerów zastosowano metodę dializy oraz pomiar przewodnictwa elektrycznego. Wartość przewodnictwa elektrycznego roztworu zdeterminowana jest poprzez zawartość w nim poszczególnych jonów, przewodnictwo jest wyższe im wyższe jest stężenie zdysocjowanych związków w roztworze. Otrzymane roztwory polimerów zawierały nieprzereagowane monomery, czynniki sieciujące czy inicjatory. Proces oczyszczania prowadzono do momentu, gdzie przewodnictwo roztworu akceptorowego osiągnęło wartość przewodnictwa stosowanej w badaniu wody destylowanej lub nie zmieniało się znacznie w określonym czasie. Do oczyszczenia roztworów polimerów przygotowano worki dializacyjne wykonane z błony półprzepuszczalnej o charakterystycznej wartości MWCO (molecular weight cut off) równej 14000 *Daltonów*. Błona dializacyjna była zanurzona w wodzie dejonizowanej przez 24 godziny przed zastosowaniem do badania. Każdy z worków dializacyjnych został uzupełniony 170 ml otrzymanego roztworu, końce błony zostały zamknięte klipssem. Tak przygotowane worki umieszczono w szklanych cylindrach, gdzie objętość znajdującego się w nim płynu akceptorowego – wody dejonizowanej wynosiła 1000 ml. Do pomiaru przewodnictwa użyto urządzenia *Elmetron multifunction computer meter CX-741* oraz czujnika konduktometrycznego *Eurosensor EPS-22M*, temperatura pomiaru wynosiła  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Przebieg dializy monitorowano poprzez pomiar przewodnictwa kompartmentu akceptorowego. W pierwszym etapie oczyszczania przewodnictwo kontrolowano przez 72 godziny, a pomiary wykonywano co 12 godzin. Następnie pomiary i wymianę płynu zewnętrznego dokonywano odpowiednio co 24, 60, 120, 180 oraz 250 godzin oczyszczania.

## 3. Badanie pH

W celu wykonania badania pH wykorzystano metodą potencjometryczną. Wszystkie pomiary przeprowadzono w temperaturze  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  z wykorzystaniem aparatu ELEMTRON CPC-511 oraz elektrody ELMETRON EPS-1. Zmierzono wartość pH poszczególnych substratów używanych do syntezy mikrosfer, a także wartość pH otrzymanych kopolimerów przed i po procesie oczyszczania. Poszczególne pomiary

zostały przeprowadzone pięciokrotnie w temperaturze  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  a do przygotowania roztworów substratów wykorzystano wodę dejonizowaną.

#### **4. Metoda dynamicznego rozproszenia światła (DLS) oraz pomiar potencjału elektrokinetycznego zeta**

Średnice hydrodynamiczne otrzymanych wodnych dyspersji polimerów zmierzono za pomocą metody DLS (Dynamic Light Scattering) wykorzystując urządzenie Zetasizer Nano ZS ZEN 3600 produkcji Malvern, przy długości fali 678 nm i kącie  $90^{\circ}$ , stosując kuwetę polistyrenową. Pomiar każdej próbki przeprowadzono pięciokrotnie. Pomiar potencjału zeta zostały przeprowadzone równolegle w tym samym urządzeniu, gdzie została zbadana średnica hydrodynamiczna cząstek. Potencjał zeta, inaczej potencjał elektrokinetyczny, stanowi różnicę potencjałów między medium dyspersyjnym, a nieruchomą warstwą jonów znajdującą się wokół badanej cząstki.

#### **5. Badanie spektroskopowe w podczerwieni**

Badanie przeprowadzono przy użyciu spektrofotometru podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) i przystawką ATR produkcji Thermo Scientific USH model Nicolet iS50. Jest to przystawka wysokociśnieniowa z monolitycznym kryształem diamentowym do pomiaru widm odbiciowych. Do analizy widm zastosowano program Omnic Spectra.

#### **6. Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego**

Widma  $^1\text{H-NMR}$  użytych do syntez monomerów, a także otrzymanych cząstek zmierzono wykorzystując spektroskop NMR Bruker 300 MHz. Pomiar były przeprowadzone w temperaturze  $24^{\circ}\text{C}$ . Odważono 5 mg uprzednio osuszonych polimerów, następnie rozpuszczono je w 0,8 ml DMSO- $\text{D}_6$ . Wszystkie monomery oraz produkty były rozpuszczalne w DMSO, filtracja i wirowanie nie były potrzebne.

## **7. Skaningowa mikroskopia elektronowa**

Oczyszczone zawiesiny polimerów poddano liofilizacji. Osuszone polimery umieszczono na płytce krzemowej, następnie wprowadzono do skaningowego mikroskopu elektronowego (Scanning Electron Microscope, SEM). Pomiary zostały wykonane w temperaturze pokojowej. Zdjęcia SEM wykonano dzięki współpracy z Wydziałem Elektroniki Mikrosystemów i Fotoniki Politechniki Wrocławskiej.

## **8. Pomiar masy cząsteczkowej**

Do przeprowadzenia pomiaru masy cząsteczkowej wykorzystano urządzenie Zetasizer Nano, które określa masę cząsteczkową na podstawie badania statycznego rozpraszania światła (Static Light Scattering, SLS). Na cząstki w próbce pada światło laserowe, które rozpraszane jest we wszystkich kierunkach. Metoda SLS wykorzystuje uśrednione w czasie natężenie rozpraszanego światła. Masa cząsteczkowa polimeru mierzona jest na podstawie pomiarów szeregu próbek o wzrastających stężeniach. W tym celu przygotowano szereg stężeń: 0,2 g/l, 0,25g/l, 0,4 g/l, 0,5 g/l, 0,6 g/l, 0,8 g/l, 1,0 g/l, 1,25 g/l, 1,5 g/l, 2,0 g/l.

## **9. Przygotowanie żeli na bazie hydroksypropylometylocelulozy**

Hydrożele zostały przygotowane w powtarzalny sposób metodą ex tempore. Naproksen sodowy w ilości 0,4 g rozsypano na powierzchni odważonej wody dejonizowanej i zmieszano. Następnie dodano 0,5 g zawiesiny polimerów oraz 0,5 g hydroksypropylometylocelulozy i uzupełniono wodą dejonizowaną do 10 g. Przygotowane w ten sposób preparaty pozostawiono w temperaturze 8 °C na 24 godziny.

## **10. Kinetyka uwalniania substancji czynnej**

Badanie kinetyki uwalniania zostało przeprowadzone w aparacie łopatkowym firmy Erweka z szybkością mieszania około 50 rpm w naczyniu o pojemności 1000 ml wypełnionym wodą dejonizowaną. Temperatura procesu wynosiła odpowiednio  $22 \pm 0,5$  lub  $42 \pm 0,5$  °C, czas badania wynosił 2 godziny. Dla każdego żelu przeprowadzono

dwie próby, każda w osobnym naczyniu. Pomiar ilości uwolnionej substancji był przeprowadzony za pomocą spektrofotometru przy długości fali  $\lambda=262$  nm.

W celu oceny kinetyki uwalniania substancji czynnej z termowrażliwych hydrożeli zastosowano modele matematyczne równanie szybkości reakcji pierwszego, drugiego oraz trzeciego rzędu, a także wykorzystano model Higuchi'ego. Otrzymane dane wykorzystano do obliczenia współczynników korelacji, czasu połowicznego uwalniania oraz stałej uwalniania.

## **Wyniki**

### **1. Wyniki pomiarów przewodnictwa**

Proces oczyszczania zsyntetyzowanych polimerów opierał się na dializie równowagowej, w której przebiegu regularnie mierzono wartości przewodnictwa w kompartmentie akceptorowym, zgodnie z opisem podanym w rozdziale o metodach badawczych. Po 12 godzinach oczyszczania wysokie wartości przewodnictwa, mieszczące się w zakresie  $8,33 - 18,89 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ , zaobserwowano wśród polimerów zawierających w swoim składzie inicjator anionowy. Jednak po 24 godzinach oczyszczania wartość przewodnictwa znacznie spadła do zakresu  $1,90 - 9,85 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Wyraźnie można zaobserwować, że grupa preparatów z komonomerem HEAA, a także te zawierające w swym składzie TEMED, zsyntetyzowane na bazie inicjatora anionowego, wykazały najmniejszy spadek wartości przewodnictwa w okresie 24-godzinnego oczyszczania.

Polimery zsyntetyzowane z udziałem inicjatora kationowego wykazywały w większości niższe wartości przewodnictwa w kompartmentie akceptorowym, bowiem po 12 godzinnym procesie oczyszczania zakres obejmował wartości w zakresie  $8,16 - 10,09 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ , natomiast po 24 godzinnym oczyszczaniu zakres ten wynosił  $1,53 - 7,16 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Seria mikrosfer z HEAA wykazywała wysokie wartości przewodnictwa. Tendencja spadkowa przewodnictwa utrzymywała się podczas całego procesu oczyszczania roztworów mikrosfer.

