

Autoreferat

Nano- i makroskopowe hydrożele polimerowe:
indukowana radiacyjnie synteza, właściwości, potencjalne zastosowania

dr inż. Sławomir Kadłubowski

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej

Wydział Chemiczny

Politechnika Łódzka

1. Dane osobowe

Imię i nazwisko: **Sławomir Kadłubowski**

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

- 2004** Stopień doktora nauk chemicznych, rozprawa doktorska pt. „Radiacyjna synteza nanożeli polimerowych”, promotor: prof. dr hab. Janusz M. Rosiak, Wydział Chemiczny Politechniki Łódzkiej, rozprawa doktorska **wyróżniona** przez Radę Wydziału Chemicznego PŁ
- 1999** Mgr inż. chemii, tytuł pracy magisterskiej: "Radiacyjna synteza nanożeli z poli(kwasu akrylowego)", praca wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Janusza M. Rosiaka, Wydział Chemiczny Politechniki Łódzkiej

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

10.2004 – obecnie adiunkt, Wydział Chemiczny Politechniki Łódzkiej

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z 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. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

„Nano- i makroskopowe hydrożele polimerowe: indukowana radiacyjnie synteza, właściwości, potencjalne zastosowania”

Podstawę osiągnięcia stanowi cykl 14 oryginalnych publikacji autorstwa i współautorstwa habilitanta

b) Spis monotematycznych publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe zgłoszone jako podstawa postępowania habilitacyjnego. Kopie publikacji oraz oświadczenia współautorów zamieszczono w załączniku 4.

- [H1] T. Schmidt, I. Janik, S. Kadlubowski, P. Ulanski, J.M. Rosiak, R. Reichelt, K.-F. Arndt; *Pulsed electron beam irradiation of dilute aqueous poly(vinyl methyl ether) solutions*, Polymer 46, 9908 (2005); **IF₂₀₀₅=2,849**.
- [H2] A. Henke, S. Kadlubowski, M. Wolszczak, P. Ulanski, V. Boyko, T. Schmidt, K.-F. Arndt, J.M. Rosiak; *The structure and aggregation of hydrogen-bonded interpolymer complexes of poly(acrylic acid) with poly(N-vinylpyrrolidone) in dilute aqueous solution*, Macromolecular Chemistry and Physics 212, 2529 (2011); **IF₂₀₁₁=2,361**.
- [H3] A. Henke, S. Kadlubowski, P. Ulanski, K.-F. Arndt, J.M. Rosiak; *Radiation-induced crosslinking of polyvinylpyrrolidone-poly(acrylic acid) complexes*, Nuclear Instruments and Methods B 236, 391 (2005); **IF₂₀₀₅=1,181**.
- [H4] S. Kadlubowski, P. Ulanski, J.M. Rosiak; *Synthesis of tailored nanogels by means of two-stage irradiation*, Polymer 53, 1985 (2012); **IF₂₀₁₂=3,379**.
- [H5] J.K. Jeszka, S. Kadlubowski, P. Ulanski; *Monte Carlo simulations of nanogels formation by intramolecular recombination of radicals on polymer chain. Dispersive kinetics controlled by chain dynamics*, Macromolecules 39, 857 (2006); **IF₂₀₀₆=4,277**.
- [H6] E. Achilli, G. Casajus, M. Siri, C. Flores, S. Kadlubowski, S. del V. Alonso, M. Grasselli; *Preparation of protein nanoparticle by dynamic aggregation and ionizing-induced crosslinking*, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 486, 161 (2015); **IF₂₀₁₅=2,760**.
- [H7] R.G. Queiroz, G.H.C. Varca, S. Kadlubowski, P. Ulanski, A.B. Lugão; *Radiation-synthesized protein-based drug carriers: Size-controlled BSA nanoparticles*, International Journal of Biological Macromolecules 85, 82 (2016); **IF₂₀₁₆=3,671**.
- [H8] G.H.C. Varca, S. Kadlubowski, M. Wolszczak, A.B. Lugao, J.M. Rosiak, P. Ulanski; *Synthesis of papain nanoparticles by e-beam irradiation - A pathway for enzyme crosslinking*, International Journal of Biological Macromolecules 92, 654 (2016); **IF₂₀₁₆=3,671**.
- [H9] S. Kadlubowski; *Radiation-induced synthesis of nanogels based on poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) – a review*, Radiation Physics and Chemistry 102, 29 (2014); **IF₂₀₁₄=1,380**.
- [H10] S. Kadlubowski, A. Henke, P. Ulański, J.M. Rosiak; *Hydrogels of polyvinylpyrrolidone (PVP) and poly(acrylic acid) (PAA) synthesized by radiation-induced crosslinking of homopolymers*, Radiation Physics and Chemistry 79, 261 (2010); **IF₂₀₁₀=1,132**.

[H11] S. Kadłubowski, A. Henke, P. Ulański, J.M. Rosiak, L. Bromberg, T.A. Hatton; *Hydrogels of polyvinylpyrrolidone (PVP) and poly(acrylic acid) (PAA) synthesized by photoinduced crosslinking of homopolymers*, Polymer 48, 4974 (2007); **IF₂₀₀₇=3,065**.

[H12] P. Ulański, W. Pawłowska, S. Kadłubowski, A. Henke, R. Gottlieb, K.-F. Arndt, L. Bromberg, T.A. Hatton, J.M. Rosiak; *Synthesis of hydrogels by radiation-induced cross-linking of Pluronic® F127 in N₂O-saturated aqueous solution*, Polymers for Advanced Technologies 17, 804 (2006); **IF₂₀₀₆=1,406**.

[H13] S. Kadłubowski, M. Matusiak, A. Adamus, M.N. Olejniczak, M. Kozanecki; *2-(2-methoxyethoxy)ethyl methacrylate hydrogels with gradient of cross-link density*, Radiation Physics and Chemistry 118, 107 (2016); **IF₂₀₁₆=1,315**.

[H14] S. Kadłubowski, M. Matusiak, J. Jencyk, M.N. Olejniczak, M. Kozanecki, L. Okrasa; *Radiation-induced synthesis of thermo-sensitive, gradient hydrogels based on 2-(2-methoxyethoxy)ethyl methacrylate*, Radiation Physics and Chemistry 100, 23 (2014); **IF₂₀₁₄=1,380**.

Łączny IF publikacji wchodzących w skład monotematycznego cyklu prezentacji to **33,827** całkowita liczba cytowań dla prac H1-14: **142**.

c) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników

Chemia radiacyjna polimerów to dziedzina wiedzy rozwijana od ponad 60 lat. Głównymi zagadnieniami z nią związanymi są reakcje inicjowane promieniowaniem jonizującym w układach polimerowych: polimeryzacja, szczepienie, sieciowanie, degradacja, cyklizacja makrocząsteczek, reakcje przebiegające na łańcuchach polimerowych, synteza materiałów kompozytowych oraz odporność polimerów na działanie promieniowania jonizującego (Ivanov, 1992). Część z wyżej wymienionych procesów, związana głównie z przetwórstwem polimerów, znalazła szereg zastosowań praktycznych, między innymi w medycynie i naukach pokrewnych.

Niewątpliwą zaletą stosowania promieniowania jonizującego do syntezy różnego rodzaju biomateriałów jest możliwość modyfikacji nadającej niezbędne cechy fizyczne i chemiczne oraz ich jednoczesna sterylizacja. Istotną cechą produktów końcowych jest również brak często toksycznych monomerów, inicjatorów, środków stabilizujących i sieciujących.

Materiałem polimerowym łączącym możliwość radiacyjnej syntezy i sterylizacji oraz stosowania w licznych aplikacjach medycznych są hydrożele, czyli trójwymiarowe sieci połączonych ze sobą łańcuchów polimerowych wraz z wypełniającym je rozpuszczalnikiem (Rosiak, 1991; Rosiak i Ulański, 1999).

Polimerowe żele podzielić można, na podstawie charakteru oddziaływań tworzących wiązania sieciujące, na dwie grupy: żele fizyczne i chemiczne. W przypadku żeli fizycznych (pseudowęzi) oddziaływania pomiędzy łańcuchami są względnie słabe i mogą być spowodowane przez oddziaływania wtórne, oddziaływania hydrofobowe czy też splątania łańcuchów, a także tworzenie regionów krystalicznych. Sieci takie są nietrwałe i stosunkowo łatwo ulegają „rozplątaniu” przy zastosowaniu podwyższonej temperatury, zmianie rozpuszczalnika lub pH roztworu. Żele chemiczne to sieci polimerowe, w których łańcuchy połączone są wiązaniami kowalencyjnymi. Są one trwałe, zatem nie mogą być łatwo zniszczone lub rozpuszczone, ponieważ wymagałoby to zerwania tychże wiązań, a tym samym zniszczenia struktury tworzącego go polimeru.

Innymi czynnikami (fizycznymi i chemicznymi), które mogą stanowić podstawę klasyfikacji hydrożeli, są:

- a) pochodzenie: polimery syntetyczne i naturalne;
- b) skład: homopolimery, kopolimery i przenikające się sieci polimerowe (IPN, *ang. interpenetrating polymer networks*);
- c) konfiguracja: amorficzne, semikrystaliczne i krystaliczne;
- d) ładunek: neutralne, jonowe (anionowe i kationowe), amfoteryczne i obojętne;
- e) rozmiar: makroskopowe, mikrożele i nanożele.

Przedmiotem wybranych prac stanowiących cykl habilitacyjny jest wykorzystanie promieniowania jonizującego do syntezy nano- i makroskopowych hydrożeli polimerowych wraz z opisem wybranych właściwości otrzymanych materiałów oraz ich potencjalnymi zastosowaniami.

W serii prac [**H1-H8**] skoncentrowałem się na propagowaniu oraz rozwoju indukowanej radiacyjnie syntezy nanożeli i nanocząstek polimerowych. Zgodnie z zaleceniami Komisji Nomenklatury Makromolekularnej Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej (Alemán et al., 2007) za nanożele uznaje się cząstki żelu o rozmiarach od kilku do 100 nm. Jednocześnie za mikrożele przyjmuje się cząsteczki żelu o rozmiarach pomiędzy 0,1 a 100 μm . Terminem nano(mikro)żel określa się także makrocząsteczki, w których segmenty tego

samego łańcucha są ze sobą połączone wiązaniami poprzecznymi. Zgodnie z taką definicją obok polimerów liniowych, rozgałęzionych, grzebieniowych, cyklicznych, gwiazdzystych, dendrymerów i innych należy wyróżnić nanożele jako odrębną klasę makrocząsteczek (Funke et al., 1998).

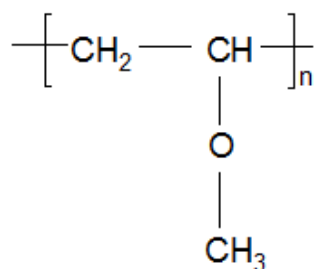
Od momentu pierwszych doniesień o możliwości syntezy mikrożeli (Baker, 1949; Staudinger and Huseman, 1935) opracowano szereg metod ich otrzymywania. Metody te podzielić można na dwie główne grupy. Pierwsza z nich oparta jest na równoczesnym procesie polimeryzacji i sieciowania (ang. *crosslinking polymerization*) monomerów lub ich mieszanin. Druga grupa to metody oparte na wewnątrzcząsteczkowym sieciowaniu makrocząsteczek.

W drugiej połowie lat 90-tych ubiegłego wieku w Zespole Chemii Radiacyjnej Stosowanej Międzyresortowego Instytutu Techniki Radiacyjnej PŁ, rozpoczęto prace nad indukowanym radiacyjnie sieciowaniem wewnątrzcząsteczkowym. Zaproponowano wówczas mechanizm reakcji prowadzących do syntezy nanożeli z prostych hydrofilowych polimerów takich jak poli(alkohol winylowy) (PVAI) czy poli(N-winylo-2-pirolidon) (PVP). Wykazano (Ulanski i Rosiak, 1999; Ulanski i Rosiak, 2004; Ulanski et al., 1998), że poprzez napromieniowanie strumieniem elektronów z akceleratora wodnych, rozcieńczonych roztworów tych polimerów, zainicjować można wewnątrzcząsteczkową rekombinację wygenerowanych na łańcuchach rodników. Prowadzi ona do zmniejszenia rozmiarów makrocząsteczek przy zachowaniu stałej wartości (bądź nieznacznym wzroście) średniej masy cząsteczkowej. Opracowana metoda jest niezwykle istotna z aplikacyjnego punktu widzenia, ponieważ pozwala uniknąć obecności w mieszaninie reakcyjnej zazwyczaj toksycznych monomerów, inicjatorów czy środków sieciujących.

