

# Autoreferat

## I. Magdalena Prokopowicz

## II. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

W latach 1989-1994 studiowałam na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej (PG), na kierunku Biotechnologia. W roku 1994 obroniłam pracę magisterską pod tytułem: „*Przemiany triacylogliceroli i wolnych kwasów tłuszczowych podczas ogrzewania oleju rzepakowego*” w Katedrze Technologii i Chemii Tłuszczów PG, pod kierunkiem prof. dr. hab. Bronisława Drozdowskiego. W roku 1994 rozpoczęłam studia doktoranckie w Katedrze Chemii Analitycznej PG, pod kierunkiem prof. dr. hab. Jacka Namieśnika, obecnego dziekana tego Wydziału. Rozprawę doktorską, pod tytułem „*Gazowe mieszaniny wzorcowe sporządzane w oparciu o termiczny rozkład związków powierzchniowych*”, obroniłam w 1999 roku.

## III. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Po ukończeniu studium doktoranckiego i uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk chemicznych podjęłam zatrudnienie w Katedrze i Zakładzie Chemii Fizycznej Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego na stanowisku asystenta w latach 1999-2000, a od roku 2000 do chwili obecnej na stanowisku adiunkta.

## IV. Osiągnięcia określone w art. 16, ust. 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.)

Uzyskane osiągnięcia naukowe, których przedmiotem było otrzymywanie i charakterystyka fizykochemiczna kserozeli krzemionkowych jako stałych nośników chlorowodoru doksorubicyny - substancji o działaniu przeciwnowotworowym, są opisane w postaci jednotematycznego cyklu publikacji, wymienionych poniżej, opublikowanych w latach 2004-2010, o łącznym współczynniku oddziaływania (IF) wynoszącym 16,335 i wartości punktacji KBN/MNiSzW wynoszącej 181.

1. **Prokopowicz M.** Żele krzemionkowe i organicznie modyfikowane żele krzemionkowe jako matryce dla substancji leczniczych. *Farmacja Polska* 2006; (7): 295-308. (KBN/MNiSzW=3)
2. **Prokopowicz M,** Łukasiak J, Przyjazny A. Utilization of a sol-gel method for encapsulation of doxorubicin. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition* 2004; 15(3): 343-356. (IF=1,255; KBN/MNiSzW=9)
3. **Prokopowicz M.** In vitro controlled release of doxorubicin from silica xerogels. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2007; 59: 1365-1373. (IF=1,718; KBN/MNiSzW= 15)
4. **Prokopowicz M.** Synthesis and *in vitro* characterization of freeze-dried doxorubicin-loaded silica xerogels. *Journal of Sol-Gel Science Technology* 2010; 53: 525-533. (IF=1,393; KBN/MNiSzW=32)
5. **Prokopowicz M,** Łukasiak J, Banecki B, Przyjazny A. The measurement of conformational stability of proteins adsorbed on siloxanes. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition* 2003; 14(2): 103-118. (IF=1,593; KBN/MNiSzW=10)
6. **Prokopowicz M,** Łukasiak J, Banecki B, Przyjazny A. In vitro measurement of conformational stability of fibrinogen adsorbed on siloxane. *Biomacromolecules* 2005; 6: 39-45. (IF=3,618; KBN/MNiSzW=24)
7. **Prokopowicz M.** Correlation between physicochemical properties of doxorubicin-loaded silica/polydimethylsiloxane xerogel and in vitro release of drug. *Acta Biomaterialia* 2009; 5:193–207. (IF=3,975; KBN/MNiSzW=32)
8. **Prokopowicz M,** Łukasiak J. Correlation between physicochemical properties of doxorubicin-loaded silica-PEG composite and *in vitro* release of drug. *Journal of Non-Crystalline Solids* 2010; 356: 1711-1720. (IF=1,252; KBN/MNiSzW=32)
9. **Prokopowicz M,** Przyjazny A. Synthesis of sol-gel mesoporous silica materials providing a slow release of doxorubicin. *Journal of Microencapsulation* 2007; 24(7): 694-713. (IF=1,168; KBN/MNiSzW=24)

Badania związane z otrzymaniem kserożelu krzemionkowego jako nowego, stałego nośnika dla chlorowodoru doksorubicyny, rozpoczęłam z myślą o możliwości jego zastosowania jako podstawowego składnika formy leku w leczeniu nowotworów tkanki kostnej. Obecnie jedną z metod leczenia nowotworów i ich przerzutów do kości jest chirurgiczne usunięcie zmian chorobowych, a następnie poddanie chorego leczeniu systemowemu chemioterapią, stosując między innymi doksorubicynę w formie wlewów

dożylnych lub dotętnicznych. Często pomimo zastosowania takiej metody leczenia, następuje nawrót choroby. Wynika to przede wszystkim z trudności w osiągnięciu dawki terapeutycznej substancji leczniczej w miejscu występowania zmian chorobowych tkanki kostnej. Wydaje się, że jedną z metod leczenia nowotworów kości może być terapia celowana, której ideą jest zastosowanie odpowiedniej, stałej postaci leku zapewniającej wzrost stężenia substancji leczniczej w miejscu występowania zmian chorobowych, przy znacznie niższym jego stężeniu ogólnym. Może się to przyczynić do poprawy parametrów farmakokinetycznych i farmakologicznych, osiągnięcia specyficzności tkankowej oraz znacznego zmniejszenia działań niepożądanych.