Można zauważyć, że przewodnictwo w grupie polimerów otrzymanych z zastosowaniem inicjatora anionowego charakteryzowało się wyższymi wartościami

po 60 godzinach procesu oczyszczania, niż przewodnictwo polimerów kationowych po tym samym okresie dializy. Przewodnictwo roztworu akceptorowego w układzie PIMP 4 uległo największej zmianie, po 12 godzinach uzyskana wartość wynosiła  $18,89 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ , natomiast po zakończeniu procesu oczyszczania otrzymano wynik  $0,33 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Proces oczyszczania polimerów prowadzono do czasu, kiedy płyn akceptorowy osiągał wartość przewodnictwa wody dejonizowanej używanej do procesu dializy. W prezentowanych pracach badawczych[38-40] podano skróconą informację na temat procedury oczyszczania.

## 2. Wyniki pomiarów pH

Pomiary wartości pH przeprowadzono dla wszystkich zsyntetyzowanych formuacji przed i po procesie oczyszczania. Wykonano także pomiary pH wszystkich odczynników, w odpowiednich stężeniach, użytych do syntezy mikrosfer w celu dokładniejszej interpretacji wyników.

Grupa mikrosfer zsyntetyzowanych przy udziale nadsiarczanu potasu - inicjatora anionowego wykazywała wartości w zakresie odczynu kwaśnego przed procesem oczyszczenia, z wyjątkiem preparatów PIMP 5 oraz PIMP 6, które wykazały odczyn zasadowy. W przebiegu procesu oczyszczania, odczyn roztworów mikrosfer zsyntetyzowanych przy udziale aktywatora TEMED pozostał zasadowy, jednak po zakończeniu oczyszczania wartość pH zbliżyła się do neutralnego.

Po procesie oczyszczania, w większości przypadków – z wyjątkiem podanych wyżej, pH roztworów preparatów wyraźnie się podwyższyło, jednak pozostało w zakresie odczynu kwaśnego. Podwyższenie wartości pH po procesie oczyszczania wynika z faktu, iż pH inicjatora jest kwaśne, wynosi 4,23. Dodatkowo w procesie oczyszczania usunięte zostały nieprzereagowane substraty, które wykazywały odczyn kwaśny. Wyniki przedstawiono w tabeli 4.

Mikrosfery, które zostały otrzymane przy obecności inicjatora kationowego 2, 2' – azobis – (2 – metylopropionamidu) wykazywały znacznie wyższe wyniki pomiarów pH od tych reprezentowanych przez poprzednią grupę związków. Wartości pH przed procesem oczyszczania wszystkich związków z tej grupy wykazywały odczyn kwaśny. Zaistniała sytuacja powstała najprawdopodobniej w wyniku obecności



w roztworze nieprzereagowanych substratów, które mają odczyn kwaśny. W preparatach PIMP 7 oraz PIMP 8 zanotowano nieznaczny wzrost pH, odczyn pozostał nadal kwaśny, mogło być to spowodowane wpływem dwutlenku węgla dostępnym w powietrzu. Jednak w polimerach PIMP 9 oraz PIMP 10 po procesie oczyszczania pH osiągnęło odczyn zasadowy, otrzymano wartości: 9,43 dla PIMP 9 oraz 9,05 dla PIMP 10. W preparatach PIMP 11, PIMP 12, PIMP 13 posiadających w swym składzie HEAA pH bardzo nieznacznie zmieniło swoje wartości, nadal pozostając w granicach pH ~ 6. Wyniki badań pH dołączono do referatu ze względu na ich znaczenie dla potencjalnych zastosowań na skórę lub błony śluzowe.

Tabela 4. Wartości pH poszczególnych substratów używanych do syntezy polimerów, w stężeniach stosowanych w omawianych procesach otrzymywania polimerów termowrażliwych (badania własne, nieopublikowane).

| Substrat | Wartość pH | SD   |
|----------|------------|------|
| NIPA     | 6,23       | 0,32 |
| NTB      | 4,14       | 0,11 |
| MBA      | 5,15       | 0,07 |
| HEAA     | 6,23       | 0,66 |
| KPS      | 4,23       | 0,05 |
| AMP      | 5,86       | 0,59 |
| PEG-MA   | 4,25       | 0,01 |
| PEG-DMA  | 5,95       | 0,09 |
| TEMED    | 8,5        | 0,15 |

### 3. Wartość potencjału elektrokinetycznego badanych polimerów w zakresie temperatur od 18 do 42 °C

Wartość potencjału zeta zmierzona w temperaturze 18 °C dla polimerów z inicjatorem anionowym kształtowała się w zakresie od -20,33 mV do 2,40 mV, natomiast w przypadku użycia inicjatora kationowego wyniki obejmowały zakres 27,40 mV do -3,06 mV. Biorąc pod uwagę wartości bezwzględne najwyższy potencjał wykazała formuła PIMP 4, zawierająca w swoim składzie inicjator anionowy. Z grupy posiadającej inicjator kationowy najwyższy bezwzględny potencjał został zanotowany dla preparatu PIMP 7, natomiast najniższą wartością bezwzględną charakteryzuje się preparat PIMP 13. Najniższą bezwzględną wartość spośród wszystkich formułek

posiadających w swoim składzie inicjator anionowy zaobserwowano dla preparatów PIMP 5 oraz PIMP 6, które zostały otrzymane na drodze syntezy z użyciem TEMEDu. Natomiast w grupie preparatów zawierających w swym składzie inicjator kationowy najniższą wartość bezwzględną wykazała formuacja PIMP 13, a najwyższą PIMP 7. Wraz ze wzrostem temperatury bezwzględna wartość potencjału zeta wzrastała w temperaturze 42 °C i była znacznie większa niż w temperaturze 18 °C. Wśród polimerów z zastosowanym inicjatorem anionowym wyniki mieściły się w zakresie – 28,87 mV do 35,67 mV, podczas gdy w polimerach z zastosowanym inicjatorem kationowym wartości obejmowały zakres 23,00 mV do 47,97 mV. Wyniki zostały przedstawione w tabeli 5. Czynniki potencjału zeta ma istotny wpływ na trwałość układów koloidalnych, stąd referat poszerzono o te dane.

Tabela 5. Wartości potencjału zeta dla polimerów PIMP 1 – PIMP 13 w temperaturach: 18 °C oraz 42 °C (badania własne, nieopublikowane).

| Polimer | Potencjał elektrokinetyczny |      |         |      |
|---------|-----------------------------|------|---------|------|
|         | 18 °C                       | SD   | 42 °C   | SD   |
| PIMP 1  | - 4,97                      | 0,94 | - 26,1  | 0,62 |
| PIMP 2  | - 8,26                      | 0,31 | - 17,57 | 1,46 |
| PIMP 3  | - 13,27                     | 1,05 | - 21,1  | 3,17 |
| PIMP 4  | - 20,33                     | 0,47 | - 28,87 | 0,90 |
| PIMP 5  | 2,4                         | 0,26 | 35,67   | 0,29 |
| PIMP 6  | -2,4                        | 0,27 | - 25,27 | 0,91 |
| PIMP 7  | 27,40                       | 0,53 | 47,97   | 0,23 |
| PIMP 8  | 22,70                       | 0,80 | 31,50   | 0,26 |
| PIMP 9  | 3,70                        | 0,01 | 35,73   | 0,99 |
| PIMP 10 | 9,07                        | 1,27 | 23,00   | 1,25 |
| PIMP 11 | - 3,06                      | 0,49 | 30,4    | 2,00 |
| PIMP 12 | -                           | -    | -       | -    |
| PIMP 13 | 1,69                        | 0,19 | 26,23   | 2,64 |

#### 4. Średnica hydrodynamiczna w temperaturze nieprzekraczającej

##### VPTT

Średnicę hydrodynamiczną zsyntetyzowanych polimerów mierzono w zakresie temperaturowym 18 - 42 °C. Zmierzona średnica hydrodynamiczna cząstek powstałych

w wyniku prowadzonej polimeryzacji wolnorodnikowej, przy użyciu inicjatora anionowego, znajdowała się w zakresie ok. 483 – 972 nm, w przypadku pomiarów prowadzonych w temperaturze 18 °C. Przy zastosowaniu inicjatora kationowego zaobserwowano szerszy zakres wartości średnicy hydrodynamicznej i wynosił on ok. 155 - 1619 nm.