W pracach **H1-H3** rozwinąłem metodę indukowanego radiacyjnie sieciowania wewnątrzcząsteczkowego wykazując, że można ją z dużym powodzeniem wykorzystać do syntezy nanożeli z polimerów czułych na bodźce zewnętrzne. Wybór takiej grupy materiałów podyktowany był ich potencjalnym zastosowaniem jako układów do transportu leków (Oh et al., 2008; Raemdonck et al., 2009; Vinogradov et al., 2004, 2002), wynikającym między innymi z wpływu rozmiaru pęczniającego lub wykurczanego układu na kinetykę uwalniania leku z matrycy żelowej. (Tanaka i Fillmore, 1979)

W pracy **H1** badania przeprowadziłem z wykorzystaniem poli(eteru winylowo-metylowego) (PVME) (**I**), popularnego termoczułego polimeru o dolnej krytycznej temperaturze

rozpuszczalności (LCST, ang. *lower critical solution temperature*) około 34°C (Horne et al., 1971). Wykonane wcześniej badania (Arndt et al., 2001; Theiss et al., 2004) potwierdziły możliwość otrzymania makroskopowych hydrożeli z PVME poprzez napromieniowanie (promieniowaniem gamma oraz strumieniem elektronów z akceleratora) wodnych, stężonych (powyżej hydrodynamicznego stężenia krytycznego, c^*) roztworów tego polimeru.



I

Do syntezy nanożeli wykorzystałem roztwory o stężeniach w zakresie 12,5 – 100 mmol/dm³ (około 25 – 3 razy niższe od c^*). Wykazałem, że dla roztworów o wyższych z badanych stężeń (50 i 100 mmol/dm³) wartość wagowo-średniej masy cząsteczkowej (M_w) rośnie wykładniczo wraz ze wzrostem pochłoniętej dawki. Jest to typowe zachowanie dla polimerów ulegających sieciowaniu pod wpływem promieniowania jonizującego przed osiągnięciem tzw. dawki żelowania. Należy zwrócić uwagę na to, że w napromienianych układach, szczególnie tych o stężeniach zbliżonych do krytycznego, ze względu na względnie niewielką liczbę rodników na każdej z makrocząsteczek, rekombinacja zachodzi zarówno na drodze między- jak i wewnątrzcząsteczkowej. Dlatego, by potwierdzić udział procesów wewnątrzcząsteczkowych, prowadzących do zmian w strukturze łańcuchów (tj. syntezy nanożeli), na podstawie zmian wymiarów napromienianych makrocząsteczek obliczyłem wartość wykładnika v z zależności $R_g \sim M_w^v$ (R_g – promień bezwładności). Dla kłębków polimeru w dobrym rozpuszczalniku przyjmuje on wielkości rzędu 0,5 – 0,6, natomiast dla twardych sfer jest równy $v = 1/3$ (Burchard, 1999). Analiza przeprowadzona dla roztworu o stężeniu 100 mmol/dm³ wskazała wartość wykładnika v równą 0,26, potwierdzając, że w układzie zachodzi proces syntezy nanożeli o zwartej, sferycznej strukturze.

W zakresie stężeń niższych od 25 mmol/dm³ zależność masy cząsteczkowej od dawki przyjmuje inną postać. Znaczny wzrost M_w zaobserwowałem jedynie dla dawek niższych od 1 kGy. Wynika to w głównej mierze ze sztywności łańcucha PVME. Dla wyższych dawek promieniowania jonizującego wzrost ten jest tylko nieznaczny. Jednocześnie zmniejszeniu

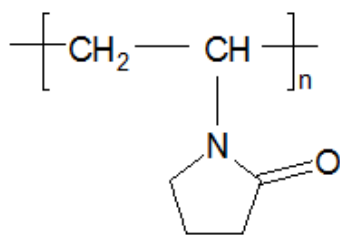
ulega promień hydrodynamiczny (R_h) makrocząstek, co wskazuje na dominującą rolę sieciowania wewnątrzcząsteczkowego.

O powstających wiązaniach wewnątrzcząsteczkowych świadczą także zmiany wartości drugiego współczynnika wirialnego (A_2). Wartości A_2 maleją wykładniczo wraz ze wzrostem pochłoniętej dawki niezależnie od stężenia polimeru w napromienianym roztworze. Zatem w miarę napromieniania i tworzenia wiązań wewnątrzcząsteczkowych oddziaływania pomiędzy segmentami polimeru zyskują coraz większe znaczenie w porównaniu z oddziaływaniami pomiędzy polimerem a rozpuszczalnikiem. Jednocześnie wartość drugiego współczynnika wirialnego nie spada poniżej 0, wskazując, że woda jest termodynamicznie dobrym rozpuszczalnikiem dla nanożeli PVME.

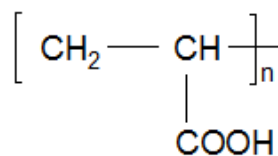
Kontynuując badania nad układami czuymi na bodźce zewnętrzne swoją uwagę skierowałem na kompleksy międzypolimerowe (ang. *interpolymer complexes*) powstające między komplementarnymi makrocząsteczkami zdolnymi do wzajemnego łączenia się ze sobą poprzez oddziaływania wtórne, m. in. wiązania wodorowe. Systemy takie, tworzone także przez część polimerów syntetycznych, są grupą materiałów wykazujących złożoność budowy podobną do cząsteczek biologicznych, takich jak białka czy DNA. Dlatego w badaniach często traktuje się je jako proste modele tych związków. Podejmowane są jednocześnie próby praktycznego wykorzystania kompleksów międzypolimerowych, między innymi jako układów do transportu leków, membran czy modelowych sztucznych mięśni. Jednym z problemów wiążących się ze stosowaniem takich kompleksów jest nietrwałość ich struktury. Istnieje szereg doniesień literaturowych dotyczących prób stabilizacji kompleksów międzypolimerowych z wykorzystaniem metod chemicznych (O'Reilly et al., 2006; Rodríguez-Henrández et al., 2005) lub fotochemicznych (Kaczmarek et al., 2001). Nie ma jednakże prac na temat wykorzystania promieniowania jonizującego do sieciowania polimerów w obrębie struktury kompleksu. Doniesienia literaturowe wskazują raczej na proces szczepienia radiacyjnego oraz polimeryzację matrycową jako metody syntezy nano- czy mikrożeli opartych na kompleksach międzypolimerowych. (Abd El-Rehim et al., 2007; Dispenza et al., 2012a)

Z tego względu przeprowadziłem badania fizyko-chemiczne dotyczące procesów tworzenia struktur nadcząsteczkowych w wodnych roztworach dwóch wybranych kompatybilnych polimerów: poli(N-winylo-2-pirolidonu) (PVP) (II) i poli(kwasu akrylowego) (PAA) (III) [H2] oraz wykazałem możliwość kowalencyjnej stabilizacji struktur opartych na kompleksach

międzypolimerowych tych polimerów poprzez indukowane radiacyjne sieciowanie w rozcieńczonych roztworach wodnych [H3].



II



III

W pracy H2 po raz pierwszy metodycznie potwierdziłem, że proces kompleksowania między poli(kwasem akrylowym) a poli(N-winylo-2-pirolidonem) zależy silnie od stosunku stężeń oraz mas cząsteczkowych użytych polimerów. W badaniach przeprowadzonych z poli(kwasem akrylowym) o wagowo-średniej masie cząsteczkowej w zakresie 1 – 50 kDa wykazałem, że wraz ze wzrostem M_w polikwasu kompleksy międzypolimerowe powstawały przy wyższym stopniu zjonizowania polielektrolitu. W wyniku kompleksowania powstają cząstki o zbitej strukturze i rozmiarach dwu- lub nawet trzykrotnie mniejszych od rozmiarów makrocząsteczek tworzących kompleks. Procesowi temu towarzyszy powstawanie domen hydrofobowych, które dodatkowo stabilizują strukturę kompleksu PVP-PAA.

Następstwem tworzenia kompleksów międzypolimerowych jest ich agregacja. Proces ten również bardzo silnie zależy od masy cząsteczkowej polikwasu. Najsilniejszą agregację kompleksów zaobserwowałem w przypadku cząstek zawierających oligomery kwasu akrylowego. Wraz ze wzrostem M_w PAA powstające agregaty charakteryzowały się niższą wartością potencjału zeta (zbliżającą się do -30 mV), a zatem coraz większą stabilnością koloidalną. Stwierdziłem, że proces agregacji zależy także od pH roztworu. Wykazałem, że przy niskich wartościach pH, a tym samym niskich stopniach jonizacji poli(kwasu akrylowego), dominuje proces kontrolowany dyfuzją kompleksów. Jednocześnie ze wzrostem wartości pH roztworu proces agregacji ulegał spowolnieniu. Agregaty powstałe w takim zakresie pH charakteryzują się zwartą strukturą o charakterze fraktalnym.

Wykorzystując pomiary rozmiarów agregatów PVP-PAA metodą statycznego i dynamicznego pomiaru intensywności światła rozproszonego wykazałem, że w zależności od długości łańcucha poli(kwasu akrylowego) cząstki kompleksów różnią się strukturą. Oligomery kwasu akrylowego tworzą z łańcuchami poli(N-winylo-2-pirolidonu) kompleksy

o strukturze zbliżonej do jednolitej sfery ($R_g/R_h = 0,7$) (Burchard, 1999), podczas gdy użycie długich łańcuchów PAA prowadzi do powstawania kompleksów o strukturze typu jądro-korona ($R_g/R_h = 0,4$) (Burchard, 1999). Silnie spęczniona zewnętrzna powłoka kompleksu powoduje wzrost stabilności takich cząstek.

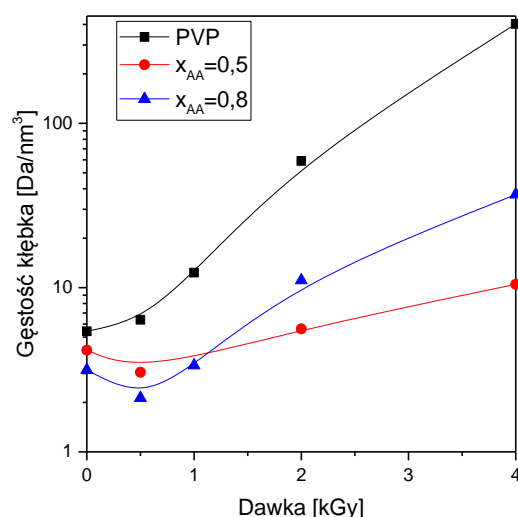
Jednocześnie, także po raz pierwszy, wykazałem, że sposób przygotowania próbek ma wpływ na proces powstawania kompleksów i ich agregatów. Regulacja stopnia zjonizowania polielektrolitu za pomocą niskocząsteczkowego kwasu powodowała wzmożoną agregację kompleksów oraz obniżała stabilność struktur nadcząsteczkowych.

Wskazanie podstawowych zależności rządzących otrzymywaniem kompleksów międzypolimerowych pozwoliło rozpocząć pracę nad ich stabilizacją na drodze sieciowania wewnątrzcząsteczkowego, wyniki której przedstawiono w publikacji **H3**. Do badań wykorzystałem mieszaninę poli(N-winylo-2-pirolidonu) i poli(kwasu akrylowego) o średnich masach cząsteczkowych, odpowiednio, 800 i 50 kDa. Całkowite stężenie polimerów w napromienianym roztworze wynosiło 10 mmol/dm^3 . W badaniach wykorzystałem roztwory o ułamkach molowych merów kwasu akrylowego równych 0,5 i 0,8.

Mimo że stężenia polimerów utrzymywałem poniżej wartości krytycznej, promującej wewnątrzcząsteczkową rekombinację rodników polimerowych (rozumianą tutaj jako reakcję w obrębie pojedynczej cząsteczki kompleksu), w trakcie napromieniania zaobserwowałem wzrost wartości średniej masy cząsteczkowej. Spowodowane jest to nieznacznym udziałem sieciowania międzycząsteczkowego. Jest ono wyraźnie silniejsze dla roztworu samego poli(N-winylo-2-pirolidonu) niż dla roztworów PVP z dodatkiem poli(kwasu akrylowego), znacznie bardziej skłonnego do reakcji inicjowanej radiacyjnie degradacji (Ulański et al., 1996a, 1996b). Potwierdzeniem osiągnięcia założonego celu pracy: otrzymania nanożeli kompleksów międzypolimerowych, powinno być zatem zmniejszenie lepkości roztworu oraz rozmiarów makrocząstek (Brasch i Burchard, 1996; Ulański i Rosiak, 1999; Ulański et al., 1998).