Fakt ograniczonej skuteczności leczenia systemowego doksorubicyną, w zestawieniu z jego nieuniknionymi działaniami niepożądanymi, głównie kardiotoxycnością, skłonił mnie do poszukiwania nowych nośników doksorubicyny, o potencjalnym zastosowaniu w stałej postaci leku, w miejscowym leczeniu nowotworów kości. W oparciu o piśmiennictwo dotyczące sposobów wytwarzania kompozytów doksorubicyny z biomateriałami stwierdziłam, że największym problemem w ich otrzymaniu była niska wydajność i powtarzalność procesu wprowadzenia substancji leczniczej. Stąd też, skoncentrowałam się na wykorzystaniu techniki zol-żel, która zapewnia możliwość całkowitego wprowadzenia substancji leczniczej na etapie formowania żelu. Ponadto kserożele krzemionkowe otrzymane w tym procesie charakteryzują się biozgodnością z organizmem żywym, ponieważ nie są toksyczne, nie wpływają na układ immunologiczny oraz nie wywołują hemolizy. Natomiast w warunkach *in vivo* ulegają one częściowej lub całkowitej resorpcji, a w połączeniu z płynem fizjologicznym na ich powierzchni może tworzyć się warstwa hydroksyapatytowa, poprzez którą kserożel trwale łączy się np. z tkanką kostną.

Możliwości zastosowania techniki zol-żel dla uzyskania nośników substancji leczniczych przedstawiłam w pracy przeglądowej w Farmacji Polskiej pt. „*Żele krzemionkowe i organicznie modyfikowane żele krzemionkowe jako matryce dla substancji leczniczych*” /1/.

**Podstawowym celem moich badań** przedstawionych w 8 publikacjach /2-9/ było opracowanie metody otrzymywania techniką zol-żel i ocena fizykochemiczna nośników w formie stałej dla chlorowodoru doksorubicyny (ChD), które zapewniałyby przedłużone uwalnianie tego cytostatyku. W kolejnym etapie badań, po habilitacji, opracowane nośniki mają być podstawowym składnikiem stałej postaci leku do tkanki kostnej ze zmianami nowotworowymi.

Pracę badawczą prowadziłam w dwóch kierunkach. W pierwszym wykazałam możliwości otrzymywania porowatych kserożeli z ChD, gdzie substancja lecznicza w procesie zol-żel może być wprowadzona w formie roztworu wodnego. Uzyskane wyniki tego etapu badań są przedmiotem publikacji /2-8/.

Drugi kierunek badawczy związany był z koncepcją sporządzania mezoporowatych kserożeli krzemionkowych z immobilizowanym chlorowodorkiem doksorubicyny. Wyniki tego etapu badań przedstawiłam w publikacji /9/.

W pierwszej kolejności moje rozpoznanie polegało na ocenie wpływu parametrów, głównie pH i temperatury, procesu zol-żel na czas formowania (żelowania) kserożeli krzemionkowych. Następnie, wyznaczyłam szybkość uwalniania (dostępność farmaceutyczną) ChD ze sporządzonych kserożeli. Uzyskane wyniki tego etapu badań są przedmiotem publikacji /2/. W wyniku przeprowadzonych eksperymentów ustaliłam, że czas żelowania jak i szybkość uwalniania ChD zależał w dużej mierze od środowiska pH na etapie formowania żelu. Stwierdziłam brak przydatności, jako nośnika ChD – kserożelu otrzymywanego w środowisku kwaśnym i obojętnym, ze względu na długi czas trwania żelowania, jak i niewielką ilość uwolnionego ChD. Wykazałam, że uwalnianie ChD jest możliwe jedynie w przypadku mezoporowatej struktury kserożeli – o rozmiarze porów powyżej 2 nm, otrzymanych w środowisku zasadowym. Wyniki badań przyczyniły się do potwierdzenia możliwości zastosowania techniki zol-żel do wprowadzenia ChD w formie roztworu, co rozpoczęło cykl badań nad opracowaniem optymalnej metody sporządzania kserożeli jako nośników ChD. Wyniki tych eksperymentów zamieściłam w publikacjach /3, 4/. W opracowywaniu autorskiej metody otrzymywania kserożeli z ChD przyjąłm założenie, że: pH procesu zol-żel nie może przekraczać 6,5, temperatura procesu nie może przekraczać 22 °C, a czas formowania kserożeli z ChD powinien być jak najkrótszy. Ustalone parametry procesu uwzględniały właściwości fizykochemiczne ChD, który należy do substancji leczniczych szczególnie wrażliwych na temperaturę i światło dzienne, natomiast w roztworach wodnych wykazuje stabilność tylko w wąskim zakresie pH od 4,0 do 6,0. W wyniku wielu eksperymentów dobrałam warunki procesu zol-żel (stosunek molowy katalizatorów i prekursorów kserożelu krzemionkowego) i etapu suszenia kserożeli, które zapewniły krótki okres żelowania (10 h), uzyskanie mezoporowatej, monolitycznej matrycy o średnicy porów w zakresie 2 nm, oraz trwałość fizykochemiczną ChD. Opracowana metoda suszenia kserożeli z ChD, dotychczas nie opisana w dostępnym mi piśmiennictwie, przebiegała dwuetapowo. Najpierw w warunkach ciśnienia obniżonego do 1 hPa