W badaniu przeprowadzonym w temperaturze 42 °C, przekraczającej, zgodnie z otrzymanymi wynikami wartość VPTT, także wykazano zróżnicowanie wartości średnicy hydrodynamicznej wśród grupy cząstek zsyntetyzowanych z zastosowaniem inicjatora anionowego i kationowego. Jednakże wartości średnicy hydrodynamicznej były wyraźnie niższe przy podwyższonej temperaturze. W grupie makromolekuł otrzymanych z zastosowanym inicjatora anionowego wyniki badania średnicy hydrodynamicznej mieściły się w zakresie ok. 88 – 257 nm, natomiast preparaty z inicjatorem kationowym charakteryzowały się wartościami ok. 101 – 413 nm. Zwraca uwagę fakt zróżnicowania wartości odchyłeń standardowych średnic hydrodynamicznych pomiędzy szeregami cząstek badanych w 18 i w 42 °C, przy czym większe wartości odchyłeń obserwowano w temp. 18 °C.

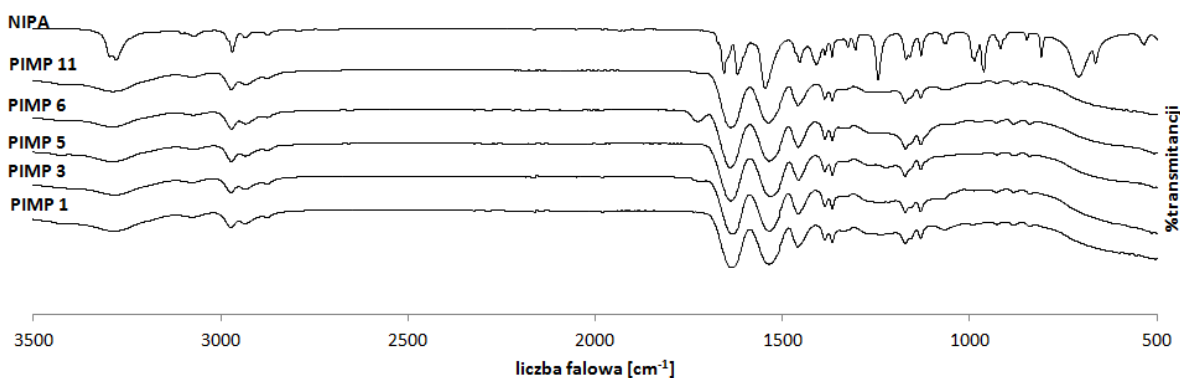
W celu dokładnego porównania wpływu temperatury na obserwowane zróżnicowanie średnicy hydrodynamicznej wyznaczono wartości wskaźnika zróżnicowania pola powierzchni i objętości kuli, obliczonego na podstawie uzyskanych z DLS wyników. Wartość  $R_v$  reprezentuje objętość cząstki w temperaturze 18 °C, jako krotność jej objętości w temperaturze 42 °C. Wartości te zestawiono w tabeli 6.

Tabela 6. Zróżnicowanie wymiarów otrzymanych cząstek za pomocą współczynnika różnicy średnicy (Rd), promienia (Rr), pola (Rs) i objętości (Rv).

| Polimer | Średnica<br>18 °C   | SD      | promień | pole   | objętość | Średnica<br>42 °C | SD     | promień | pole   | objętość | Rd     | Rr    | Rs    | Rv    | VPTT   |       |
|---------|---------------------|---------|---------|--------|----------|-------------------|--------|---------|--------|----------|--------|-------|-------|-------|--------|-------|
|         |                     |         |         |        |          |                   |        |         |        |          |        |       |       |       | °C     |       |
| PIMP 1  | Inicjator anionowy  | 868,10  | 146,8   | 434,05 | 2,37     | 0,34              | 87,70  | 0,36    | 43,85  | 0,02     | 0,0004 | 9,90  | 9,90  | 97,98 | 969,86 | 35    |
| PIMP 2  |                     | 915,30  | 3,11    | 457,65 | 2,63     | 0,40              | 245,20 | 5,31    | 122,60 | 0,19     | 0,0077 | 3,73  | 3,73  | 13,93 | 52,02  | 37-39 |
| PIMP 3  |                     | 483,20  | 35,00   | 241,60 | 0,73     | 0,06              | 115,90 | 4,84    | 57,95  | 0,04     | 0,0008 | 4,17  | 4,17  | 17,38 | 72,47  | 38    |
| PIMP 4  |                     | 577,00  | 1,87    | 288,55 | 1,05     | 0,10              | 256,60 | 1,74    | 128,30 | 0,21     | 0,0088 | 2,25  | 2,25  | 5,06  | 11,38  | 28    |
| PIMP 5  |                     | 861,50  | 72,05   | 430,75 | 2,33     | 0,33              | 127,23 | 1,10    | 63,60  | 0,05     | 0,0011 | 6,77  | 6,77  | 45,87 | 310,67 | 30    |
| PIMP 6  |                     | 971,90  | 30,79   | 485,95 | 2,97     | 0,48              | 226,40 | 5,80    | 113,20 | 0,16     | 0,0061 | 4,29  | 4,29  | 18,43 | 79,11  | 28-32 |
| PIMP 7  | Inicjator kationowy | 798,48  | 2,40    | 399,24 | 2,00     | 0,27              | 413,20 | 1,91    | 206,60 | 0,54     | 0,0369 | 1,93  | 1,93  | 3,73  | 7,22   | 35    |
| PIMP 8  |                     | 896,58  | 16,48   | 448,29 | 2,52     | 0,38              | 344,00 | 1,98    | 172,00 | 0,37     | 0,0213 | 2,61  | 2,61  | 6,79  | 17,70  | -     |
| PIMP 9  |                     | 332,48  | 45,75   | 166,24 | 0,35     | 0,02              | 100,70 | 0,89    | 50,35  | 0,03     | 0,0005 | 3,30  | 3,30  | 10,90 | 35,99  | 26    |
| PIMP10  |                     | 155,46  | 24,57   | 77,73  | 0,08     | 0,00              | 163,60 | 0,76    | 81,80  | 0,08     | 0,0023 | 0,95  | 0,95  | 0,90  | 0,86   | -     |
| PIMP11  |                     | 1064,00 | 29,49   | 532,00 | 3,55     | 0,63              | 178,90 | 3,66    | 89,45  | 0,10     | 0,0030 | 5,95  | 5,95  | 35,37 | 210,37 | 36    |
| PIMP12  |                     | -       | -       | -      | -        | -                 | -      | -       | -      | -        | -      | -     | -     | -     | -      | -     |
| PIMP13  |                     | 1618,10 | 56,14   | 530,05 | 8,22     | 2,22              | 141,80 | 0,61    | 70,90  | 0,06     | 0,0015 | 11,41 | 11,41 | 130,2 | 1485,9 | 37    |

## 5. FTIR - spektroskopia w podczerwieni

W celu oceny budowy chemicznej zsyntetyzowanych związków wykonano spektroskopię fourierowską użytych do syntezy związków oraz otrzymanych produktów. W widmie FTIR głównego monomeru NIPA zaobserwowano sygnał o częstotliwości powyżej  $3000\text{ cm}^{-1}$ . Metoda polimeryzacji strąceniowej bez zastosowania emulgatora spowodowała nasycenie wiązania winylowego, które zostało zaobserwowane w widmie FTIR głównego monomeru, a w widmach otrzymanych mikrosfer zauważa się zniknięcie charakterystycznej dla NIPA częstotliwości. Drgania przy częstotliwościach  $3104$  oraz  $3030\text{ cm}^{-1}$  przedstawiają drgania rozciągające nasyconego wiązania podwójnego pomiędzy atomami węgla, zaobserwowano ich zanik w widmach otrzymanych polimerów. Zanik pasm częstotliwości w obszarach  $1400\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$  sugeruje o zakończeniu procesu syntezy. Na rysunku 1 przedstawiono widma wybranych mikrosfer.



Rysunek 3. Widma wybranych polimerów oraz głównego monomeru NIPA

([39] oraz badania nieopublikowane).