Wykazałem, że niezależnie od stężenia polielektrolitu, wartości lepkości istotnej maleją w całym zakresie użytych dawek promieniowania jonizującego. Jednocześnie przeprowadziłem pomiary zmian promienia bezwładności metodą statycznego rozpraszania światła laserowego. Wartości R_g , poza początkowym zakresem dawek, zgodnie z obserwacjami wiskozymetrycznymi, wyraźnie maleją wraz z rosnącą pochłoniętą przez układ dawką. W takich warunkach, powyżej pH niezbędnego do powstania kompleksów

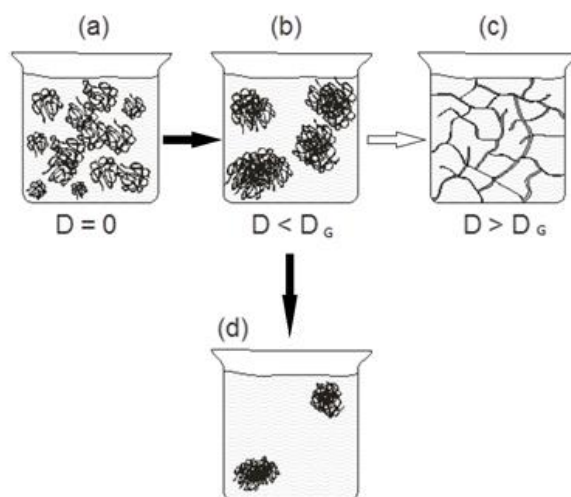
międzypolimerowych, w roztworze mamy do czynienia z mieszaniną dwóch polimerów, z których decydującym o wartości R_g jest poli(N-winylo-2-pirolidon). W trakcie napromieniania łańcuchy PAA są trwale łączone z PVP, co wpływa na zwiększenie średniego rozmiaru makrocząstek. Dalsze zmiany R_g determinowane są procesem sieciowania wewnątrzcząsteczkowego, co potwierdzają rosnące wartości gęstości kłęбка (*Rysunek 1*).



Rysunek 1. Gęstość kłęбка w funkcji dawki promieniowania jonizującego podczas indukowanej radiacyjnie syntezy nanożeli kompleksów międzypolimerowych poli(N-winylo-2-pirolidonu) i poli(kwasu akrylowego) o średnich masach cząsteczkowych, odpowiednio, 800 i 50 kDa. Całkowite stężenie polimerów w napromienianym roztworze 10 mmol/dm^3 . Ułamek molowy merów kwasu akrylowego: 0, 0,5 i 0,8. Radioliza impulsowa nasyconych Ar wodnych roztworów: czas trwania impulsu $2 \mu\text{s}$, częstotliwość 5 Hz. Pomiar intensywności światła rozproszonego w warunkach: $\text{pH} = 10$ z dodatkiem $0,5 \text{ mol/dm}^3 \text{ NaClO}_4$.

Oryginalnym rozwiązaniem dotyczącym syntezy nanożeli polimerowych było, przedstawione w pracy **H4**, opracowanie tzw. dwuetapowej syntezy tych makrocząstek. Opisana metoda pozwala otrzymywać nano- oraz mikrozele, których masy cząsteczkowe i wymiary mogą być dowolnie zaplanowane w sposób niezależny od siebie. Innymi słowy, metoda ta umożliwia tworzenie nanożeli o określonych wymiarach i dowolnej (w pewnych granicach) gęstości upakowania segmentów łańcucha. Zaproponowałem rozwiązanie polegające na wstępnym napromienianiu, z niską szybkością dawkowania (np. z użyciem promieniowania gamma), roztworu polimeru (lub monomeru) o wysokim stężeniu (*Rysunek 2*). W takich warunkach reakcją dominującą w napromienianym układzie jest rekombinacja międzycząsteczkowa

(ewentualnie poprzedzona polimeryzacją), prowadząca do wzrostu zarówno średniej masy cząsteczkowej jak i rozmiarów makrocząsteczek. Po uzyskaniu układu o zadawalającej masie cząsteczkowej, roztwór jest rozcieńczany poniżej krytycznego stężenia hydrodynamicznego i napromieniany z wysoką szybkością dawkowania za pomocą wiązki przyspieszonych elektronów z akceleratora. Reakcją decydującą o zmianie właściwości fizyko-chemicznych napromienianego roztworu polimeru jest wówczas sieciowanie wewnątrzcząsteczkowe: masa cząsteczkowa nie ulega zmianie przy jednoczesnym zmniejszeniu rozmiarów kłębka. Proces ten kontynuowany jest do osiągnięcia układu o wymaganej gęstości usieciowania. Procedura przetestowana została z powodzeniem na dwóch neutralnych polimerach: poli(N-winylo-2-pirolidonie) (**H4**) oraz poli(tlenku etylenu) (dane niepublikowane).



Rysunek 2. Schemat przedstawiający proces dwuetapowej syntezy nanożeli: a) stężony, powyżej hydrodynamicznego stężenia krytycznego, roztwór polimerowy (kłębki polimeru przenikają się wzajemnie), b) roztwór jak w (a) po napromieniowaniu z niską szybkością dawkowania przed osiągnięciem dawki żelowania, c) roztwór jak w (a) napromieniony dawką wyższą niż dawka żelowania (żel makroskopowy), d) roztwór jak w (b) rozcieńczony poniżej hydrodynamicznego stężenia krytycznego i napromieniony z wysoką szybkością dawkowania (synteza nanożeli polimerowych) [**H4**].

Informacji o zmianach gęstości segmentalnej wewnątrz kłębka dostarczają także różnice wartości stosunku R_g/R_h (malejący po napromieniowaniu do wartości 0,96 charakterystycznej dla twardych sfer (Burchard, 1999)) i segmentalnego współczynnika przenikania ψ . Dla liniowych polimerów o wysokim stopniu polimeryzacji wartość tego współczynnika nie jest wyższa od 0,26 (Freed, 1987), natomiast dla w pełni nieprzenikalnych sfer $\psi = 1,61$ (Bywater, 1979; Douglas i Freed, 1984). W przedstawionej pracy wartość segmentalnego

współczynnika przenikania rośnie do 0,7 wskazując na nasilenie oddziaływań pomiędzy segmentami wewnątrz makrocząsteczek wynikającymi ze wzrostu gęstości sieciowania.

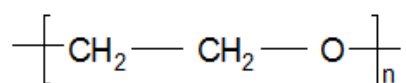
Dodatkowym potwierdzeniem zachodzenia w drugim etapie syntezy reakcji sieciowania wewnątrzcząsteczkowego są zdjęcia pochodzące ze skaningowej mikroskopii elektronowej. Uzyskałem je nanosząc na węglowy nośnik próbki liniowego i usieciowanego wewnątrzcząsteczkowo polimeru. Dla makrocząsteczek nieusieciowanych zaobserwowałem płaską powierzchnię przepiętanych wzajemnie łańcuchów. Nanozele ze względu na ograniczenia w przenikaniu, wynikające z obecności dodatkowych wiązań pomiędzy segmentami łańcuchów, zachowały swój kulisty kształt mimo wysuszenia. Podobne zachowanie wykazano wcześniej dla nanożeli poli(kwasu akrylowego) metodą mikroskopii sił atomowych (Kadlubowski et al., 2003).

Niemal od początku prac związanych z syntezą nanożeli trwały badania nad wyjaśnieniem mechanizmu procesu sieciowania wewnątrzcząsteczkowego. Szczególną uwagę poświęcono kinetyce tego procesu.

Już pierwsze doniesienia literaturowe wskazywały na nieklasyczny charakter tej reakcji (Ulanski et al., 1995). Rekombinację rodników prowadzącą do syntezy makroskopowych hydrożeli (od ścianki do ścianki) opisuje się równaniami wynikającymi z klasycznej kinetyki drugiego rzędu. W przypadku wewnątrzcząsteczkowych reakcji makrorodników do ich opisu korzysta się natomiast z równań kinetyki niehomogenicznej (*równanie 1*) (Plonka, 1991) przyjmując występujący w nich parametr α jako miarę dyspersji reaktywności substratów, a zatem również jako miarę odchylenia dynamiki reakcji od klasycznej kinetyki.

$$k = Bt^{\alpha-1} \quad (1)$$

Do wyjaśnienia natury niehomogeniczności kinetyki sieciowania wewnątrzcząsteczkowego wykorzystałem symulacje komputerowe metodą Monte Carlo (MC) zgodnie z algorytmem CMA (ang. *Cooperative Motion Algorithm*) oraz radiolizę impulsową wodnych odtlenionych roztworów standardów poli(tlenku etylenu) (PEO) (**IV**). Wyniki badań przedstawiłem w pracy **H5**.

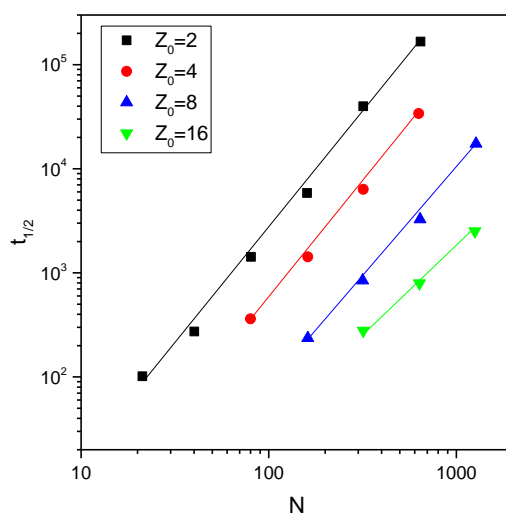


IV

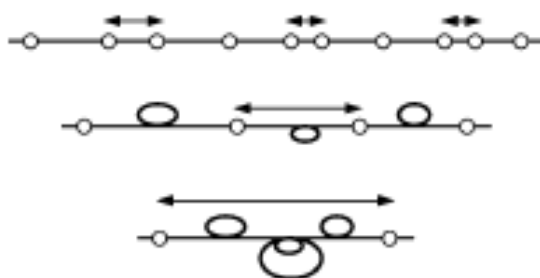
Zgodnie z pierwotnie stawianą hipotezą, jakoby czynnikiem determinującym rozbieżność badanego mechanizmu reakcji od kinetyki klasycznej był sam fakt tworzenia wiązań kowalencyjnych pomiędzy segmentami łańcucha (a zatem jego stopniowe usztywnienie i zmiana dynamiki reorganizacji segmentów) przeprowadziłem symulacje, w których na identycznych łańcuchach wygenerowałem taką samą liczbę rodników, a następnie śledziłem ich zanik wyłącznie na drodze sieciowania (tworzenie wiązań między segmentami) lub dysproporcjonacji (w wyniku której takie wiązania nie powstają). Należy zaznaczyć, że takiego testu nie można przeprowadzić w warunkach doświadczalnych. Wykazałem, że niezależnie od sposobu reakcji zanik rodników odbywał się z taką samą szybkością, co oznacza, że przyjęta początkowo hipoteza nie wyjaśnia obserwowanego efektu.

Rozpocząłem zatem szczegółowe badania wpływu długości łańcucha (N) i liczby wygenerowanych na nim rodników (Z_0) na kinetykę rekombinacji. Wykazałem, że średnia liczba segmentów pomiędzy dwoma rodnikami jest dominującym czynnikiem wpływającym na szybkość ich rekombinacji. Nieznaczny wpływ ma także całkowita długość łańcucha, jednakże jest ona pomijalna dla makrocząsteczek co najmniej dwukrotnie dłuższych niż odległość między rodnikami. Dla układów, w których generowano większą niż 2 liczbę rodników, różnicując także odległość między nimi, czas półtrwania rekombinacji wzrastał z rosnącą długością łańcucha (*Rysunek 3*). Poszerzeniu ulegał także przedział czasowy, w którym rodniki zanikają.

Wykazałem także, że w układach, w których na łańcuchu występują więcej niż 2 rodniki, preferowana jest rekombinacja z najbliższym dostępnym partnerem. W wyniku reakcji pomiędzy częścią rodników dystans pomiędzy pozostałymi ulega zwiększeniu zgodnie ze schematem przedstawionym na *Rysunku 4*. Możliwość zaniku rodników utrudniają także powstające pętle.