w temperaturze 4 °C przez 7 dni, a następnie poprzez zastosowanie procesu liofilizacji przez 48 h w temperaturze – 55 °C i pod ciśnieniem 2 Pa.

Wykorzystując opracowaną metodę sporządzania stałych nośników kserożelowych z ChD, do dalszych badań zastosowałam ich formułacje liofilizowane w postaci ziaren o średnicy 1-2 mm, o składzie określonym w procentach wagowych: krzemionka - 91 % wag., chlorek wapnia - 9 % wag. Formułacje zawierały 2 mg ChD na 0,5 g nośnika. Wyniki tego etapu badań przedstawiłam w publikacji /4/. W pierwszej kolejności zbadalam możliwość zastosowania kserożelowych nośników do przedłużonego uwalniania ChD do płynu akceptorowego w modelowych warunkach *in vitro*. Płyn ten odpowiadał warunkom fizjologicznym pod względem temperatury, pH, i siły jonowej. Wykazałam, że profil uwalniania ChD przebiega dwufazowo. W pierwszej fazie, do 24 h, dynamika procesu była najszybsza i zachodziła zgodnie z kinetyką zerowego rzędu - 46 µg ChD/h. Natomiast w drugiej fazie, obserwowałam spowolnioną dyfuzję substancji leczniczej z wnętrza kserożelu, zgodnie z matematycznym modelem Higushiego. Po 250 h całkowita ilość uwolnionej ChD wynosiła 80 % wprowadzonej do nośnika dawki substancji leczniczej.

Uzyskane przedłużone uwalnianie ChD dało mi podstawę do scharakteryzowania opracowanych nośników ChD pod względem fizykochemicznym. Badania fizykochemiczne prowadziłam przy użyciu nowoczesnych technik analitycznych, m.in. takich jak: skaningowa mikroskopia elektronowa, mikroskopia sił atomowych, dyfuzyjno-odbiciowa spektroskopia ciała stałego UV/Vis (UV/Vis-DR), spektroskopia w podczerwieni (FTIR i FTIR/ATR), dyfrakcja promieni rentgenowskich (XRD), badania izotermy adsorpcji-desorpcji azotu, różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC) połączona z FTIR. Wykonywanie badań fizykochemicznych zostało poprzedzone ukończeniem przeze mnie kilku rozszerzonych kursów z analizy spektroskopowej oraz krótkimi praktykami w specjalistycznych laboratoriach mikroskopowych.

Wykazałam, że otrzymane kserożele krzemionkowe należą do materiałów bezpostaciowych, mezoporowatych, o wąskiej dystrybucji porów w zakresie 2 nm, porowatości całkowitej równej 47 %, i powierzchni właściwej 650 m<sup>2</sup>/g. Wykorzystując badania spektroskopowe ciała stałego UV/Vis-DR, ustaliłam że podstawową cechą widm elektronowych postaci stałej ChD w nośniku kserożelowym są przesunięcia batochromowe (o 15-20 nm) pasm elektronowych w porównaniu do ChD w formie roztworu. Stąd też zaproponowałam wniosek, że może to być wynikiem desolvatacji ChD pod wpływem liofilizacji lub występowania ChD w formie agregatów lub kompleksów ChD-ChD opartych

na oddziaływaniu  $\pi$ - $\pi$  elektronowym. Badania DSC, XRD, i FTIR nie potwierdziły obecności formy krystalicznej ChD w kserożelowym nośniku.

Podsumowując ten etap badań, ustaliłam że nowe, stałe formułacje kserożelu krzemionkowego z ChD, otrzymane wg zaproponowanej przeze mnie metody, mogą pełnić funkcję nośnika ChD o przedłużonym - 10 dniowym uwalnianiu.

W dalszym etapie badań w oparciu o modyfikacje składu kserożelowych nośników, poprzez wprowadzenie wielkocząsteczkowych polimerów hydrofobowych lub hydrofilowych, wykazałam możliwość kontroli szybkości uwalniania ChD. Postanowiłam ustalić związek pomiędzy właściwościami fizykochemicznymi modyfikowanych organicznie kserożeli krzemionkowych a szybkością uwalniania ChD. W tym celu przeprowadziłam organiczne modyfikacje kserożeli krzemionkowych wprowadzając do ich struktury polidimetylosiloksan (PDMS) – polimer hydrofobowy i glikol polioksyetylenowy (Makrogol – PEG 4000 Da) – polimer hydrofilowy.