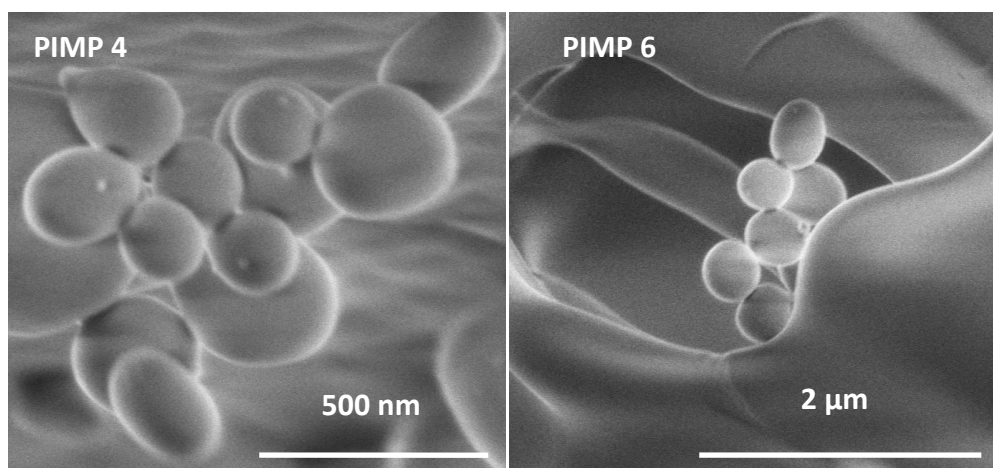
## 6. Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego

Strukturę chemiczną zsyntetyzowanych polimerów, a także użytych do syntezy monomerów oceniono również za pomocą spektroskopii magnetycznej rezonansu jądrowego. Charakterystyczne dla NIPA multiplety zostały zaobserwowane w obszarze  $5.5\text{--}6.4\text{ ppm}$ . Sygnałów tych brakuje na widmach otrzymanych mikrosfer, co jest wynikiem procesu polimeryzacji oraz zaniku nieprzereagowanych monomerów. Sygnały obecne w regionie  $3.85\text{ ppm}$  wskazują na obecność protonów trzeciorzędowych grupy izopropylowej. Szeroki sygnał  $1.25\text{ ppm}$  w widmach mikrosfer, do których syntezy został użyty MBA potwierdza obecność protonów grupy

metylenowej (MBA). Obecność PEG-DMA jest zaznaczona poprzez multiplet grup etylenowych w obszarze 3.4 – 3.9 ppm. Sygnały obecne przy 1.32 ppm dowodzą obecności grupy metylenowej pochodzącej od NTB [38–40].

## 7. Skaningowa mikroskopia elektronowa

Rozmiar oraz kształt wybranych polimerów potwierdzono przez wykonanie zdjęć w mikroskopie elektronowym. Na rysunku 4 przedstawiono dwa polimery PIMP 4 oraz PIMP 6 zsyntetyzowane przy użyciu TEMEDu. Uzyskane obrazy wskazują na niejednorodność otrzymanych cząstek. Mniejszy rozmiar cząstek polimeru PIMP 4 może być wynikiem zastosowania innego rodzaju środka sieciującego [39].



Rysunek 4. Zdjęcia SEM polimerów PIMP 4 oraz PIMP 6.

## 8. Masa cząsteczkowa zsyntetyzowanych polimerów

Masę cząsteczkową ( $M_w$ ) zsyntetyzowanych polimerów oceniano w temperaturze 25 °C. Wyniki przedstawiono w tabeli 6. Obserwuje się zauważalne różnice w wynikach. Niskie wartości  $M_w$  odnotowano dla polimerów PIMP 5, PIMP 8 oraz PIMP 11. Wysokie wartości  $M_w$  reprezentują cząstki PIMP 6 oraz PIMP 9. PIMP 6 wykazuje ekstremalną wartość  $M_w$ , jest to polimer do którego syntezy użyto aktywatora inicjatora tj. TEMEDu, a ponadto posiada w swoim składzie długołańcuchowy czynnik sieciujący PEG-DMA [38, 39].

Tabela 7. Oszacowane średnie masy cząsteczkowe polimerów PIMP 1 – PIMP 13

[38, 39] oraz badania nieopublikowane.

| Polimer | Średnia masa cząsteczkowa (kDa) | SD    |
|---------|---------------------------------|-------|
| PIMP 1  | 52,67                           | 3,5   |
| PIMP 2  | 39,40                           | 4,1   |
| PIMP 3  | 30,95                           | 8,4   |
| PIMP 4  | 122,50                          | 23,33 |
| PIMP 5  | 27,73                           | 4,74  |
| PIMP 6  | 3430,00                         | 14,14 |
| PIMP 7  | 78,70                           | 2,26  |
| PIMP 8  | 24,40                           | 4,67  |
| PIMP 9  | 605,00                          | 0,10  |
| PIMP 10 | -                               | -     |
| PIMP 11 | 17,30                           | 4,67  |
| PIMP 12 | -                               | -     |
| PIMP 13 | 85,80                           | 4,8   |

## 9. Przebieg uwalniania naproksenu sodowego

Kinetykę uwalniania naproksenu sodowego (NS) ze wszystkich hydrożeli utworzonych na bazie zsyntetyzowanych polimerów zbadano w temperaturach: 22 oraz 42 °C. Przeprowadzono również badania profilu uwalniania preparatu kontrolnego w celu oceny wyników. Uzyskane wartości dla preparatów FP 5 oraz FP 9, otrzymanych na bazie odpowiednio polimeru PIMP 5 oraz PIMP 9 zobrazowano na rysunku 5. W większości przebadanych formułacji zauważono zależność, iż wraz ze wzrostem temperatury ilość uwolnionej substancji czynnej zwiększa się. Poszczególne hydrożele zostały porównane w określonych grupach, posiadających ten sam skład, natomiast różniących się zastosowanym do syntezy inicjatorem bądź komonomerem.

Jedną z grup hydrożeli są preparaty na bazie zsyntetyzowanych polimerów z dodatkowym monomerem jakim jest hydroksyetyloakryloamid. Częstki PIMP 1 oraz PIMP 11, na bazie których zostały utworzone hydrożele FP 1 i FP 11, różnią się między sobą zastosowanym inicjatorem. Najwyższy procent uwolnionej substancji czynnej wykazał preparat kontrolny. W niższej temperaturze formułacje FP 1 oraz FP 11

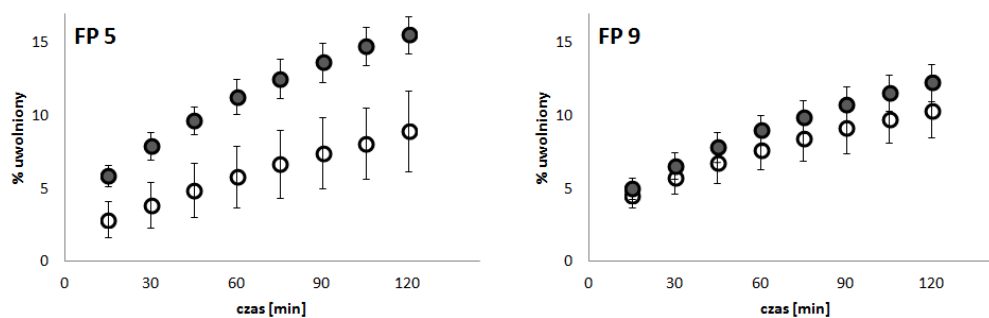
wykazują bardzo zbliżoną kinetykę. W 42 °C badane formułacje wykazywały bardzo zbliżone tendencje.

Hydrożele FP 2 oraz FP 12 zostały wytworzone na bazie polimerów zsyntetyzowanych z hydroksyetyloakryloamidem oraz czynnikiem sieciującym N,N-metylenobisakryloamidem (PIMP 2 oraz PIMP 12). Różnią się zastosowanym inicjatorem, PIMP 2 został zsyntetyzowany przy użyciu nadsiarczanu potasu, natomiast PIMP 12 przy użyciu 2,2'-azobis (2-metylopropionamidyny). Kinetyka uwalniania NS z badanych hydrożeli FP 2 oraz FP 12 kształtuje się podobnie. Najwyższy procent uwolnionej substancji odnotowano dla FP 12 w temperaturze 22 °C. W przypadku FP 2 największa ilość substancji została uwolniona w temperaturze 42 °C. Profil uwalniania NS z hydrożelu FP 12 malał wraz ze wzrostem temperatury.

Formułacje FP 3 oraz FP 13 są to preparaty na bazie polimerów usieciowanych dimetakrylanem glikolu etylenowego różniących się użytym do syntezy inicjatorem (polimery PIMP 3 i PIMP 13). W badanych hydrożelach w tej grupie profil uwalniania NS okazał się podobny, wyniki klasyfikowały się w tych samych przedziałach. Najwięcej NS zostało uwolnione z preparatu FP 3 w temperaturze 22 °C.

Polimery PIMP 4 oraz PIMP 9 usieciowane zostały N,N'-metylenobisakryloamidem, a jako dodatkowy komonomer wykorzystano N-tertbutyloakryloamid. Przy syntezie PIMP 4 użyto inicjator anionowy, natomiast w przypadku PIMP 9 inicjator kationowy. Przedstawione polimery zostały wykorzystane do utworzenia hydrożeli FP 4 oraz FP 9. W temperaturze 22 °C zaobserwowano, iż profil uwalniania FP 4, FP 9 oraz preparatu kontrolnego nieznacznie różnią się od siebie, przy czym najwyższy procent został odnotowany dla preparatu kontrolnego. W wyższej temperaturze 42 °C formułacja FP 4 nieznacznie przewyższa wartość w porównaniu do FP 9 [38-40].