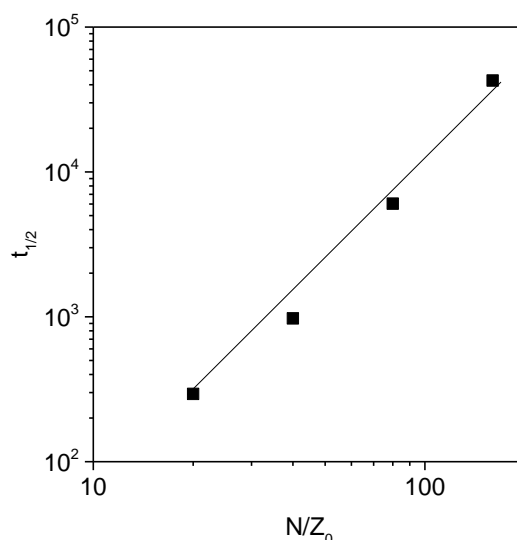


Rysunek 3. Czas półtrwania statystycznie generowanych rodników ($Z_0=2, 4, 8, 16$) w wyniku rekombinacji w funkcji długości łańcucha N . Współczynniki nachylenia wynoszą odpowiednio 2,3, 2,15, 2,1 i 1,7 [H5].



Rysunek 4. Zmiana odległości pomiędzy rodnikami następująca w wyniku ich rekombinacji [H5].

Analizując wpływ liczby rodników generowanych na łańcuchu na kinetykę rekombinacji wskazałem na wyraźny wpływ stosunku N/Z_0 (zmniejszenia średniej odległości pomiędzy rodnikami wraz z rosnącą ich ilością) na czas półtrwania rodników (Rysunek 5) oraz przedział czasowy, w którym zanikają.



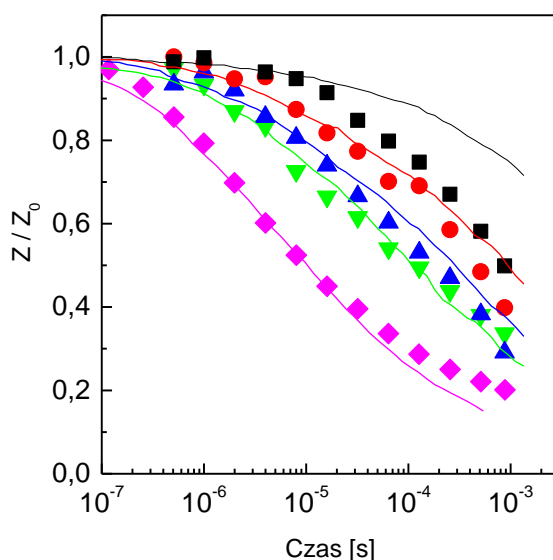
Rysunek 5. Czas półtrwania statystycznie generowanych rodników na łańcuchu o długości $N=320$ w funkcji gęstości rodników na łańcuchu [H5].

Porównując kinetykę zaniku rodników generowanych na łańcuchach o różnej długości, charakteryzujących się jednakże stałą wartością stosunku N/Z_0 wykazałem, że mimo różnic w długości łańcucha i liczby rodników, czasy półtrwania były zbliżone. Dla zbadanych układów podobne były także, głównie w swym początkowym etapie, przebiegi czasowe. Dopiero dla dłuższych czasów zaobserwowałem wyraźny wpływ długości łańcucha na sposób zaniku rodników: im dłuższy łańcuch tym później następuje całkowity zanik rodników. Ma to swoje źródło w średnich odległościach pomiędzy rodnikami. Tylko w początkowym etapie zaniku odległości te są mniej więcej stałe, zarówno dla długich jak i krótkich łańcuchów. Po rekombinacji części rodników, te które pozostały na krótkich łańcuchach są w dalszym ciągu względnie blisko siebie (odległość między nimi jest warunkowana całkowitą długością łańcucha), podczas gdy te na długich makrocząsteczkach są znacznie od siebie oddalone.

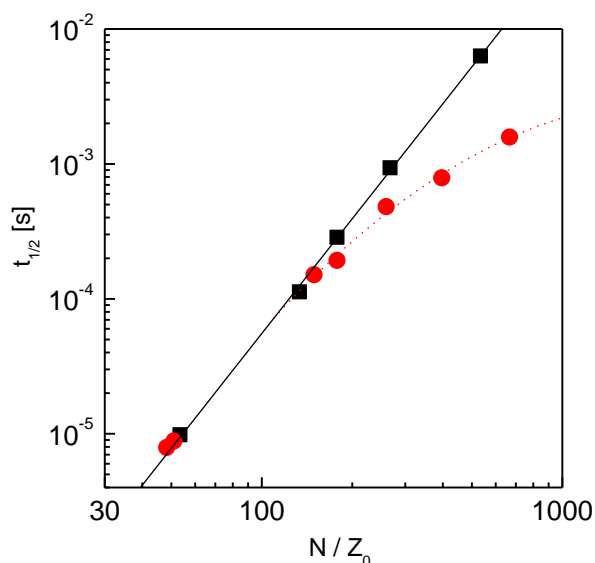
Potwierdzeniem prawidłowości obserwacji przeprowadzonych na podstawie symulacji było ich porównanie z danymi eksperymentalnymi, otrzymanymi podczas radiolizy impulsowej wodnych, odtlenionych roztworów poli(tlenku etylenu). W celu porównania danych eksperymentalnych i obliczeniowych w pierwszym rzędzie należało opracować sposób skalowania czasu w symulacjach Monte Carlo oraz długości generowanego łańcucha. W oparciu o pracę Borodina i współpracowników (Borodin et al., 2001) ustaliłem, że dwie jednostki monomerowe poli(tlenku etylenu) odpowiadają podczas symulacji jednemu

segmentowi, a za czas równy jednostce MC, na podstawie czasu relaksacji segmentu Kuhna PEO w wodzie, przyjęto 7×10^{-9} s.

Na *Rysunkach 6 i 7* przedstawiłem porównanie wyników otrzymanych eksperymentalnie oraz metodą symulacji komputerowych. Podkreślić należy, że z wyjątkiem przebiegów zarejestrowanych dla układów o największych wartościach N/Z_0 , dane z obu metod pokrywają się w znacznym stopniu. Potencjalne różnice wynikać mogą przede wszystkim ze sposobu generowania rodników. Metody obliczeniowe pozwalają generować ustaloną liczbę rodników na każdym z łańcuchów, podczas gdy w rzeczywistości mamy do czynienia z rozkładem tej wartości, co może prowadzić do poszerzenia krzywych kinetycznych opisujących zanik rodników. Ponadto w trakcie radiolizy ilość rodników powstających na makrocząsteczkach nie musi być liczbą parzystą. Dlatego część z nich nie może rekombinować wewnątrzcząsteczkowo.



Rysunek 6. Porównanie symulacyjnych (linie) oraz eksperymentalnych (punkty) wyników opisujących kinetykę rekombinacji. Eksperyment: 10 mmol/dm^3 , $M_p = 94 \text{ kDa}$, średnia liczba rodników $Z_0 = \blacklozenge 21,0$, $\blacktriangledown 7,2$, $\blacktriangle 6,0$, $\bullet 4,1$, $\blacksquare 2,7$. Symulacje: statystycznie generowane rodniki na łańcuchu o długości $N = 1068$, $Z_0 = 20, 8, 6, 4$ i 2 [H5].



Rysunek 7. Czas półtrwania rekombinacji w funkcji średniej odległości między rodnikami generowanymi na łańcuchu o długości $N=1068$: ■ - symulacja, ● - eksperyment [H5].

Powodem różnic pomiędzy danymi otrzymanymi eksperymentalnie i obliczeniowo mogą być także reakcje uboczne zachodzące podczas radiolizy poli(tlenku etylenu): przeniesienie atomu wodoru oraz rekombinacja międzycząsteczkowa. Mimo przedstawionych powyżej rozbieżności użycie opracowanego modelu obliczeniowego daje cenny wgląd w proces sieciowania wewnątrzcząsteczkowego, prowadzącego do syntezy nanożeli.

Oryginalną metodę otrzymywania nanocząstek opartych na związkach biologicznie czynnych (proteinach i enzymach) przedstawiłem w pracach **H6-H8**. Układy takie znaleźć mogą w przyszłości zastosowanie między innymi jako aktywne nośniki leków (Elzoghby et al., 2012). Cel, jaki został postawiony przy opracowaniu metody syntezy nanocząstek albuminy (**H6** i **H7**) i papainy (**H8**), polegał na wskazaniu warunków: a) prowadzących do między- i wewnątrzcząsteczkowego sieciowania tych naturalnych polimerów, b) zapewniających odpowiedni rozmiar powstających nanocząstek, przy zachowaniu aktywności biologicznej tworzących je białek.

Tradycyjne sposoby syntezy nanocząstek protein opierają się głównie na procesach desolwatacji, emulsyfikacji oraz żelowania termicznego (Weber et al., 2000). Ostatnio wskazano także możliwość wykorzystania suszenia rozpyłowego (ang. *nano-spray drying*) (Lee et al., 2011), technologii nab (ang. *nanoparticle albumin-bound*) (Cortes i Saura, 2010;

Desai, 2007) oraz technik związanych z samoorganizacją cząsteczek (Gong et al., 2009; Xu et al., 2011). Stabilność otrzymanych nanocząstek zapewniają chemiczne sieciowanie za pomocą aldehydu glutarowego lub denaturacja białek. Metody te związane są jednak z koniecznością użycia, zwykle toksycznych, dodatkowych związków chemicznych bądź całkowitym zniszczeniem struktury białka (Vaiana et al., 2004).

Możliwość zastosowania promieniowania jonizującego do utrwalenia struktury nanocząstek białek zaproponowana została przez Soto-Espinozę i współpracowników (Soto Espinoza et al., 2012). W pracach **H6** i **H7** podjąłem się próby wyjaśnienia mechanizmu otrzymywania nanocząstek albuminy i ich radiacyjnego sieciowania. Zbadałem wpływ stężenia wybranych alkoholi (metanolu (MeOH) i etanolu (EtOH)) na agregację surowiczej albuminy wołowej (BSA, ang. *Bovine Serum Albumin*). Zgodnie z doniesieniami literaturowymi (Sabliov et al., 2015) zaobserwowane różnice w amplitudzie zmian rozmiarów albuminy dla takich samych stężeń alkoholu wynikają w głównej mierze z różnic w jego polarności. Metodą dynamicznego rozpraszania światła wykazałem wzrost średnicy hydrodynamicznej cząstek albuminy wraz z rosnącym stężeniem alkoholu. Wskazałem również zakres stężeń, powyżej których BSA całkowicie wytrącało się z roztworu uniemożliwiając dalszą syntezę nanocząstek. Podobnej charakterystyce poddałem roztwory papainy z dodatkiem etanolu jako czynnika wywołującego agregację polimeru (**H8**). Analogicznie jak w badaniach nad albuminą wykazałem wzrost rozmiarów nanocząstek wraz z rosnącym stężeniem EtOH.

Nietrwały (fizyczny) a zarazem odwracalny charakter oddziaływań pomiędzy cząsteczkami albuminy wykazałem poprzez wielokrotne rozcieńczenie roztworów wodą. Zaobserwowałem wówczas zmniejszenie rozmiarów nanocząstek wynikające z rozpadu agregatów. W celu utrwalenia struktury nanocząstek albuminy i papainy, ich alkoholowe roztwory z dodatkiem buforu fosforanowego poddałem działaniu promieniowania jonizującego. Zgodnie z doniesieniami literaturowymi sieciowanie miałoby zachodzić poprzez tworzenie się wiązań dityrozylowych z udziałem rodników typu fenoksyłowego na tyrozynie będącej częścią łańcucha tych naturalnych polimerów (Houée-Levin i Bobrowski, 2013; Houée-Lévin et al., 2015; Solar et al., 1984; Thalmann i Lötzbeier, 2002). Wzrost rozmiarów i masy cząsteczkowej w wyniku napromieniowania, wskazujące na proces sieciowania, potwierdziłem metodą dynamicznego rozpraszania światła oraz za pomocą elektroforezy. Jednocześnie wykazałem, że napromienianie tylko w niewielkim stopniu wpływa na zmianę aktywności biologicznej (**H8**). Aktywność enzymatyczna papainy napromienionej w obecności etanolu (20%) dawką 10 kGy zmalała jedynie o około 20%, co wskazuje

na możliwość dalszego praktycznego stosowania nanocząstek papainy o rozmiarach utrwalonych działaniem promieniowania jonizującego.