Przystępując do otrzymania kserożeli krzemionkowych z PDMS, założyłam że siloksany, ze względu na lipofilowe właściwości będą zwiększały hydrofobowość nośnika i tym sposobem powinny spowalniać szybkość uwalniania ChD. Dobór właściwego siloksanu został poprzedzony badaniami wpływu wybranych siloksanów o budowie liniowej i cyklicznej na zmiany konformacyjne bydlęcej albuminy osocza i fibrynogenu ludzkiego. Zmiany konformacyjne białek obserwowałam wykorzystując spektroskopię fluorescencyjną. Wyniki tych badań przedstawiłam w publikacjach /5, 6/, w których wykazałam, że czynnikami decydującymi o stopniu zmian konformacyjnych badanych białek są długość i struktura łańcucha siloksanu, jego masa cząsteczkowa, i czas trwania inkubacji białek z siloksanami. Wyniki prac potwierdziły trwałe zmiany konformacji trzeciorzędowej fibrynogenu jedynie pod wpływem niskocząsteczkowego, liniowego heksametylodisiloksanu o lepkości poniżej 25 cSt. Biorąc to pod uwagę, zdecydowałam się na przeprowadzenie modyfikacji organicznej kserożeli krzemionkowych wykorzystując liniowy PDMS o lepkości 90-150 cSt i ciężarze cząsteczkowym 8400 Da. Ponadto, według Farmakopei Polskiej VIII, PDMS-y o lepkościach powyżej 50 cSt są dopuszczone do użytku wewnętrznego.

Do badań związku między właściwościami fizykochemicznymi kserożeli krzemionkowych modyfikowanych PDMS a szybkością uwalniania ChD w modelowych warunkach *in vitro* wytypowałam trzy formułacje nośników o rozmiarach ziaren 1-2 mm, o składzie określonym w procentach wagowych: chlorek wapnia - 9 % wag. i odpowiednio krzemionka - 83 % wag. i PDMS – 8 % wag., krzemionka – 76 % wag. i PDMS - 15 % wag., krzemionka – 70 % wag. i PDMS – 21 % wag. Formułacje zawierały 2 mg ChD na 0,5 g

nośnika. Wyniki tych badań przedstawiłam w publikacji /7/, za którą w 2011 roku otrzymałam indywidualną Nagrodę II stopnia Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

W otrzymywaniu kserożeli krzemionkowych z PEG, brałam pod uwagę to, że substancja pomocnicza PEG 4000 może jako klasyczny porofor zwiększać szybkość uwalniania substancji leczniczej z kserożelowego nośnika. Stąd też, celem moich badań na tym etapie było sprawdzenie jaką rolę będzie pełnił PEG w kserożelach otrzymywanych opracowaną przeze mnie metodą. W publikacji /8/ opisałam wpływ dodatku 8, 15, i 21 % wag. PEG do kserożelu krzemionkowego na szybkość uwalniania ChD w ilości 2 mg na 0,5 g nośnika, jak również opisałam fizykochemiczny mechanizm tego procesu. Skład wagowy nośników kserożelowych modyfikowanych PEG był identyczny jak w przypadku modyfikacji PDMS.

Uzyskane wyniki potwierdziły możliwość modyfikacji organicznej kserożeli krzemionkowych przy użyciu PDMS i PEG. Na podstawie wyników spektroskopowych FTIR i FTIR/ATR ustaliłam, że otrzymane modyfikowane kserożele krzemionkowe są kompozytami organiczno-nieorganicznymi należącymi do klasy I. Wykazałam silny związek pomiędzy właściwościami fizykochemicznymi modyfikowanych kserożeli a szybkością uwalniania ChD w warunkach *in vitro*. Stwierdziłam, że w porównaniu do formulacji kserożeli niemodyfikowanych, wprowadzenie PDMS przyczynia się do zmniejszenia całkowitej porowatości nośnika i zwiększa jego właściwości hydrofobowe. Przyczyniło się to do spadku szybkości uwalniania ChD. Wykazałam, że w czasie 250 h procesu dostępności farmaceutycznej formulacje kserożeli z PDMS uwalniają ChD dwufazowo. Przez pierwsze 24 h ze stałą szybkością, zgodnie z kinetyką zerowego rzędu a w dalszych godzinach na zasadzie spowolnionej dyfuzji z szybkością malejącą w czasie. Przykładowo, formulacje zawierające 8, 15, i 21 % wag. PDMS uwolniły odpowiednio 80, 50, i 33 % zawartego ChD.