Rysunek 5. Przykładowe profile uwalniania dla preparatów FP 5 oraz FP 9 w temperaturze 22 °C (o) oraz w temperaturze 42 °C (•).

## Dyskusja

W szeregu przeprowadzonych syntez otrzymano 13 różnych typów związków polimerowych. W procesie polimeryzacji wolnorodnikowej użyto dwóch inicjatorów, różne związki sieciujące a także dodatkowe komonomery. Zaprojektowane cząstki charakteryzują się odmiennymi właściwościami, przeprowadzono szereg badań pozwalających je scharakteryzować.

Jednym z głównych badań było określenie wielkości otrzymanych cząstek. Gwałtowny spadek wartości średnicy hydrodynamicznej badanych formułacji spowodowany jest przejściem fazowym występującym przy podwyższonej temperaturze, a przedział temperaturowy, w którym obserwuje się charakterystyczne przejście jest swoisty dla każdej zsyntetyzowanej pochodnej NIPA. Wyraźny spadek wartości średnicy spowodowany jest powstawaniem wiązania entropowego w obrębie sieci polimerowej w przebiegu badania w podwyższonej temperaturze [1].

W przebiegu syntezy z wykorzystaniem dodatkowego komonomera – hydroksyetyloakryloamidu doszło do zwiększenia rozmiaru cząstek, szczególnie w przypadku polimeru, w którym N-metylenobisakryloamid pełnił rolę cross-linkera. Można wysnuć wniosek, iż poprzez zastosowanie hydroksyetyloakryloamidu dochodzi do zwiększenia średnicy otrzymanych polimerów [38]. Z drugiej strony obserwujemy, iż zastosowanie akrylanu eteru metyloвого polietylenoglikolu bądź N-tertbutyloakryloamidu, jako dodatkowych monomerów biorących udział w syntezie, wpływa na zmniejszenie średnicy mikrocząstek [40]. Polimery zsyntetyzowane z dodatkiem aktywatora TEMED, gdzie synteza była prowadzona w temperaturze 35 °C,

charakteryzują się znacznie większymi wartościami średnicy w porównaniu do innych zaprojektowanych cząstek.

W wyniku zmiany czynnika sieciującego MBA na długołańcuchowy dimetakrylan polietylenoglikolu uzyskano struktury polimerowe charakteryzujące się niższą wartością średnicy hydrodynamicznej. Średnica ta była niższa w porównaniu z preparatami, które w składzie posiadały cross-linker o krótszym łańcuchu. Wyjątek stanowi polimer powstały z dodatkiem aktywatora TEMED, gdzie nie obserwuje się powyższej tendencji; w tym przypadku polimer PIMP 5 usieciowany za pomocą MBA wykazał wyższą wartość średnicy hydrodynamicznej [39].

## **Wnioski**

1. Zsyntetyzowano 13 związków polimerowych posiadających szereg zróżnicowanych właściwości fizycznych.
2. Zastosowanie różnych komonomerów prowadzi do otrzymania cząstek polimerowych charakteryzujących się rozbieżnymi wartościami średnic hydrodynamicznych.
3. Zróżnicowanie składu surowcowego mieszanin reakcyjnych pozwala na otrzymywanie polimerów o różnych temperaturach przemiany fazowej.
4. Zastosowanie hydroksypropylometylcelulozy zapewnia wytworzenie preparatów hydrożelowych trwałych w warunkach eksperymentu.
5. Kinetyka uwalniania naproksenu sodowego z hydrożeli sporządzonych na bazie otrzymanych polimerów była zbliżona do przebiegu zależności logarytmicznej.
6. Model Higuchi'ego okazał się najlepiej dopasowanym modelem matematycznym dla badanego przebiegu uwalniania naproksenu sodowego z wszystkich próbek.

## Bibliografia

\* - publikacja będąca podstawą otwarcia przewodu doktorskiego

\*\* - prace przedstawiane jako cykl publikacji wchodzący w skład rozprawy doktorskiej

- [1]\* Gasztych M., Valh J. V., Kokol V., Szumny A. J., Gola A., Musiał W.: Synthesis, evaluation and release studies of NIPA nanoparticles presumed for temperature-controlled drug delivery. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 2016, 79: 466–474.
- [2] Mao S., Guo C., Shi Y., Li L. C.: Recent advances in polymeric microspheres for parenteral drug delivery – part 1. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2012, 9: 1161–1176.
- [3] Ramteke K. H., Jadhav V. B., Dhole S. N.: Microspheres: as carriers used for novel drug delivery system. *IOSR J. Pharm.* 2012, 4: 2250–3013.
- [4] Sree Giri Prasad B., Gupta V. R. M., Devanna N., Jayasurya K.: Microspheres as drug delivery system - a review. *JGTPS* 2014, 5: 1961–1972.
- [5] Prajapati V. D., Jani G. K., Kapadia J. R.: Current knowledge on biodegradable microspheres in drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2015, 12: 1283–1299.
- [6] Jones D. S., Lorimer C. J., Andrews G. P., McCoy C. P., Gorman S. P.: An examination of the thermorheological and drug release properties of zinc tetraphenylporphyrin-containing thermoresponsive hydrogels, designed as light activated antimicrobial implants. *Chem. Eng. Sci.* 2007, 62: 990–999.
- [7] Buwalda S. J., Boere K. W., Dijkstra P. J., Feijen J., Vermonden T., Hennink W. E.: Hydrogels in a historical perspective: From simple networks to smart materials. *J. Control. Release.* 2014, 190: 254–273.
- [8] Kopecek J.: Hydrogels: From soft contact lenses and implants to self-assembled nanomaterials. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* 2009, 47: 5929–5946.
- [9] Jones D. S., Lorimer C. P., McCoy C. P., Gorman S. P.: Characterization of the physicochemical, antimicrobial, and drug release properties of thermoresponsive hydrogel copolymers designed for medical device applications. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 2008, 85B: 417–426.

- [10] James H. P., John R., Alex A., Anoop K. R.: Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview. *Acta Pharm. Sin. B.* 2014, 4: 120–127.
- [11] Utrata-Wesołek A., Trzebicka B., Dworak A.: Polimery wrażliwe na bodźce (I). *Polimery.* 2008, 53: 717-724.
- [12] Ashwini Kumar G., Bhat A., Lakshmi A. P., Reddy K.: An Overview of Stimuli-Induced Pulsatile Drug Delivery Systems. *Int. J. PharmTech Res.* 2010, 2: 2364–2378.
- [13] Fujishige S., Kubota K., Ando I.: Phase transition of aqueous solutions of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(N-isopropylmethacrylamide). *J. Phys. Chem.* 1989, 93: 3311–3313.
- [14] Musiał W., Pluta J., Michalek J.: Thermosensitive microgels of poly-N-isopropylacrylamide for drug carriers - practical approach to synthesis. *Acta Pol. Pharm.* 2015, 72: 409-422.
- [15] Fundueanu G., Constantin M., Asmarandei I., Bucatariu S., Harabagiu V., Ascenzi P., Simionescu B. C.: Poly(N-isopropylacrylamide-co-hydroxyethylacrylamide) thermosensitive microspheres: the size of microgels dictates the pulsatile release mechanism. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2013, 85: 614–623.
- [16] Lanzalaco S., Armelin E.: Poly(N-isopropylacrylamide) and Copolymers: A Review on Recent Progresses in Biomedical Applications. *Gels.* 2017, 3: 1-31.
- [17] Ashaduzzaman M. D., Kunitake M.: Poly(methylmethacrylate)-block-poly(N-hydroxyethylacrylamide) diblock copolymers: direct ATRP synthesis and characterization,” *Iran. Polym. J.* 2013, 22: 493–499.
- [18] Constantin M., Cristea M., Ascenzi P., Fundueanu G.: Lower critical solution temperature versus volume phase transition temperature in thermoresponsive drug delivery systems. *Express Polym. Lett.* 2011, 5: 839–848.
- [19] Kawaguchi H.: Thermoresponsive microhydrogels: preparation, properties and applications. *Polym. Int.* 2013, 63: 925–932.
- [20] Convertine A. J., Lokitz B. S., Vasileva J., Myrick L. J., Charles W. S., Lowe B. A., McCormick C. L.: Direct synthesis of thermally responsive DMA/NIPAM diblock and DMA/NIPAM/DMA triblock copolymers via aqueous, room temperature RAFT polymerization. *Macromolecules.* 2006, 39: 1724-1730.