Sposób tworzenia trwałych połączeń pomiędzy cząsteczkami albuminy (**H7**) i papainy (**H8**) potwierdziłem metodami spektroskopowymi. Analiza fluorescencji przeprowadzona w funkcji rosnącego stężenia alkoholu oraz dawki promieniowania wykazała wzrost emisji w zakresie długości fal odpowiadających wiązaniom bityrozyłowemu ($\lambda_{\text{wzbudzenia}} = 325 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{emisji}} = 340\text{-}500 \text{ nm}$). Mimo, że podobny efekt zaobserwowali między innymi Varca i współpracownicy (Varca et al., 2014) w tworzeniu połączeń międzycząsteczkowych albuminy i papainy, nie można wykluczyć udziału innych, dodatkowych mechanizmów. Jedną z takich możliwości jest tworzenie mostków siarczkowych z udziałem cysteiny. Wiązania tego typu powstają poprzez reakcję rodnika hydroksylowego z cysteiną prowadzącą do powstania rodnika tiylowego, który w określonych warunkach może zostać przyłączony do tiolu dając anionorodnik disiarczkowy, a następnie wiązanie disiarczkowe (Houée-Levin i Bobrowski, 2013). Wykazałem, że dodatek 2-merkaptoetanolu (czynnika redukującego mostki disiarczkowe) nie wpływał na zmianę masy cząsteczkowej i rozmiarów nanocząstek, co wskazuje na jedynie częściowy udział tego typu reakcji w procesie radiacyjnej syntezy nanocząstek papainy i albuminy.

W końcowym etapie badań (**H6**) potwierdziłem możliwość tworzenia połączeń pomiędzy nanocząstkami albuminy i wybranym związkiem modelowym: merocyjaniną (MC540) – ujemnie naładowanym fotouczulaczem stosowanym w terapii antynowotworowej. Wiązanie MC540 z proteiną może zachodzić w dwóch kieszeniach hydrofobowych nazywanych miejscami Sudlowa I i II (Banerjee et al., 2012). Miejsce Sudlowa I zawiera tryptofan, podczas gdy miejsce II tyrozynę, dlatego jako metodę analizy ilości przyłączonego uczulacza wybrałem metodę spektrofluorymetryczną. Wykazałem, że obecność MC540 w kieszeniach hydrofobowych wygasza fluorescencję pochodzącą od wspomnianych aminokwasów. Po 60 minutach kontaktu polimeru i fotouczulacza, nanocząstki albuminy charakteryzowały się o 25% mniejszą liczbą połączeń proteina-związek modelowy w porównaniu z naturalnym BSA. Wynika to najprawdopodobniej z braku dostępności do łańcuchów albuminy zamkniętych wewnątrz pojedynczej nanocząstki. Jednakże mimo mniejszej ilości MC540 przyłączonego do nanocząstek, kinetyka uwalniania fotouczulacza była zbliżona do profilu uzyskanego dla naturalnej albuminy. Potwierdziło to brak uszkodzeń polimeru mimo procesu agregacji i utrwalenia rozmiaru promieniowaniem jonizującym.

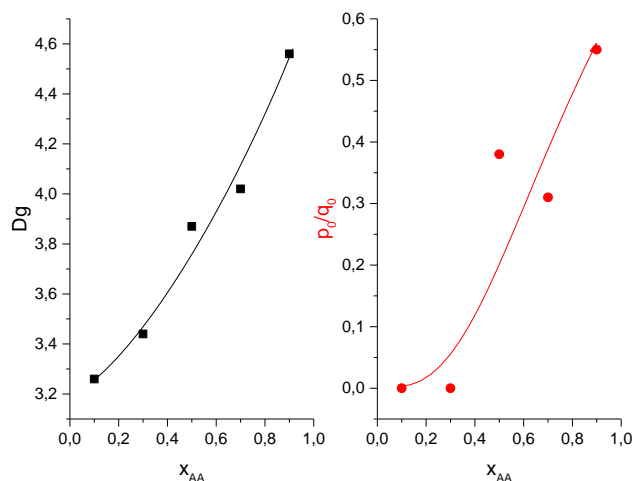
Podsumowanie prac nad syntezą nanożeli stanowi pozycja **H9**. Zebrałem w niej informacje dotyczące inicjowanej radiacyjnie syntezy nanożeli poli(N-winylo-2-pirolidonu) oraz znane z literatury sposoby ich praktycznego wykorzystania, głównie jako biomateriałów (Abd El-Rehim et al., 2013b; Chun et al., 2002; Dispenza et al., 2012, 2013, 2014). Oprócz metody polegającej na napromienianiu rozcieńczonych roztworów polimerów przedstawiłem także wyniki badań nad wewnątrzcząsteczkowym sieciowaniem PVP wykurczonym termicznie (An, 2010; An et al., 2011) czy zamkniętym w mikroemulsji (Bueno et al., 2009), a także tworzenie nanożeli z kompleksów międzypolimerowych z udziałem PVP (**H3**; Abd El-Rehim et al., 2013a, 2013b; Abd El-Rehim et al., 2007; Chun et al., 2002; Rainaldi et al., 2000). Przedstawione w literaturze wyniki badań porównałem z wynikami własnymi. Wykazałem, między innymi, wpływ stężenia polimeru na konkurencję pomiędzy sieciowaniem między- i wewnątrzcząsteczkowym, wpływającą na masę cząsteczkową i rozmiar nanożeli. Wskazałem także, metodą dynamicznego rozpraszania światła oraz mikroskopii sił atomowych, na wpływ promieniowania jonizującego na zmiany w architekturze kłębków.

Następnie, kontynuując badania procesu otrzymywania kompleksów międzypolimerowych (zapoczątkowane w **H3**), zająłem się ich stabilizacją na drodze sieciowania międzycząsteczkowego (**H10-H11**). Rozpocząłem tym jednocześnie cykl badań nad możliwością otrzymywania makroskopowych układów hydrożelowych czułych na bodźce zewnętrzne (**H10-H14**).

Makroskopowe hydrożele to układy intensywnie badane od ponad 60 lat (Kuhn et al., 1950; Katchalsky i Zwick, 1955; Wichterle i Lim, 1960). W tym czasie znalazły one szereg różnorodnych praktycznych zastosowań, z których na główną pozycję wysuwają się biomateriały takie jak soczewki kontaktowe, układy dostarczania leków, opatrunki itd. (Peppas, 1986; Rosiak, 1990; Hoffman, 2001; De Rossi et al., 1991). Grupą materiałów, które wyróżniają się wśród tych zastosowań, są układy czułe na czynniki zewnętrzne (Dusek, 1993; Langer, 1998; Gehrke, 1993; Bromberg i Ron, 1998; Tanaka, 2003). Są one zdolne reagować na takie bodźce jak pH, temperatura, siła jonowa, światło, pole elektryczne i magnetyczne oraz obecność wybranych związków chemicznych. Odpowiedzią na sygnał są zmiany konformacji segmentów polimeru powodujące znaczną zmianę objętości żelu mierzoną jako zmiana stopnia spęcznienia. Właściwości te powodują, że żele czułe na bodźce zewnętrzne są testowane w wielu potencjalnych zastosowaniach takich jak czujniki, siłowniki, zawory, sterowalne układy do transportu leków czy sztuczne mięśnie.

Celem badań zaprezentowanych w pracy **H10** było wskazanie warunków prowadzących do syntezy makroskopowych hydrożeli opartych na kompleksach międzypolimerowych, zbadanie podstawowych właściwości fizyko-chemicznych takich hydrożeli oraz próba ich wykorzystania jako czujnika wykrywającego obecność glukozy w otoczeniu. Jako polimery zdolne do tworzenia struktur nadcząsteczkowych, podobnie jak w **H3**, wybrałem poli(N-winylo-2-pirolidon) i poli(kwas akrylowy), natomiast do syntezy hydrożeli wybrałem metodę indukowanego radiacyjnie sieciowania międzycząsteczkowego. W tym celu przygotowałem stężone (1 mol/dm^3) wodne roztwory polimerów i ich mieszaniny różniące się ułamkiem molowym kwasu akrylowego (x_{AA}) wyrażonym jako stosunek stężeń PVP i PAA ($x_{AA} = \frac{[PAA]}{[PAA] + [PVP]}$). pH napromienionych roztworów wynosiło 4,5 i było zbliżone do pK_a kwasu karboksylowego. Zapobiegło to tworzeniu wiązań wodorowych (kompleksowaniu zachodzącemu w warunkach niskiego pH) przed otrzymaniem trójwymiarowej sieci polimerowej, a jednocześnie degradacji poli(kwasu akrylowego) gdy jest on napromieniany w roztworach o wysokim pH (Ulanski i Rosiak, 1994). Odtlenione wodne roztwory polimerów o różnym ułamku molowym kwasu karboksylowego poddałem działaniu przyspieszonych elektronów z akceleratora. Następnie metodą analizy żel-zol obliczyłem takie parametry powstawania sieci jak dawka żelowania (najniższa dawka promieniowania jonizującego potrzebna do powstania pierwszej porcji żelu) oraz p_0/q_0 (stosunek wydajności radiacyjnej degradacji do wydajności radiacyjnej sieciowania) (Olejniczak et al., 1991; Rosiak, 1998).

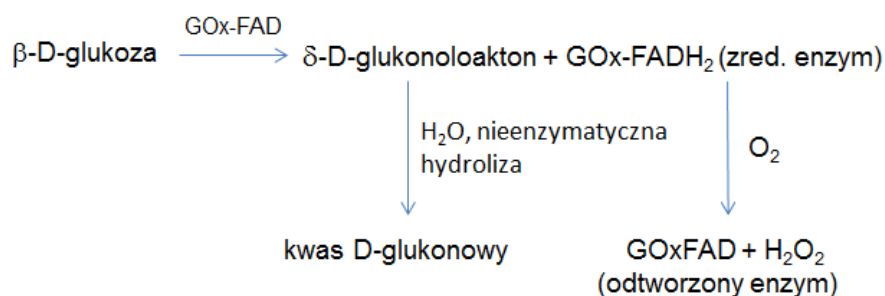
Wykazałem zależność dawki żelowania od ilości kwasu akrylowego. Im większa wartość ułamka molowego AA w mieszaninie polimerów, tym większa dawka potrzebna jest do uzyskania sieci polimerowej. Wynika to najprawdopodobniej z podatności poli(kwasu akrylowego) na indukowane radiacyjnie pękanie łańcucha. Potwierdzają to zmiany wartości parametru p_0/q_0 – im jest on wyższy tym większy udział reakcji degradacji w napromienianym układzie (*Rysunek 8*).



Rysunek 8. Dawka żelowania (D_g) i stosunek wydajności radiacyjnej degradacji do wydajności radiacyjnej sieciowania (p_0/q_0) w funkcji ułamka molowego kwasu akrylowego (x_{AA}) podczas indukowanej radiacyjnie syntezy makroskopowych hydrożeli z kompleksów międzypolimerowych poli(*N*-winylo-2-pirolidonu) i poli(kwasu akrylowego). Całkowite stężenie polimerów 1 mol/dm^3 , nasycony Ar roztwór napromieniono wiązką przyspieszonych elektronów z akceleratora: impuls $2 \mu\text{s}$, częstotliwość 20 Hz , średnia moc dawki 44 Gy/s .