Natomiast modyfikacja kserożeli krzemionkowych PEG miała wpływ na zwiększenie średnicy porów i zmniejszenie właściwości hydrofobowych kserożeli oraz zwiększenie szybkości uwalniania ChD. Z takich formulacji, po 100 h dwufazowego procesu uwalniania, dyfuzji uległa praktycznie cała zawartość ChD. Wykazałam, że maksymalny udział wagowy PEG w kserożelu nie powinien przekraczać 15 %. Powyżej tej wartości w początkowej fazie procesu uwalniania, po 0,5 h, stwierdziłam niekorzystny wyrzut ChD polegający na uwolnieniu 22 % zawartego ChD.

Stwierdziłam, że w przyszłości do dalszych badań nad technologią postaci leku z ChD do tkanki kostnej ze zmianami nowotworowymi szczególnie przydatne jako stałe nośniki ChD

o modyfikowanym - przedłużonym uwalnianiu mogą być kserożele krzemionkowe zawierające 21 % wag. PDMS.

Następną zaproponowaną przeze mnie koncepcją badań było wyodrębnienie i określenie procesów fizycznych mających decydujący wpływ na mechanizm szybkości uwalniania ChD z opracowanych niemodyfikowanych jak i modyfikowanych nośników kserożelowych. Zbadałam wpływ warunków uwalniania *in vitro* na zmiany fizykochemiczne poszczególnych formułacji kserożeli. Wyniki tych badań przedstawiłam w publikacjach /4, 7, 8/. Wykazałam, że w procesie uwalniania ChD zachodzi erozja powierzchniowa kserożeli związana z rozpuszczaniem krzemionki do kwasów krzemowych w płynie akceptorowym, ich ponowną polimeryzacją i wytrącaniem na powierzchni kserożeli. Mechanizm tych zmian dla wszystkich formułacji kserożeli niemodyfikowanych i modyfikowanych PDMS miał podobny przebieg. Wykazałam stopniowy wzrost średnicy i objętości porów z równoległym zmniejszeniem powierzchni właściwej kserożelu i jego całkowitej masy. Zmianom tym towarzyszyło zmniejszenie hydrofilowości kserożelu.

Natomiast zmiany fizykochemiczne kserożeli modyfikowanych PEG zachodziły podobnie, z wyjątkiem zmian powierzchni właściwej. Zaobserwowałam w tym przypadku jej znaczne zwiększenie, które wyjaśniłam formowaniem się nowych porów pod wpływem PEG jako klasycznego porofora.

Na podstawie uzyskanych wyników badań oceny szybkości uwalniania ChD i zmian fizykochemicznych nośników w warunkach *in vitro*, stwierdziłam istnienie istotnego związku między mechanizmem uwalniania w początkowej fazie - do 24 h, a zmianami zachodzącymi w strukturze kserożeli. Względnie szybkie uwalnianie, zgodnie z kinetyką zerowego rzędu w początkowej fazie, dla kserożeli niemodyfikowanych jak i zawierających PDMS, korelowało z największymi zmianami zachodzącymi w tym czasie w ich strukturze. Po tym etapie, zmiany struktury kserożeli były już niewielkie, zaś uwalnianie ChD zachodziło wolniej i zgodnie z modelem dyfuzyjnym - przez pory nośnika. W przypadku formułacji kserożeli krzemionkowych modyfikowanych PEG na złożoność procesu uwalniania, obok wymienionych procesów powierzchniowych, ma wpływ ilość zawartego PEG korelująca z ilością uwolnioną ChD i wielkością zmian powierzchni właściwej kserożeli w początkowej fazie uwalniania. Wykazałam, że im większa zawartość PEG w kserożelach, tym większa zmiana powierzchni właściwej kserożelu i większa ilość uwolnionego ChD.

Ustaliłam, że mechanizm uwalniania ChD z kserożeli jest złożony i obejmuje cztery etapy: penetrację płynu akceptorowego w system porów nośnika, rozpuszczenie wysuszonego



przez liofilizację ChD, dyfuzję roztworu ChD przez pory nośnika, i stopniową erozję powierzchniową nośnika związaną z rozpuszczaniem/re-polimeryzacją krzemionki.

Podsumowując, wyniki moich badań wskazują na możliwość wykorzystania opracowanej metody otrzymywania techniką zol-żel stałych nośników kserożelowych z ChD, wprowadzonym w formie roztworu na etapie formowania się kserożelu. Można przypuszczać, że ta koncepcja może być w przyszłości wykorzystana w badaniach preformulacyjnych nad sporządzaniem stałej postaci kserożelu o kontrolowanym i przedłużonym uwalnianiu ChD do tkanki kostnej.

W drugim kierunku badawczym zbadalam możliwość wykorzystania techniki wprowadzania chlorowodorku doksorubicyny (ChD) do mezoporowatych kserożeli krzemionkowych metodą immobilizacji z roztworu w procesie sorpcji. Wyniki tych badań są przedmiotem publikacji /9/. W pracy zbadalam i wyjaśniłam mechanizm immobilizacji ChD oraz mechanizm desorpcji ChD z kserożeli. Związane to było z otrzymaniem techniką zol-żel mezoporowatych kserożeli krzemionkowych różniących się pojemnościami sorpcyjnymi.