- [21] Ruel-Gariépy E., Leroux J. C.: In situ-forming hydrogels—review of temperature-sensitive systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2004, 58: 409–426.
- [22] Qui Y., Park K.: Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001, 53: 321–339.
- [23] Seddiki N., Aliouche D.: Synthesis, rheological behavior and swelling properties of copolymer hydrogels based on poly(N-isopropylacrylamide) with hydrophilic monomers. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 2013, 27: 447–457.
- [24] Lin C. L., Chiu W. Y., Lee C. F.: Preparation, morphology, and thermoresponsive properties of poly(N-isopropylacrylamide)-based copolymer microgels. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 2006, 44: 356–370.
- [25] Dalkas G., Pagonis K., Bokias G.: Control of the lower critical solution temperature-type cononsolvency properties of poly(N-isopropylacrylamide) in water-dioxane mixtures through copolymerisation with acrylamide. *Polymer.* 2006, 47: 243–248.
- [26] Coughlan D. C., Corrigan O. I.: Release kinetics of benzoic acid and its sodium salt from a series of poly(N-isopropylacrylamide) matrices with various percentage crosslinking. *J. Pharm. Sci.* 2008, 97: 318–330.
- [27] Sanson N., Rieger J.: Synthesis of nanogels/microgels by conventional and controlled radical crosslinking copolymerization. *Polym. Chem.* 2010, 1: 965–977.
- [28] Cirillo G., Spataro T., Curcio M., Spizzirri U. G., Nicoletta F. P., Picci N., Iemma F.: Tunable thermo-responsive hydrogels: Synthesis, structural analysis and drug release studies. *Mater. Sci. Eng. C.* 2015, 48: 499–510.
- [29] Lavigne M. D., Pennadam S. S., Ellis J., Yates L. L., Alexander C., Górecki D. C.: Enhanced gene expression through temperature profile - induced variations in molecular architecture of thermoresponsive polymer vectors. *J Gene Med.* 2007, 9: 44–54.
- [30] Mao Z., Ma L., Yan J., Yan M., Gao C., Shen J.: The gene transfection efficiency of thermoresponsive N,N,N-trimethyl chitosan chloride-g-poly(N-isopropylacrylamide) copolymer. *Biomaterials.* 2007, 28: 4488–4500.

- [31] Vacanti J. P., Langer R.: Tissue engineering: the design and fabrication of living replacement devices for surgical reconstruction and transplantation. *Lancet*. 1999, 354: 32–34.
- [32] Vo T. N., Ekenseair A. K., Spicer P. P., Watson B. M., Tzouanas S. N., Roh T. T., Mikos A. G.: In vitro and in vivo evaluation of self-mineralization and biocompatibility of injectable, dual-gelling hydrogels for bone tissue engineering. *J Control Release*. 2015, 205: 25–34.
- [33] Coughlan D. C., Corrigan O. I.: Drug–polymer interactions and their effect on thermoresponsive poly(N-isopropylacrylamide) drug delivery systems. *Int. J. Pharm.* 2006, 313: 163–174.
- [34] Jhon Y. K., Bhat R. R., Jeong C., Rojas O. J., Szleifer I., Genzer J.: Salt-Induced Depression of Lower Critical Solution Temperature in a Surface-Grafted Neutral Thermoresponsive Polymer. *Macromol. Rapid. Comm.* 2006, 27: 697-701.
- [35] Lin S. Y., Chen K. S., Liang Run-Chu: Design and evaluation of drug-loaded wound dressing having thermoresponsive, adhesive, absorptive and easy peeling properties. *Biomaterials*. 2001, 22: 2999–3004.
- [36] Mou D., Chen H., Du D., Mao C., Wan J., Xu H., Yang X.: Hydrogel-thickened nanoemulsion system for topical delivery of lipophilic drugs. *Int. J. Pharm.* 2008, 353: 270–276.
- [37] Musiał W., Kokol V., Voncina B.: The influence of increased cross-linker chain length in thermosensitive microspheres on potential sun-protection activity. *Polim. Med.* 2010, 40: 47–55.
- [38]\*\*Gasztych M., Komsa K., Musiał M.: Influence of hydrophilic co-monomer on the drug release from hydrogel with thermosensitive NIPA derivatives. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, praca przyjęta do druku (potwierdzona przez wydawnictwo)
- [39]\*\*Gasztych M., Kotowska A., Musiał W.: Application of Polymerization Activator in the Course of Synthesis of N-Isopropylacrylamide Derivatives for Thermally Triggered Release of Naproxen Sodium. *Materials*. 2018, 11: 1-13.
- [40]\*\*Gasztych M., Gola A., Kobryń J., Musiał W.: Synthesis and Formulation of Thermosensitive Drug Carrier for Temperature Triggered Delivery of Naproxen Sodium. *Molecules*. 2016, 21: 1-11.

## Streszczenie

Od lat naukowcy skupiają się na doskonaleniu skuteczności działania leków. Ogromna ilość eksperymentów prowadzona jest w celu udoskonalenia metod dostarczania do organizmu już istniejących oraz stosowanych substancji leczniczych. Poszukiwanie nowych rozwiązań jest ważnym kierunkiem optymalizacji farmakoterapii.

Obserwuje się postęp w doskonaleniu postaci leków o kontrolowanym uwalnianiu, głównie w celu uniknięcia problemów związanych ze stosowaniem tradycyjnych postaci leku oraz w celu redukcji konieczności wielokrotnego dawkowania. Preparaty o kontrolowanym uwalnianiu chronią oraz stabilizują substancję czynną, umożliwiają dostarczenie substancji aktywnej w precyzyjnie określonych ilościach, często wprost do określonego receptora farmakologicznego. Dodatkowo, projektowanie postaci o modyfikowanym uwalnianiu przyczynia się do lepiej nacełowanego działania cząsteczki, umożliwiając zmniejszenie stosowanej dawki, a tym samym redukcję działań niepożądanych. Coraz większym zainteresowaniem cieszą się polimerowe mikrosfery, które odpowiednio skonstruowane mogą posiadać wszystkie wyżej wymienione cechy.

W celu poprawy efektów farmakoterapii prowadzone są badania nad doskonaleniem preparatów o kontrolowanym uwalnianiu. Obiecującą grupą nośników leków są tzw. „smart polymers” (inteligentne polimery), które mają zdolność uwalniania substancji leczniczej w odpowiedzi na działanie bodźców zewnętrznych. Jednym z dobrze poznanych polimerów tego typu, wrażliwych na zmiany temperatury, jest poli (N-izopropylodakryloamid) - pNIPA. Polimer ten charakteryzuje się temperaturą przemiany fazowej bliską temperaturze fizjologicznej powierzchni organizmu ludzkiego, tzn. ok. 32 °C. Kurczy się i uwalnia substancję leczniczą w temperaturze ciała, co powoduje że można go zastosować jako system kontrolowanego dostarczania leków. W celu uzyskania pochodnych NIPA o pożądanych właściwościach niezbędny jest odpowiedni dobór substratów: NIPA jako główny monomer, inicjator, środek sieciujący, komonomer, a w niektórych przypadkach aktywator, przy czym proces polimeryzacji przeprowadza się w środowisku obojętnego gazu w jednym reaktorze.

Celem pracy była synteza oraz ocena właściwości pochodnych poli (N-izopropylakryloamidu) jako nośników podawanej na skórę modelowej substancji leczniczej o działaniu przeciwbólowym i przeciwzapalnym, o przedłużonym uwalnianiu.

Otrzymano szereg pochodnych N-izopropylakryloamidu na drodze polimeryzacji wolnorodnikowej. Uzyskane polimery zostały oczyszczone poprzez proces dializy przy użyciu półprzepuszczalnych błon celulozowych. Proces oczyszczania był kontrolowany poprzez pomiary przewodnictwa elektrycznego. Odczyn otrzymanych roztworów został zmierzony przed i po oczyszczeniu. Morfologia uzyskanych materiałów została zbadana przy użyciu metod: spektroskopii w podczerwieni, spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego oraz skaningowej mikroskopii elektronowej. Wykonano pomiary wartości średnicy hydrodynamicznej metodą dynamicznego rozproszenia światła a także pomiar potencjału zeta. Przeprowadzono pomiar masy cząsteczkowej uzyskanych cząstek, wykorzystano metodę statycznego rozpraszania światła. W celu zbadania przebiegu profili uwalniania leku z materiału polimerowego przygotowano serie żeli hydrofilowych w powtarzalny sposób. Badanie kinetyki uwalniania prowadzono w aparacie łopatkowym firmy Erweka, temperatura procesu wynosiła odpowiednio  $22 \pm 0,5$  lub  $42 \pm 0,5$  °C.