Wykazałem, że wraz z rosnącą pochłoniętą przez układ dawką maleje równowagowy stopień spęcznienia. Wskazuje to na typowe dla tego rodzaju układów zmiany gęstości usieciowania żelu, wynikające ze zmniejszenia średniej odległości pomiędzy punktami sieciowania. Pokazałem także wpływ pH otoczenia na stopień spęcznienia hydrożeli. W zależności od ułamka molowego kwasu akrylowego w napromienianym układzie wraz z malejącą wartością pH otoczenia hydrożele PVP-PAA wykurczały się (malał ich równowagowy stopień spęcznienia) i stawały się coraz bardziej mętne. Zaobserwowane przejście fazowe jest bezpośrednio powiązane z powstawaniem kompleksów międzypolimerowych pomiędzy segmentami hydrożelu. Kompleksowanie jest procesem odwracalnym i zgodnie z wynikami badań przedstawionymi w **H3** zachodzi wyłącznie poniżej pewnego granicznego pH, w którym stopień dysocjacji grup karboksylowych jest na tyle niski, że możliwe jest utworzenie odpowiedniej ilości wiązań wodorowych (Iliopoulos i Audebert, 1991). Zjawisko to wykorzystałem do próby konstrukcji enzymatycznego sensora czułego na obecność w otoczeniu wybranego związku małowcząsteczkowego – glukozy. Układy tego typu mogą mieć duże znaczenie w terapii cukrzycy. Znane są z literatury próby opracowania takich produktów, opartych, między innymi, na kationowych hydrożelach z poli(metakrylanu dietyloaminoetylo-g-glikolu etylenowego) (Podual et al., 2000a, 2000b, 2000c; Traitel et al.,

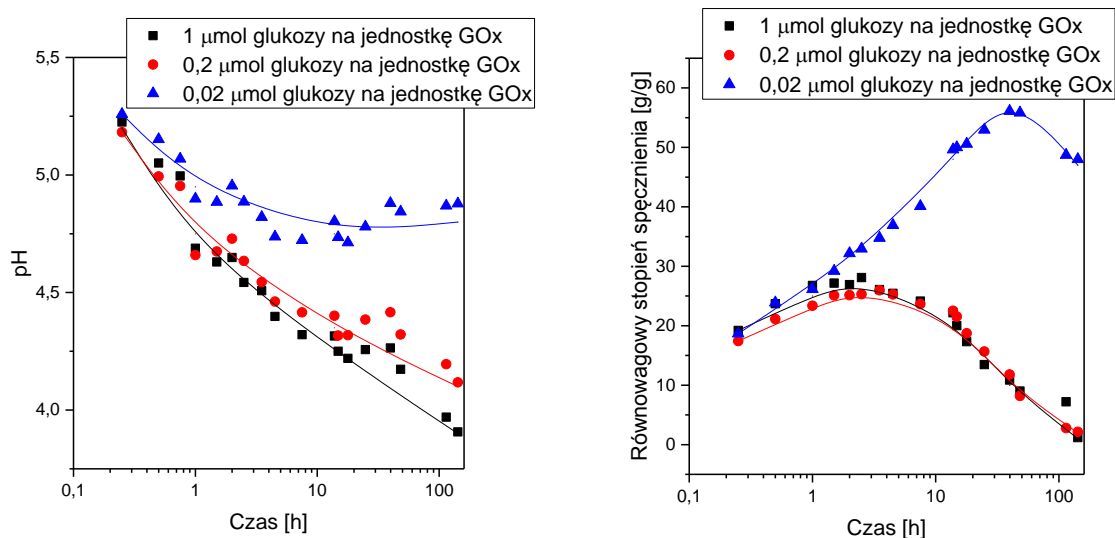
2000), w których, w obecności tlenu, oksydaza glukozowa konwertuje glukozę do kwasu glukonowego. Lokalnie obniża to pH, w wyniku czego wzrasta stopień spęcznienia hydrożeli uwalniając zamkniętą w nich insulinę.



Rysunek 9. Schemat utleniania glukozy do kwasu glukonowego w obecności oksydazy glukozowej [H11].

W zaproponowanym oryginalnym rozwiązaniu przygotowałem serię hydrożeli PVP-PAA z dodatkiem oksydazy glukozowej. Wykazałem, że mimo niekorzystnych dla enzymu warunków (promieniowanie jonizujące o dawce 10 kGy) w układzie pozostaje około 10% aktywnego enzymu. Następnie hydrożele umieściłem w medium zawierającym glukozę. Reakcja glukozy z oksydazą glukozową (Rysunek 9) spowodowała nie tylko obniżenie pH (Rysunek 10) ale także powstanie wiązań wodorowych pomiędzy grupami karboksylowymi poli(kwasu akrylowego) i grupami karbonylowymi poli(N-winylo-2-pirolidonu). Widocznym efektem takiej reakcji jest zmętnienie i wykurczenie (zmniejszenie równowagowego stopnia spęcznienia) hydrożeli (Rysunek 10).

Mimo zmniejszenia pH otoczenia, niezależnie od stosunku liczby moli glukozy do jednostek oksydazy glukozowej, w początkowym etapie żele umieszczone w medium chłoną wodę, w wyniku czego obserwuje się wzrost równowagowego stopnia spęcznienia. Po przekroczeniu granicznej wartości pH, charakterystycznej dla procesu tworzenia kompleksów międzypolimerowych, a jednocześnie po zaabsorbowaniu części rozpuszczalnika z otoczenia, zaobserwowano znaczne zmniejszenie stopnia spęcznienia. Efekt ten jest zależny od ilości glukozy w medium. Wskazuje to na możliwość wykorzystania tak przygotowanego układu opartego na hydrożelach PVP-PAA-GOx jako sensora glukozy.



Rysunek 10. *pH i równowagowy stopień spęcznienia hydrożeli PVP-PAA-GOx ($x_{AA}=0,5$, 10 kGy) w funkcji czasu kontaktu z roztworem glukozy. Stosunek ilości moli glukozy do jednostek enzymu podano na wykresie [H10].*

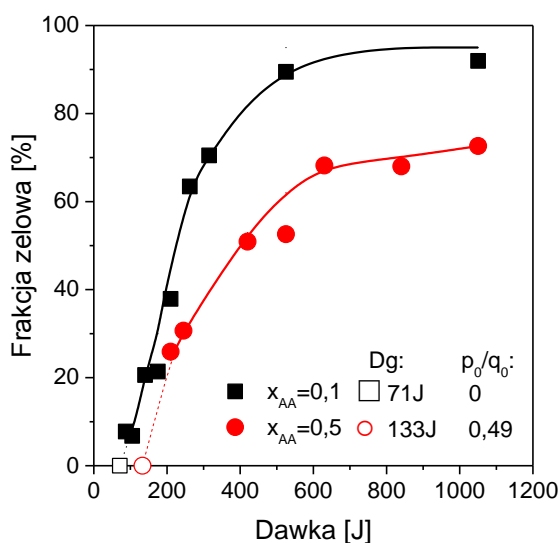
Rozwinięciem pracy **H10** była próba otrzymania makroskopowych hydrożeli z kompleksów polimerowych nowatorską metodą indukowanego światłem UV sieciowania międzycząsteczkowego (**H11**). Wcześniej światło z zakresu ultrafioletowego stosowano między innymi do kopolimeryzacji kwasu akrylowego i N-winylo-2-pirolidonu w obecności dimetakrylanu glikolu etylenowego jako środka sieciującego (Devine i Higginbotham, 2005), a także do szczepienia kwasu akrylowego na łańcuchach PVP (Yaung i Kwei, 1998). Ponadto Emami i współpracownicy opracowali metodę sieciowania poli(tlenku etylenu) w stanie stopionym wykorzystując termiczny rozkład nadtlenu jako źródła rodników (Emami i Salovey, 2003; Emami et al., 2003, 2002). PEO w stanie stałym poddany został sieciowaniu z udziałem benzo- i acetofenonu jako fotoinicjatorów przez Doytchevą i współpracowników (Doytcheva et al., 1997). Bezpośrednie naświetlanie roztworów poli(N-winylo-2-pirolidonu) światłem o długości fali 254 nm w celu syntezy hydrożeli tego polimeru zostało zaproponowane przez Lopergolo i współpracowników (Lopérgolo et al., 2003). Metoda ta okazała się jednak mało wydajna, dlatego w celu zwiększenia wydajności tworzenia makrorodników zaproponowano dodatek nadtlenu wodoru jako źródła rodników hydroksylowych, powstających w skutek fotolizy H_2O_2 (Fechine et al., 2004). Mechanizm tworzenia sieci polimerowej jest w tym przypadku analogiczny do metody radiacyjnej. Rodniki OH odrywają atomy wodoru z makrocząsteczek generując makrorodniki, które reagują ze sobą między innymi na drodze rekombinacji. W celu zwiększenia wydajności

rodników hydroksylowych podczas sieciowania PVP stosowano także reakcję Fentona (Barros et al., 2006). Należy jednak pamiętać, że ten typ reakcji nie może być wykorzystany do sieciowania wszystkich rodzajów polimerów, np. poli(kwasu akrylowego) z powodu jego wytrącenia w obecności jonów Fe^{2+} .

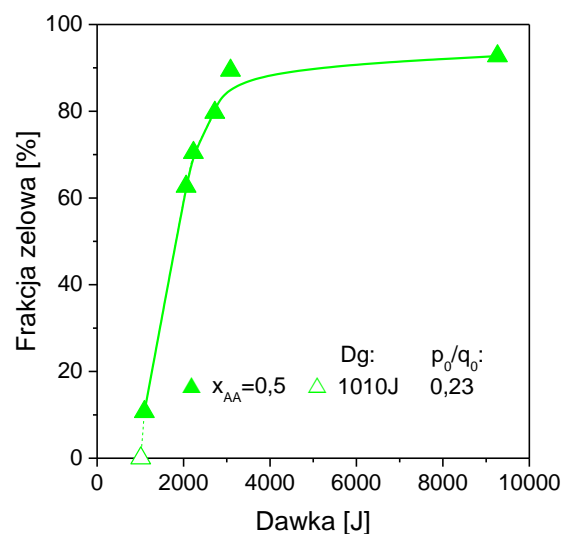
W pracy **H11** po raz pierwszy do sieciowania układów opartych na kompleksach międzypolimerowych PVP-PAA wykorzystałem światło o dwóch zakresach długości fal: (a) 200-700 nm (pełne widmo UV-vis lampy Hg), (b) 300-700 nm (bliski UV-vis). W pierwszym etapie badań określiłem wpływ stężenia poli(kwasu akrylowego) na możliwość otrzymania sieci polimerowej z użyciem pełnego widma lampy rtęciowej. Na *Rysunku 11* przedstawiłem zmiany w ilości frakcji żelowej w funkcji energii światła UV, dostarczonej do wodnego roztworu mieszaniny poli(N-winylo-2-pirolidonu) i poli(kwasu akrylowego). Niezależnie od wartości x_{AA} ilość ta wzrasta wraz z rosnącą dawką, osiągając odpowiednio 70 i 90% dla x_{AA} 0,1 i 0,5. Podobnie jak w przypadku sieciowania inicjowanego strumieniem elektronów wykazałem, że wraz z rosnącym ułamkiem molowym kwasu akrylowego wzrasta ilość energii niezbędnej do powstania hydrożelu.

Oryginalnym i nowatorskim rozwiązaniem było wykorzystanie światła z zakresu bliskiego UV-vis (300-700 nm). Mimo znacznie niższej mocy dawki ($17,87 \text{ mW/cm}^2$) a przede wszystkim usunięcia najbardziej energetycznego pasma o długości fali 254 nm, używanego we wszystkich dotąd znanych rozwiązaniach, udało się otrzymać trwały żel. Dla mieszaniny polimerów o ułamku molowym kwasu akrylowego $x_{AA} = 0,5$ dawka żelowania i współczynnik p_0/q_0 wynosiły odpowiednio 1010 J i 0,23. Efektywna wydajność sieciowania była około 7 razy niższa dla zakresu bliskiego UV-vis w porównaniu do pełnego zakresu światła. Zaobserwowany efekt żelowania spowodowany był częściowym nakładaniem się widma absorpcyjnego nadtlenu wodoru oraz użytego światła. Zaletą stosowania światła o długości fali powyżej 300 nm jest mniejszy udział reakcji degradacji. Różnica w wartościach stosunku p_0/q_0 pomiędzy oboma sposobami naświetlania (większy dla pełnego zakresu długości fal) wskazująca na zwiększoną liczbę pęknięć łańcucha wynika najprawdopodobniej z bezpośredniej absorpcji światła UV przez makrocząsteczki.