Ustaliłam, że mechanizm immobilizacji ChD z roztworu na nośniku kserożelowym polegał na dyfuzji ChD w pory kserożelu i formowaniu kompleksów lub agregatów ChD-ChD na skutek samoorganizacji cząsteczek opartej na oddziaływaniach  $\pi$ - $\pi$  elektronowych. Wykazałam, że szybkość uwalniania immobilizowanego ChD z nośników jest kontrolowana stężeniem równowagowym tej substancji leczniczej. Może mieć to znaczenie w potencjalnym wykorzystaniu mezoporowatych kserożeli z immobilizowanym ChD w chemioterapii celowanej, ze względu na możliwość utrzymywania przez dłuższy okres czasu stężenia substancji leczniczej na stałym terapeutycznie poziomie w miejscu implantacji kserożelowego nośnika w postaci leku.

***Reasumując do najważniejszych moich osiągnięć naukowych zaliczam:***

1. Opracowanie oryginalnej metody sporządzania techniką zol-żel stałych kserożelowych nośników z chlorowodorkiem doksorubicyny, wprowadzanym w formie roztworu na etapie formowania żelu oraz na drodze immobilizacji.
2. Wykazanie wpływu fizykochemicznej modyfikacji struktury kserożeli krzemionkowych przy zastosowaniu wielkocząsteczkowych polimerów hydrofobowych (polidimetylosiloksanu) i hydrofilowych (glikolu polioksyetylenowego) na uwalnianie chlorowodorku doksorubicyny w warunkach *in vitro*.

3. Ustalenie, że podstawową cechą widm elektronowych chlorowodorku dokсорubicyny w postaci stałej, w liofilizowanym nośniku kserożelowym, w porównaniu do chlorowodorku dokсорubicyny w roztworze są przesunięcia batochromowe (o 15-20 nm) pasm elektronowych. Wykazałam, że może to być wynikiem desolvatacji chlorowodorku dokсорubicyny pod wpływem liofilizacji lub występowania w formie agregatów czy kompleksów opartych na oddziaływaniu  $\pi$ - $\pi$  elektronowym.
4. W modelowych warunkach uwalniania *in vitro* poznanie i opisanie zmian fizykochemicznych zachodzących w kserożelowych nośnikach z chlorowodorkiem dokсорubicyny poddanych działaniu roztworu symulującego siłę jonową plazmy krwi człowieka.
5. Wytypowanie do dalszych badań nad technologią postaci leku z chlorowodorkiem dokсорubicyny do tkanki kostnej ze zmianami nowotworowymi – liofilizowanych formułacji nośników kserożelowych o rozmiarach ziaren 1-2 mm, o składzie określonym w procentach wagowych: krzemionka - 70 % wag., polidimetylosiloksan - 21 % wag., chlorek wapnia - 9 % wag.

Moje prace naukowo-badawcze, stanowiące jednotematyczny cykl publikacji, były finansowane w ramach działalności własnej i statutowej Katedry i Zakładu Chemii Fizycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (GUMed) oraz częściowo współfinansowane przez Komitet Badań Naukowych z kierowanego przez mnie grantu nr 3P05F 041 24.

W 2006 r. za dorobek naukowy tego okresu mojej działalności, otrzymałam zespołową nagrodę naukową pierwszego stopnia Rektora Akademii Medycznej w Gdańsku.

Prowadzone badania, jako działania interdyscyplinarne, łączące wiedzę i umiejętności specjalistów z wielu dziedzin, wymagały również współpracy z różnymi ośrodkami badawczymi. Podczas mojej pracy badawczej współpracowałam m.in. z ośrodkiem badawczym w Kettering University, Flint w Stanach Zjednoczonych, Akademią Górniczo-Hutniczą w Krakowie, Politechniką Gdańską, Uniwersytetem Lubelskim, i Wydziałem Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (UG-GUMed).

Obecnie kontynuuję ten temat badawczy pracując nad koncepcją modyfikacji opracowanej metody otrzymywania techniką zol-żel kserożeli modyfikowanych polidimetylosiloksanem w celu otrzymania nośników ChD, pełniących dwie funkcje. Nośnika o kontrolowanym uwalnianiu ChD oraz materiału o podwyższonej aktywności powierzchniowej, związanej z szybkim formowaniem powierzchniowego węglanowego

hydroksyapatytu, w warunkach symulujących fizjologiczne. Na potrzeby moich nowych badań uzyskałam kierownictwo trzyletniego grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr N N405 024440 pt. „Zastosowanie metody żol-żel do otrzymywania bioaktywnych kompozytów żeli krzemionkowych z substancją przeciwnowotworową o potencjalnym wykorzystaniu jako dodatki wszczepów do chorobowo zmienionej tkanki kostnej.” Ponadto rozpoczęłam cykl badań związanych z oceną cytotoksyczności *in vitro* nośników kserożelowych ChD zgodnie z ISO 10993-5:2009, oraz wpływu nośników kserożelowych z tą substancją leczniczą na proces fibrylogenezy kolagenu.