W szeregu przeprowadzonych syntez otrzymano 13 różnych typów związków polimerowych. W procesie polimeryzacji użyto dwóch inicjatorów, różne związki sieciujące, a także dodatkowe komonomery. Zaprojektowane cząstki wykazują odmienne właściwości. Jednym z głównych badań było określenie wielkości otrzymanych cząstek w ustalonej temperaturze, oraz wyznaczenie wpływu zmian temperatury na średnicę hydrodynamiczną tych makromolekuł. Gwałtowny spadek wartości średnicy hydrodynamicznej molekuł badanych polimerów spowodowany jest przejściem fazowym występującym przy podwyższonej temperaturze, a przedział temperaturowy, w którym obserwuje się charakterystyczne przejście jest swoisty dla każdej zsyntetyzowanej pochodnej NIPA. Wyraźny spadek wartości średnicy spowodowany jest powstawaniem wiązania entropowego w obrębie sieci polimerowej w przebiegu badania w podwyższonej temperaturze.

Zróżnicowanie składu surowcowego mieszanin reakcyjnych pozwala na otrzymywanie polimerów o różnych temperaturach przemiany fazowej. Zastosowanie hydroksypropylometylocelulozy zapewnia wytworzenie preparatów hydrożelowych



trwałych w warunkach eksperymentu. Kinetyka uwalniania naproksenu sodowego z hydrożeli sporządzonych na bazie otrzymanych polimerów jest zbliżona do przebiegu zależności logarytmicznej. Model Higuchi'ego okazał się najlepiej dopasowanym modelem matematycznym dla badanego przebiegu uwalniania naproksenu sodowego z wszystkich próbek.

## Streszczenie w języku angielskim - abstract

Over the years the scientists are focused on improvement of the effectiveness and safety of medicines. A lot of experiments lead to the improvement of the delivery methods of already existing and applied medicinal substances to the human body. The research of new solutions in this field is a great idea for optimization of the pharmacotherapy.

There has been huge progress in improving the form of controlled drug release, mainly to avoid complications associated with traditional forms and to reduce the require for multiple dosing. Controlled release formulations protect and stabilize the active substance, enable delivery of the drug in precisely defined amounts, often directly to the affected area. In addition, the design of modified release forms contributes to the better targeted action of the molecule, enabling the reduction of the used dose, and thus the reduction of side effects. Polymer microspheres are getting more and more popular. If they are properly constructed, may have all of the above mentioned features.

In order to improve the effects of pharmacotherapy, researchers are being conducted on the improvement of controlled release preparations. A promising group of drug carriers are smart polymers that have the ability to release the drug substance in response to external stimuli. Poly (N-isopropylacrylamide) pNIPAA is a representative substance sensitive to temperature. It is characterized by a volume phase transition temperature close to the human body's physiological temperature of around 32 ° C. It shrinks and releases the drug substance at body temperature, which makes it possible to use it as a controlled drug delivery system. In order to obtain NIPAA derivatives, the composition of substrates should be properly prepared: NIPAA as the main monomer, initiator, crosslinking agent, comonomer. The polymerization process is carried out in one reactor. The qualitative composition of the mixture in the reactor can be selected depending on which derivatives are desired.

The aim of the study was to synthesize and evaluate the properties of poly (N-isopropylacrylamide) derivatives as administrated on the skin drug carriers with model therapeutic substance with analgesic and anti-inflammatory effect.

The obtained polymers were purified by a dialysis process using semi permeable cellulose films. The purification process was controlled by measurements of

electrical conductivity. The pH of the obtained solutions was measured before and after purification. The morphology of the obtained materials was examined using the methods of: infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance spectroscopy and scanning electron microscopy. Hydrodynamic diameter measurements were made by dynamic light scattering as well as zeta potential measurement. The molecular weight of the obtained particles was measured, and the method of static light scattering was used. The release profiles from the polymeric materials were evaluated. Series of hydrophilic gels were prepared in a specific way. The kinetic study of drug release was conducted in an Erweka paddle apparatus, the temperature of the process was respectively  $22 \pm 0.5$  or  $42 \pm 0.5$  ° C.

13 different types of polymer compounds were obtained in a series of syntheses. Two initiators, various cross-linking compounds as well as additional comonomers were used in the polymerization process. Designed particles have different properties. One of the main studies was to determine the size of the obtained particles at various temperatures, and to determine the effect of temperature changes on the hydrodynamic diameter of these macromolecules. The sharp decrease of the hydrodynamic diameter of the obtained polymers were induced by the volume phase transition temperature, and the temperature range where the characteristic point is observed is specific for each synthesized NIPA derivative. A marked decrease of the hydrodynamic diameter value resulted from the formation of entropy bond within the polymer network during the experiment at higher temperature. The differentiation of the compounds of the reaction mixtures enables production of polymers with various phase transition temperatures. The hydroxypropyl methylcellulose was used to prepare stable hydrogels. The release kinetics of naproxen sodium from prepared hydrogels based on the obtained polymers are similar to the course of logarithmic dependence. The Higuchi model was the best matched mathematical model for the tested course of naproxen release from all samples.

## Lista publikacji

### **A1. Praca stanowiąca podstawę otwarcia przewodu doktorskiego, będąca wstępem dla zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej badań eksperymentalnych (praca oryginalna):**

1. Gasztych M., Valh J. V., Kokol V., Szumny A. J., Gola A., Musiał W.: Synthesis, evaluation and release studies of NIPA nanoparticles presumed for temperature-controlled drug delivery. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 2016, 79: 466–474. (1,575 pkt. IF, 35 pkt. MNiSW).

### **A2. Lista publikacji stanowiących rozprawę doktorską (prace oryginalne):**

1. Gasztych M., Gola A., Kobryń J., Musiał W.: Synthesis and Formulation of Thermosensitive Drug Carrier for Temperature Triggered Delivery of Naproxen Sodium. *Molecules.* 2016, 21: 1-11. (2,861 pkt. IF, 30 pkt. MNiSW).
2. Gasztych M., Kotowska A., Musiał W.: Application of Polymerization Activator in the Course of Synthesis of N-Isopropylacrylamide Derivatives for Thermally Triggered Release of Naproxen Sodium. *Materials.* 2018, 11: 1-13. (2,654 pkt. IF, 35 pkt. MNiSW).
3. Gasztych M., Komsa K., Musiał M.: Influence of hydrophilic co-monomer on the drug release from hydrogel with thermosensitive NIPA derivatives. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, praca przyjęta do druku (potwierdzona przez wydawnictwo) (1,483 pkt. IF, 20 pkt. MNiSW).

### **B. Zgłoszenie patentowe:**

1. Termowrażliwe ksero żele jako nośniki substancji leczniczych stosowanych na skórę i błony śluzowe oraz sposób ich otrzymywania, zgłoszenie z dn. 01.06.2015, nr P.412558.

### **C. Lista innych publikacji**

1. Szcześniak M., Gasztych M., Pluta J.: Wpływ składu podłoża na właściwości żeli wykonanych na bazie soli sodowej karboksymetylocelulozy. Polim. Med. 2013, 43: 235-239. (6 pkt. MNiSW).
2. Musiał W., Pluta J., Gasztych M., Byrski T., Jaromin A., Volmajer Valh J.: The use of acid co-monomer for the preparation of potential thermosensitive polymeric drug carriers. Lat. Am. J. Pharm. 2014, 33: 651-657. (0,372 pkt. IF. 15 pkt. MNiSW).
3. Musiał W., Gasztych M., Kokol V., Mucha I., Malammis A., Kołodziejczyk W., Gola A.: Influence of lipophilic and hydrophilic co-monomers on the hydrodynamic diameter of thermosensitive NIPA derivatives for thermally controlled drug delivery. Acta Pol. Pharm. 2017, 74: 199-209. (0,745 pkt. IF, 15 pkt. MNiSW).
4. Szcześniak M., Gasztych M.: Nanonośniki w medycynie i farmacji. Farm. Pol. 2017, 73: 345-348. (8 pkt. MNiSW).
5. Kobryń J., Sowa S., Gasztych M., Dryś A., Musiał W.: Influence of hydrophilic polymers on the  $\beta$  factor in Weibull equation applied to the release kinetics of a biologically active complex of Aesculus hippocastanum. Int. J. Polym. Sci. 2017, 8s. (1,077 pkt. IF, 25 pkt. MNiSW).
6. pod red. Musiała W. ; aut. Berkowski R., Dryś A., Gasztych M., Gola A., Golonka I., Kobryń J., Kołodziejczyk W., Krause A., Musiał W., Szczygieł M. J. Twarda M., Urbaniak T., Wójcik-Pastuszka D.: Elementy chemii fizycznej : ćwiczenia praktyczne dla studentów farmacji i analityki medycznej. Wrocław: Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich, 2016, 1-161