(A)

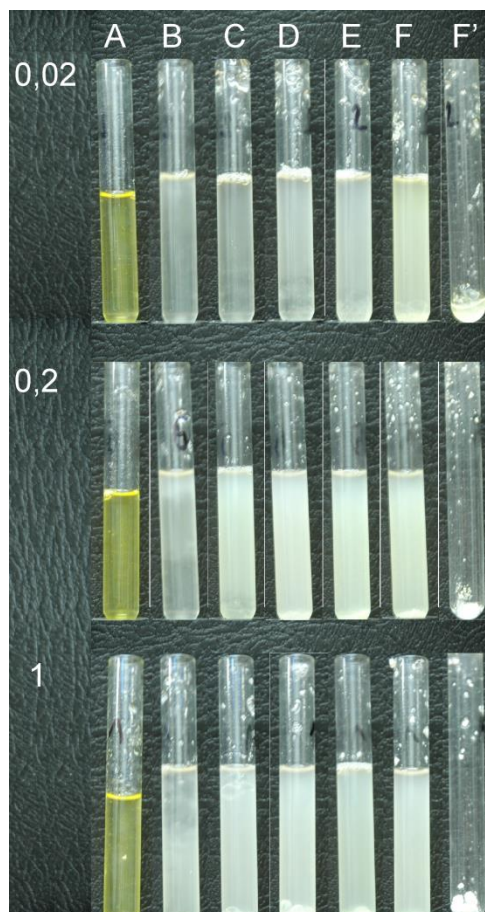


(B)



Rysunek 11. Frakcja żelowa w funkcji dawki promieniowania: (a) UV-vis (pełne widmo 200-700 nm), (b) bliskie UV-vis (300-700 nm) podczas syntezy makroskopowych hydrożeli z kompleksów międzypolimerowych poli(*N*-winylopirolidonu) i poli(kwasu akrylowego). Całkowite stężenie polimerów 1 mol/dm^3 , roztwór nasycony N_2 , moc dawki: (a) $58,35 \text{ mW/cm}^2$, (b) $17,87 \text{ mW/cm}^2$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 100 \text{ mol/dm}^3$. Dane dotyczące wartości dawki żelowania (puste symbole) oraz p_0/q_0 podano na wykresach [H11].

Podobnie jak dla żeli otrzymanych metodą radiacyjną, zbadałem możliwość ich wykorzystania jako sensorów glukozy. W ramach pracy H10 wykazałem, że układy PVP-PAA-GOx są czułe na obecność tego związku, jednakże czas odpowiedzi (wykurczenia i zmętnienia) sięgał co najmniej godziny. Dlatego zaproponowałem modyfikację metody polegającą na przygotowaniu mieszaniny PVP-PAA o ułamku molowym kwasu akrylowego równym 0,5, naświetleniu dawką 385 J, spęcznieniu w wodzie w celu usunięcia nieprzereagowanych substratów, wysuszeniu metodą liofilizacji i ponownym spęcznieniu w roztworze zawierającym oksydazę glukozową. Zapewnia to kontrolę nad ilością wprowadzonego enzymu oraz brak strat w jego aktywności. W takich warunkach czas niezbędny do zaobserwowania wyraźnej różnicy stopnia spęcznienia i transparentności próbki w obecności glukozy (o takim samym stosunku moli glukozy do jednostek enzymu) jest rzędu minut (Rysunek 12).

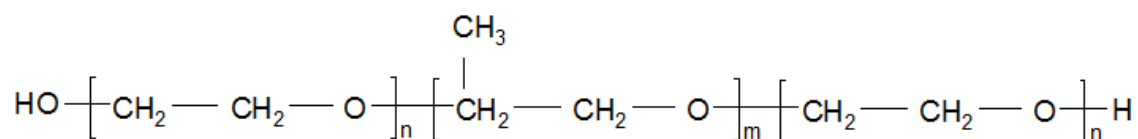


Rysunek 12. Zmiany w wyglądzie hydrożeli PVP-PAA spęcznionych w roztworze z dodatkiem oksydazy glukozowej w obecności glukozy w funkcji czasu: (A) 0 min – spęczniony, w pełni transparentny żel, (B) 5 min – początek separacji fazowej, (C) 10 min, (D) 15 min, (E) 20 min – wytrącony żel, (F) 30 min, (F') 30 min – wytrącony żel po usunięciu nadmiaru rozpuszczalnika. Stosunek ilości mikromoli glukozy do jednostek oksydazy glukozowej podano na Rysunku.

Zaproponowany w **H10** i **H11** układ, mimo znanych sposobów bazujących na oksydazie glukozowej (Goldraich i Kost, 1993; Ito et al., 1989; Kang i Bae, 2003; Podual, 2000), jest jedynym rozwiązaniem wykorzystującym czule na bodźce hydrożele oparte na poli(N-winylo-2-pirolidonie) i poli(kwasie akrylowym), zdolne do odwracalnego tworzenia wiązań wodorowych, czyli kompleksów międzypolimerowych. Łatwość otrzymywania, szybkość reakcji oraz wysoka czułość wskazują na celowość podjęcia dalszych prac nad tego typu układem do zastosowań między innymi w medycynie.

Intensywnie badaną grupą układów czułych na bodźce zewnętrzne są hydrożele wrażliwe na zmiany temperatury. Przykładem polimerów najczęściej używanych do ich syntezy, w tym także radiacyjnej (**H1**; Arndt et al., 2001; Janik et al., 2003; Moerkerke et al., 1998; Janik

et al., 2000), są poli(N-izopropylakryloamid) (PNIPAM) (Dusek, 1993; Gehrke, 1993; Pelton, 2000; Soppimath et al., 2002; Zhang et al., 2001), pochodne celulozy (Gehrke, 1993; Harsh i Gehrke, 1991; Hirsch i Spontak, 2002; Marsano et al., 2003) oraz część polieterów, w tym poli(eter winylowo-metylowy) (Ichijo et al., 1995; Kishi et al., 1993; Maeda, 1994; Meeussen et al., 2000). Celem pracy **H12** było poszerzenie palety materiałów termoczulych o hydrożele oparte na Pluronic[®] - syntetycznym tri-blokowym kopolimerze zbudowanym z hydrofobowego bloku poli(tlenku propylenu), otoczonego hydrofilowymi blokami poli(tlenku etylenu) (**V**).



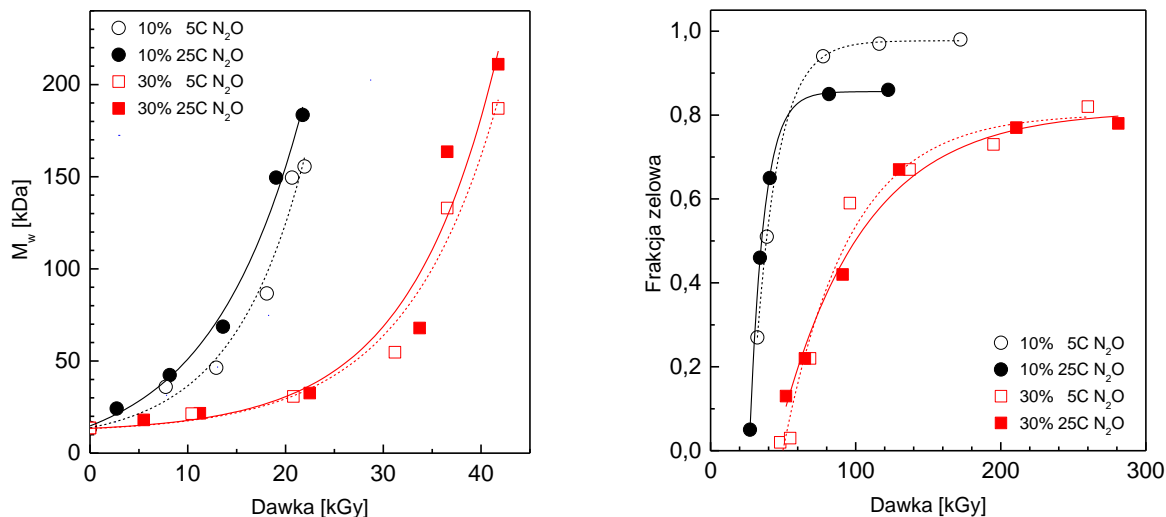
V

Polimer ten ze względu na amfifilowe właściwości; w zależności od stężenia i temperatury występuje w roztworze wodnym w postaci pojedynczych łańcuchów, miceli lub żelu fizycznego. Zademonstrowałem możliwość otrzymania trwałych hydrożeli Pluronicu F127, w których łańcuchy połączone byłyby ze sobą wiązaniami kowalencyjnymi poprzez napromieniowanie wodnych, odtlenionych roztworów tego polimeru. Wyzaczyłem parametry prowadzenia tego procesu, między innymi wydajności radiacyjne reakcji sieciowania, w zależności od stężenia polimeru i temperatury otoczenia. Określiłem także stabilność termiczną zarówno polimeru jak i jego hydrożelu.

Na *Rysunku 13* przedstawiłem zmiany wagowo-średniej masy cząsteczkowej podczas napromieniania wiązką elektronów wodnych, nasyconych N₂O, roztworów Pluronicu F127 o różnym stężeniu i w różnych temperaturach. Wykazałem wyraźną różnicę szybkości i amplitudy zmian masy cząsteczkowej polimeru w funkcji dawki pomiędzy roztworami o stężeniu 10 i 30%. Różnica taka jest w pełni zrozumiała, ponieważ w celu zwiększenia masy cząsteczkowej o określony czynnik, większa liczba łańcuchów (10 i 30%) wymaga wygenerowania na nich większej liczby rodników, co oznacza, że do napromienianego układu (masy) musi być dostarczona wyższa dawka.

Zmiany M_w przed punktem żelowania pozwoliły także wyznaczyć wydajność radiacyjną sieciowania międzycząsteczkowego (G_x) (*Tabela 1*). Wartość tą, podobnie jak wydajność radiacyjną degradacji, dawki żelowania i stosunki p₀/q₀, wyznaczyłem także na podstawie

zmian ilości frakcji żelowej dla dawek zapewniających powstanie żelu (Rysunek 13, Tabela 1).



Rysunek 13. Wagowo-średnia masa cząsteczkowa i frakcja żelowa w funkcji dawki podczas napromieniania wodnych, nasyconych N_2O roztworów Pluronicu F127 w temperaturze 5 i 25 °C. Stężenie polimeru 10 i 30 % [H12].

Tabela 1. Parametry procesu radiacyjnego sieciowania wodnych, nasyconych N_2O roztworów Pluronicu F127 w temperaturze 5 i 25 °C. Stężenie polimeru 10 i 30 %. Wartości wydajności podano w 10^{-7} mol/J. Średni błąd rzędu $\pm 15\%$ [H12].

	10 %, N_2O		30 %, N_2O	
	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C
D_g [kGy]	29,6	26,8	49,9	45,9
p_0 / q_0	0	0,34	0,23	0,25
$4G_x - G_s$ na podstawie $M_w=f(D)$	6,12	6,24	9,76	9,88
$4G_x - G_s$ na podstawie D_g	4,97	5,48	8,84	9,60
G_x	1,39	1,77	2,63	2,78
G_s	0	1,20	1,21	1,39

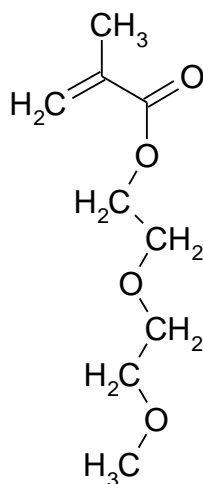
Wykazałem, że zmierzone wartości wydajności radiacyjnej sieciowania (G_x), dla roztworu o stężeniu 30%, są zbliżone do maksymalnej wartości teoretycznej ($3,1 \times 10^{-7}$ mol/J)

odpowiadającej wydajności rodników $\cdot\text{OH}$ ($6,2 \times 10^{-7}$ mol/J). Wskazuje to, że niemal wszystkie wygenerowane rodniki hydroksylowe przereagowały z polimerem, czego można się spodziewać przy tak wysokich stężeniach. Niższe wartości G_x dla roztworu o stężeniu 10% wynikać mogą z większego prawdopodobieństwa rekombinacji rodników $\cdot\text{OH}$ ($2k = 1,1 \times 10^{10}$ dm³/mol s (Buxton et al., 1988)) w roztworach polimerów o niskich stężeniach oraz z dominującego w takich warunkach sieciowania wewnątrzcząsteczkowego (**H4, H9**).

Interesującą obserwacją dla 10%-ego roztworu napromienianego w temperaturze 5 °C była zerowa wartość stosunku p_0/q_0 . Reakcja pęknięcia łańcucha nie zmienia ilości rodników obecnych w napromienionym układzie, dlatego też nie wpływa wprost na kinetykę i wydajność rekombinacji. Wydajność degradacji jest jednak kontrolowana przez szybkość rekombinacji. Jeśli rekombinacja przebiega w czasie krótszym niż czas połowkowy pierwszorzędowej reakcji degradacji, nie należy spodziewać się zbytniego zmniejszenia mas cząsteczkowych. I odwrotnie: jeśli przebiega ona wolno, efekty pęknięcia łańcucha będą bardziej wyraźne. W przypadku Pluronicu degradacji nie obserwuje się wyłącznie wtedy, gdy polimer występuje w roztworze w postaci pojedynczych łańcuchów. Ruchliwość (cząsteczkowa i segmentalna) w takich warunkach (10%, 5 °C) jest wyraźnie wyższa niż dla złożonych struktur micelarnych, czyli pozostałych badanych układów. Ograniczona ruchliwość spowalnia rekombinację, która wymaga zbliżenia dwóch makrorodników, promuje zatem degradację. W porównaniu z roztworem o stężeniu 10%, gdzie zmiana temperatury, w jakiej jest on napromieniany, powoduje zmiany wydajności radiacyjnych sieciowania i degradacji, nie zaobserwowano takiej zależności dla roztworu 30%. Wskazuje to na brak wpływu uporządkowania (tworzenia żelu fizycznego) na proces sieciowania.