## V. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych.

### - Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk chemicznych

W ramach studiów doktoranckich tematem wiodącym moich prac były m.in. zagadnienia związane z:

- wyznaczeniem parametrów termicznego rozkładu związków chemicznie związanych z powierzchnią żeli krzemionkowych, w celu generowania wzorcowych mieszanin gazowych;
- kalibracją układu: termiczny desorber–chromatograf gazowy (TD-GC) za pomocą generowanych wzorcowych mieszanin gazowych;
- zastosowaniem technik izolacji analitów gazowych takich jak:
  - ✓ wymywanie z próbki z jednoczesnym wychwytywaniem analitów (*PT - purge and trap*),
  - ✓ analiza fazy nadpowierzchniowej (*HS - head space*),
  - ✓ mikroekstrakcja do fazy stałej (*SPME - solid phase microextraction*).

Znaczna część badań finansowana była przez Komitet Badań Naukowych w ramach grantu promotorskiego nr 3-TO9A-051-12. Wyniki prowadzonych przeze mnie badań zostały opublikowane w latach 1997-1999 w specjalistycznych czasopismach z zakresu chemii analitycznej, w postaci 7 publikacji, których byłam głównym autorem, o łącznym współczynniku oddziaływania (IF) wynoszącym 7,689.

Rozprawa doktorska, pt. „Gazowe mieszaniny wzorcowe sporządzane w oparciu o termiczny rozkład związków powierzchniowych” została wyróżniona przez Radę Wydziału Politechniki Gdańskiej i nagrodzona w 1999 roku przez Zarząd Gdańskiego Towarzystwa Naukowego za wybitne osiągnięcia z dziedziny nauk matematyczno-fizyczno-chemicznych.

## - Po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych.

### Współpraca naukowa

1. W ramach zadań statutowych Katedry i Zakładu Chemii Fizycznej prowadzonych pod kierunkiem kierownika prof. dr. hab. Jerzego Łukasiaka, prowadziłam badania w niżej wymienionych obszarach:

- analityce związków krzemooorganicznych;
- biodegradacji związków krzemooorganicznych w warunkach *in vitro* i *in vivo*;
- toksyczności powstających produktów biodegradacji i ich analizy.

Wyniki tych badań opublikowałam wraz z współautorami w 7 artykułach pełnotekstowych oraz w pracy przeglądowej w rozdziale pt. „*Biodegradation of Silicones (Organosiloxanes)*” książki pt. „*Miscellaneous biopolymers and biodegradation of synthetic polymers*”, 2003, 7, 539-568, wyd. Weinheim: Wiley-VCH.

2. W ramach współpracy z dr. hab. Wojciechem Kamyszem, prof. Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, kierowałam projektem badawczym nr 3 P05F 041 24 pt. „*Peptydowe środki konserwujące*”. Rola moja polegała na udziale w opracowaniu koncepcji badań konserwantów peptydowych oraz wykonywaniu wybranych analiz chromatograficznych. Wyniki naszych badań zostały przedstawione w 1 artykule pełnotekstowym oraz na 1 zagranicznej konferencji peptydowej i 2 konferencjach krajowych.

3. W ramach współpracy z prof. dr. hab. Krystyną Raczyńską, kierownikiem Katedry i Kliniki Chorób Oczu Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, prowadziłam badania nad wpływem oleju silikonowego stosowanego klinicznie jako substytut ciała szklistego gałki ocznej, na zmiany optyczne sztucznych soczewek wewnątrzgałkowych. Wykazałam, że w wyniku inkubacji z olejem silikonowym w środowisku zawierającym białka plazmy krwi człowieka zachodziły zmiany w przepuszczalności światła widzialnego soczewek, prowadzące do ich zmętnienia. Wyniki tych eksperymentów zostały opublikowane w 3 artykułach pełnotekstowych oraz przedstawione na 2 zagranicznych konferencjach okulistycznych i 4 konferencjach krajowych.

4. W ramach współpracy z dr. hab. Bogdanem Baneckim, prof. Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG-GUMed, uczestniczę w temacie badawczym pt. „*Oddziaływania kompozytów silikonowych z białkami w warunkach in vitro*”. Praca ma aspekt fizykochemiczny, związany z badaniami na poziomie molekularnym wpływu

kompozytów silikonowych na zmiany konformacyjne białek strukturalnych i transportowych organizmu człowieka.