**Punktacja ogółem: IF 9,284; MNiSW 169**

**Punktacja ogółem po uwzględnieniu pracy przyjętej do druku: IF 10,767; MNiSW 189**

#### **D. Lista doniesień zjazdowych**

1. Gasztych M.: Wybrane mechanizmy polimeryzacji struktur biodegradowalnych. Letnie Interdyscyplinarne Spotkania Akademickie 3. Konferencja Robocza Ogólnopolskiej Sekcji Naukowej Informacji o Leku "Farmacja i medycyna. Nowe kierunki rozwoju". Radochów, 2013.
2. Musiał W., Byrski T., Gasztych M., Pluta J.: Zastosowanie komonomeru kwasowego w syntezie termowrażliwych nośników substancji czynnej. Farmacja dziś i jutro - wytwarzanie i ocena jakości produktów farmaceutycznych. Lublin, 2013.
3. Musiał W., Byrski T., Gasztych M., Pluta J.: Przewodnictwo jako czynnik informatywny w procesie otrzymywania mikrosfer polimerowych. Konferencja Naukowa "Modyfikacje technologiczne w aspekcie zwiększania skuteczności terapeutycznej". Wrocław, 2013.
4. Szcześniak M., Pluta J., Gasztych M.: Wpływ składu podłoża na dostępność farmaceutyczną hydrożeli z hydrokortyzonem. Konferencja Naukowa "Modyfikacje technologiczne w aspekcie zwiększania skuteczności terapeutycznej". Wrocław, 2013.
5. Musiał W., Gasztych M., Malamis A., Pluta J.: Wpływ metody pomiaru na uzyskaną wartość punktu przemiany fazowej termowrażliwych nośników substancji leczniczej. XXII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego "Farmacja - Nauka - Społeczeństwo". Białystok, 2013.
6. Musiał W., Malamis A., Gasztych M., Pluta J.: Wpływ zróżnicowanych komonomerów na przebieg procesu otrzymywania nanosfer polimerowych, przeznaczonych do zastosowania jako nośniki substancji leczniczych. XXII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego "Farmacja - Nauka - Społeczeństwo". Białystok, 2013.
7. Gasztych M.: Ziołowe leczenie bólu. 14. Letnie Interdyscyplinarne Spotkania Akademickie, 4. Konferencja Robocza Ogólnopolskiej Sekcji Naukowej Informacji o Leku "Odcienie bólu : między farmakologią a psychoterapią". Dziwiszów, 2014.
8. Musiał W., Gasztych M., Malamis A., Pluta J.: Wpływ temperatury na profil uwalniania Naproxenu sodowego z hydrożeli na bazie nośnika

termowrażliwego. Optymalizacja postaci leku: nowe rozwiązania technologiczne w dążeniu do bezpiecznej farmakoterapii : Konferencja naukowa. Kraków, 2014.

9. Musiał W., Gola A., Gasztych M., Kokol V.: Influence of co-monomers on the hydrodynamic diameter of nipa nanoparticles presumed for temperature controlled drug delivery. International Conference "Pharmacy today and tomorrow - theory and practice". Lublin, 2015.
10. Gasztych M., Volmajer Valh J., Gola A., Musiał W.: Synthesis, evaluation, and release studies of NIPA nanoparticles presumed for temperature controlled drug delivery. NANOAPP - 2. International Scientific Conference on Nanomaterials & Applications. Maribor, Slovenija, 2015.
11. Gasztych M.: Oddech, stres, emocje - co je łączy?. 16. Letnie Interdyscyplinarne Spotkania Akademickie; 6. Konferencja Robocza Ogólnopolskiej Sekcji Naukowej Informacji o Leku "Pneuma i pulmo - tajemnice oddechu. Terapia i lek w pulmonologii". Wleń, 2016.
12. Gasztych M., Kobryń J., Musiał W.: Synthesis and formulation of thermosensitive drug carrier for controlled delivery of naproxen. 8th Central European Conference "Chemistry towards biology". Brno, Czech Republic, 2016.
13. Gasztych M., Komsa K., Gola A., Musiał W.: Wpływ hydrofilowego komonomeru na właściwości fizykochemiczne termowrażliwych pochodnych NIPA jako nowych nośników leków. NanoBioMateriały - teoria i praktyka. Toruń, 2016.
14. Gola A., Gasztych M., Mucha I., Musiał W.: Wpływ kationowego inicjatora na właściwości termoczułych nanosfer syntetyzowanych do kontrolowanego podawania leku. NanoBioMateriały - teoria i praktyka. Toruń, 2016.
15. Gasztych M.: Zioła w leczeniu lęku. 17. Letnie Interdyscyplinarne Spotkania Akademickie; 7. Konferencja Robocza Ogólnopolskiej Sekcji Naukowej Informacji o Leku "Phobos i tranquillitas. Farmakologia stanów lękowych". Stara Morawa, 2017.

16. Gasztych M., Kotowska A., Musiał W.: Influence of polymerisation activator on selected physical and chemical properties of Nisopropylacrylamide derivatives for thermally triggered release of naproxen sodium. Conference on the 65th Anniversary of Faculty of Pharmacy, Comenius University in Bratislava - 46th EuroCongress on Drug Synthesis and Analysis. Bratislava, 2017.
17. Gasztych M., Kotowska A., Musiał W.: Wpływ aktywatora polimeryzacji na przebieg uwalniania modelowej substancji leczniczej z termowrażliwego podłoża hydrożelowego. NanoBioMateriały - teoria i praktyka. Toruń, 2017.
18. Gasztych M., Komsa K., Musiał W.: Influence of hydrophilic co-monomer on the drug release from thermosensitive NIPA derivatives. NanoOstrava 2017 - 5th Nanomaterials and Nanotechnology Meeting. Ostrava, 2017.
19. Gola A., Gasztych M., Kokol V., Malamis A., Mucha I., Musiał W.: Variability of properties of thermosensitive nanoparticles synthesized for controlled drug delivery. NanoOstrava 2017 - 5th Nanomaterials and Nanotechnology Meeting. Ostrava, 2017.
20. Gasztych M., Musiał W.: Ocena masy cząsteczkowej pochodnych NIPA z zastosowaniem metody SLS. XXIII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego "Farmacja w Polsce: perspektywy nauki i zawodu". Kraków, 2017.
21. Gasztych M., Musiał W.: Effect of the volume phase transition temperature on the approximated release rates of naproxen sodium from thermosensitive hydrogels. 11th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. Granada, Spain, 2018.



## **Curriculum vitae**

### **Dane osobowe:**

Monika Gasztych

24 listopada 1986

505 775 457

monika.gasztych@umed.wroc.pl

### **Wykształcenie:**

01.10.2006 - 02.04.2011

- Studia magisterskie - kierunek farmacja; Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej

01.03.2010 – 02.07.2010

- Program wymiany studenckiej Erasmus; Uniwersytet w Calabrii, Wydział Farmaceutyczny, Rende di Cosenza, Włochy

28.02.2014 – 28.02.2018

- Specjalizacja z zakresu farmacji klinicznej; Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Studium Szkolenia Podyplomowego Wydziału Farmaceutycznego

### **Doświadczenie zawodowe:**

01.10.2012 – 30.09.2014

- asystent w Katedrze i Zakładzie Technologii Postaci Leku, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej

01.10.2015 – do chwili obecnej

- asystent w Katedrze i Zakładzie Chemii Fizycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej

### **Praktyki i staże:**

01.07.2010 - 31.07.2010

- praktyka w aptece szpitalnej w ramach programu wymiany studenckiej *Erasmus*, Szpital miejski, Cosenza, Włochy

01.07.2011 - 29.09.2011

- praktyka w aptece szpitalnej w ramach programu wymiany studenckiej *Erasmus Placement*, Szpital im. Roberta Binaghi, Cagliari, Włochy

### **Udział w projektach badawczych:**

01.01.2017 - 31.12.2017

Ocena kinetyki oddziaływania polimerów syntetycznych i półsyntetycznych z modelowymi substancjami leczniczymi, badania własne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, współwykonawca, pod kierunkiem dr hab. Witold Musiała

01.01.2018 - 31.12.2019

Wpływ wybranych czynników fizykochemicznych na możliwość projektowania przebiegu kinetyki uwalniania substancji leczniczych z nośników polimerowych, badania własne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, współwykonawca, pod kierunkiem dr hab. Witold Musiała

### **Nagrody i osiągnięcia:**

Nagrody naukowe

- nagroda zespołowa Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej; za cykl prac dotyczących syntezy termowrażliwych mikrosfer polimerowych dla terapii dia- i transdermalnej, Wrocław, 2017
- nagroda zespołowa Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej; za cykl prac dotyczących otrzymywania i właściwości potencjalnych nośników substancji leczniczych, Wrocław, 2017

### Nagrody dydaktyczne

- nagroda zespołowa Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy dydaktycznej za przygotowanie i edycję skryptu do ćwiczeń z chemii fizycznej dla studentów farmacji i analityki medycznej, Wrocław, 2017

### Języki obce:

- angielski: poziom zaawansowany
- włoski: poziom średnio zaawansowany
- niemiecki: poziom podstawowy

## **Oświadczenia współautorów opublikowanych prac**