5. W ramach współpracy z dr. inż. Jolantą Gras, adiunktem Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, uczestniczę w badaniach z zakresu analizy termicznej DSC, zarówno w obszarze nauk o żywności (badanie przemian fazowych w emulsji typu w/o) jak i farmacji (badanie przejść fazowych I i II rzędu substancji leczniczych w postaci leku).
6. W ramach współpracy z specjalistą z dziedziny technologii postaci leku, prof. dr. hab. Wiesławem Sawickim, kierującym aktualnie Katedrą i Zakładem Chemii Fizycznej GUMed, w której pracuję, oraz specjalistami z ośrodka badawczego w Limeric Material & Surface Science Institute Univeristy w Irlandii, uczestniczę w badaniach preformulacyjnych nad sporządzaniem stałej postaci kserożelu o kontrolowanym i przedłużonym uwalnianiu chlorowodoru doksorubicyny do tkanki kostnej.

#### **Kierowanie projektami badawczymi**

W latach 2000 – 2007 realizowałam w charakterze kierownika projektu 3 prace własne finansowane przez Akademię Medyczną w Gdańsku.

W latach 2002 – 2010 przygotowałam i wysłałam do Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, jako kierownik projektów, łącznie 4 wnioski o finansowanie badań własnych. W 2003 roku przyznano mi kierownictwo jednorocznego grantu nr 3 P05F 041 24 pt. „*Peptydowe środki konserwujące*”.

W 2010 roku przyznano mi kierownictwo trzyletniego grantu nr N N405 024440 pt. „*Zastosowanie metody żol-żel do otrzymywania bioaktywnych kompozytów żeli krzemionkowych z substancją przeciwnowotworową o potencjalnym wykorzystaniu jako dodatki wszczepów do chorobowo zmienionej tkanki kostnej.*”

#### **Otrzymane nagrody i stypendia**

1. W roku 2002 otrzymałam zespołową nagrodę naukową II-go stopnia Rektora Akademii Medycznej w Gdańsku za przedstawienie nowych poglądów na temat właściwości fizjologicznych oraz zastosowań doustnie podawanych silikonów.
2. W roku 2004 otrzymałam zespołową nagrodę naukową II-go stopnia Rektora Akademii Medycznej w Gdańsku za cykl prac poświęconych analitycznym, środowiskowym i molekularnym aspektom badań nad silikonami.

3. W roku 2007 otrzymałam zespołową nagrodę naukową I-go stopnia Rektora Akademii Medycznej w Gdańsku za cykl prac poświęconych ocenie przydatności matryc silikonowych i krzemionkowych do otrzymywania systemów terapeutycznych.
4. W roku 2010 otrzymałam nagrodę naukową indywidualną II-go stopnia Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za badania nad otrzymywaniem i charakterystyką fizykochemiczną organicznie modyfikowanych kompozytów kserożeli krzemionkowych z substancją przeciwnowotworową.
5. Decyzją Senackiej Komisji Nauki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego otrzymałam stypendium habilitacyjne w okresie 1 maja 2009 – 30 kwietnia 2010.

### **Wygłoszone referaty i komunikaty naukowe**

1. Referat: Wykorzystanie FTIR i ATR-IR do analizy stabilności organicznie modyfikowanych polimerów krzemionkowych syntezowanych metodą zol-żel. XI Ogólnopolskie Mikrosymposium: Metody spektroskopowe w badaniu materiałów i związków chemicznych, Uniwersytet Poznański, Zakład Dydaktyki Chemicznej, 26-27 maja 2006.
2. Referat: Wykorzystanie ATR/FTIR do badań biomateriałów krzemionkowych. XII Ogólnopolskie Mikrosymposium: Metody spektroskopowe w badaniu materiałów i związków chemicznych, Uniwersytet Poznański, Zakład Dydaktyki Chemicznej, 31.05-3.06.2007.
3. Komunikat: Związek pomiędzy strukturą molekularną i zachowaniem się *in vitro* kompozytów krzemionka/PEG. Konferencja: Nauka i przemysł - metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości/ pod red. Zbigniewa Hubickiego. Lublin, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej Wydział Chemii, 2009.
4. Komunikat: Wykorzystanie ATR/FTIR do badań organicznie modyfikowanych kserożeli krzemionkowych - ocena stabilności struktury. XIII Ogólnopolskie Symposium Krzemioorganiczne, Chmielno, 17-19 września 2007.

### **Uzyskane Patenty**

W 2007 roku wraz z współtwórcami uzyskałam patent: „*Masa do sporządzania płynnej mieszaniny wzorcowej, zwłaszcza do kalibrowania przyrządów analitycznych*” nr 194181, B1, Politechnika Gdańska.

## **VI. Dorobek naukowy – publikacje pełnotekstowe**

1. Łączna liczba publikacji pełnotekstowych wynosi 30 (załącznik 3 – wykaz dorobku naukowego) o sumarycznym współczynniku oddziaływania  $IF = 33,014$ .
2. Łączna liczba publikacji pełnotekstowych po uzyskaniu stopnia doktora wynosi 23 (załącznik 3 – wykaz dorobku naukowego po uzyskaniu stopnia doktora) o sumarycznym współczynniku oddziaływania  $IF=25,328$ .
3. Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science wynosi 157.
4. Indeks Hirscha publikacji według bazy Web of Science wynosi 7.

*Magdalena Prokopowicz*