W ramach pracy zbadałem także wybrane właściwości hydrożeli Pluronicu F127 w funkcji zaabsorbowanej przez układ dawki. Zgodnie z oczekiwaniami, rosnąca gęstość sieciowania ogranicza zdolność żeli do pęcznienia. Nie zaobserwowałem natomiast wpływu temperatury napromieniania na stopień spęcznienia. Dla wszystkich badanych układów określiłem dolny limit równowagowego stopnia spęcznienia wynoszący około 10-15 g/g. Wynika on najprawdopodobniej z tworzenia, przy najwyższych użytych dawkach, względnie sztywnych struktur o zmniejszonej ruchliwości segmentalnej, ograniczającej możliwość tworzenia dodatkowych wiązań poprzecznych. W takich warunkach równowaga pomiędzy sieciowaniem a degradacją może przesunąć się na korzyść pęknięcia łańcucha, nawet w warunkach, w których pierwotnie dominowała rekombinacja. Wykazano także, że stopień

spęczenia hydrożeli Pluronicu zależy silnie od temperatury otoczenia w sposób typowy dla żeli czułych na bodźce zewnętrzne (Dusek, 1993; Pelton, 2000).



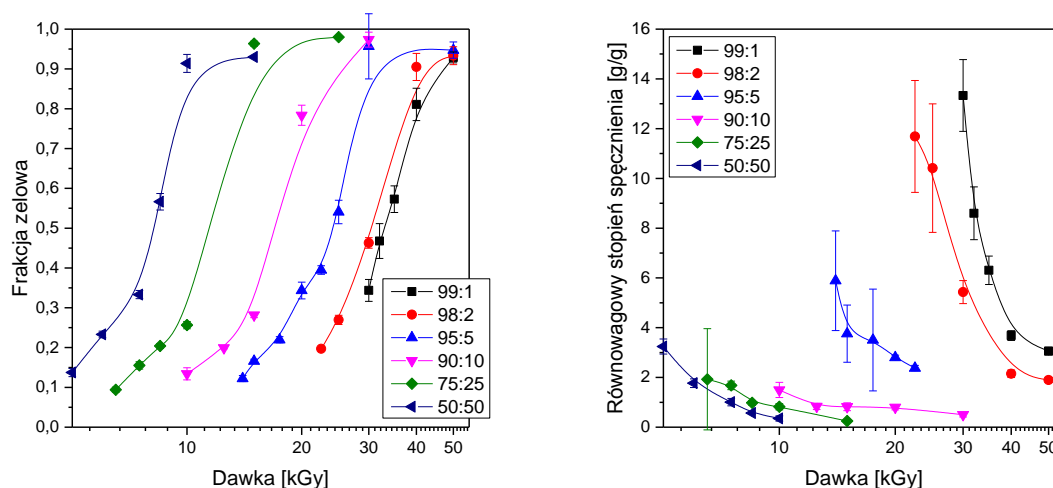
VI

Kontynuując badania nad możliwością syntezy hydrożeli czułych na zmiany temperatury rozpocząłem pracę nad układami opartymi na metakrylanie 2-(2-metoksyetoksy)etylu (MEO₂MA) (VI) [H13 i H14]. Materiały takie stanowią alternatywę dla powszechnie stosowanych hydrożeli z PNIPAM, ze względu na łatwość sterowania ich niższą krytyczną temperaturą rozpuszczalności (LCST) (Dong i Matyjaszewski, 2010; Lutz i Hoth, 2006), wysoką biokompatybilność/niską toksyczność (Tang et al., 2011), dostępność substratów (Lutz et al., 2007, 2006) oraz łatwość otrzymywania na drodze polimeryzacji anionowej (Ishizone et al., 2008) i rodnikowej z przeniesieniem atomu (Yoon et al., 2011a, 2011b, 2010). Celem prac H13 i H14 było opracowanie metody syntezy hydrożeli z MEO₂MA na drodze indukowanej radiacyjnie polimeryzacji i sieciowania oraz zbadanie ich podstawowych właściwości fizyko-chemicznych. Oprócz monomeru do syntezy hydrożeli wykorzystałem także dimetakrylan glikolu etylenowego (EGDMA) jako środek sieciujący. Nieodtlenione mieszaniny MEO₂MA i EGDMA o różnych stosunkach molowych poddałem napromieniowaniu wiązką przyspieszonych elektronów z akceleratora, a następnie przeprowadziłem analizę zolowo-żelową. Ilość frakcji żelowej i równowagowego stopnia spęczenia w funkcji pochłoniętej dawki przedstawiłem na *Rysunku 14*.

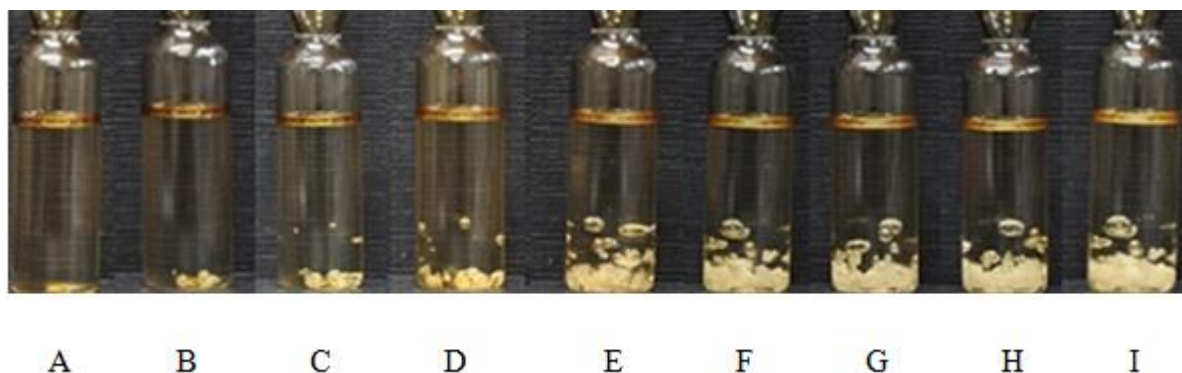
Niezależnie od składu kompozycji ilość frakcji żelowej wzrasta wraz z pochłoniętą przez układ dawką osiągając wartości rzędu 95%. Wraz z rosnącym udziałem EGDMA profile frakcja żelowa = f(dawka) przesuwają się w stronę niższych dawek: im większe stężenie

środka sieciującego tym niższa dawka jest potrzebna do otrzymania pierwszej porcji żelu. Dodatek środka sieciującego (choćby w najmniejszej ilości) obniża także wartość współczynnika p_0/q_0 do 0 (dla układu bez EGDMA wynosi on 0,44). Wskazuje to na znikomy wpływ reakcji pęknięcia łańcucha na mechanizm tworzenia hydrożeli na bazie mieszaniny MEO₂MA-EGDMA. Obecność dimetakrylanu glikolu etylenowego ogranicza zakres zmian stopnia spęcznienia w funkcji dawki. Rosnące stężenie środka sieciującego w mieszaninie substratów skutkuje otrzymaniem żelu o większej gęstości usieciowania, to jest mniejszej zawartości rozpuszczalnika.

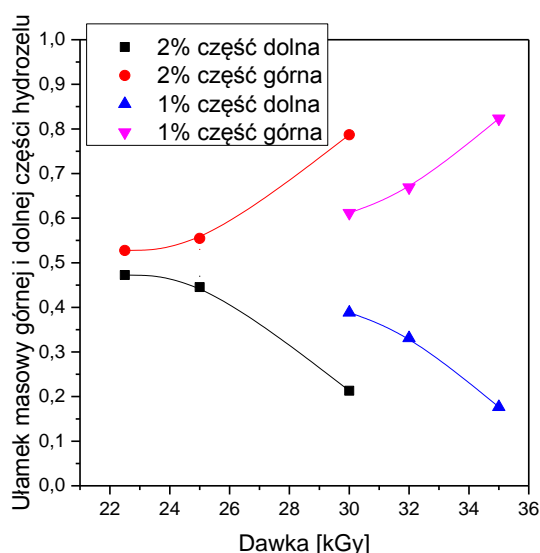
Dodatkową obserwacją poczynioną w trakcie syntezy hydrożeli była separacja fazowa występująca w ciągu 24 godzin po napromieniowaniu mieszanin o zawartości EGDMA równej bądź mniejszej od 5% (Rysunek 15).



Rysunek 14. Frakcja żelowa i równowagowy stopień spęcznienia w funkcji dawki promieniowania jonizującego (wiązka elektronów z akceleratora, impuls 4 μ s, częstotliwość 20 Hz, średnia moc dawki 100 Gy/s) podczas syntezy hydrożeli z nieodtlenionych mieszanin MEO₂MA-EGDMA (stosunki molowe składników podano na Rysunku) [H13].



Rysunek 15. Zmiana w funkcji czasu wyglądu nieodtlenionej mieszaniny MEO₂MA-EGDMA po napromieniowaniu wiązką elektronów z akceleratora (impuls 4 μ s, częstotliwość 20 Hz, średnia moc dawki 100 Gy/s): A = 0 godzin, B = 2 godziny, C = 3 godziny, D = 4 godziny, E = 7 godzin, F = 9 godzin, G = 10 godzin, H = 22 godziny, I = 24 godziny.



Rysunek 16. Ułamek masowy górnej i dolnej części hydrożeli MEO₂MA-EGDMA w funkcji dawki użytej do ich syntezy (wiązka elektronów z akceleratora, impuls 4 μ s, częstotliwość 20 Hz, średnia moc dawki 100 Gy/s). Stężenie EGDMA w nieodtlenionej mieszaninie monomerów podano na Rysunku [H13].

Wykazałem, że maksymalnym stosunkiem ilości fazy mętnej (dolnej, heterogenicznej części próbki) do transparentnej (górna, homogeniczna część próbki) można sterować ilością pochłoniętej energii i stężeniem środka sieciującego (Rysunek 16). Analizując odmiennosć obu frakcji stwierdziłem [H14], że różnią się one wyraźnie:

- a) strukturą mikroskopową

Homogeniczna i gładka warstwa górna na zdjęciach wykonanych techniką skaningowej mikroskopii elektronowej znacznie różni się od heterogenicznej dolnej części żelu.

b) gęstością sieciowania

Wykazałem, że równowagowy stopień spęcznienia jest około 8-krotnie większy dla warstwy górnej. Wyniki badań grawimetrycznych potwierdziłem analizą widm ramanowskich w zakresie liczb falowych charakterystycznych dla rozciągających drgań O-H wody wypełniającej wolne przestrzenie sieci polimerowej oraz C-H pochodzących od węgli znajdujących się na łańcuchu. Stosunek intensywności tych drgań (uznawany za miarę gęstości usieciowania (Maeda et al., 2007)) dla dolnej części żelu przesuwają się na korzyść drgań C-H. Informacji o różnicy gęstości usieciowania pomiędzy górną i dolną częścią hydrożelu dostarczyły także wyniki badań protonowego magnetycznego rezonansu jądrowego. Analiza składowych widma ^1H NMR wskazała na obecność mobilnych, wolnych, bocznych łańcuchów w górnej części napromienionej próbki, w porównaniu z łańcuchami unieruchomionymi w części dolnej. W połączeniu z otrzymanym obrazem mikroskopowym wskazuje to na wyraźną różnicę w gęstości usieciowania pomiędzy różnymi częściami hydrożelu.

c) kątem zwilżania

Wartości wyznaczone dla górnej i dolnej warstwy wynoszą odpowiednio 68 i 99 stopni. Tak znaczna różnica ewidentnie wskazuje na hydrofilowy i hydrofobowy charakter obu części hydrożelu. Potwierdza to przypuszczenia o różnicy gęstości usieciowania obu frakcji.

Jednocześnie przeprowadzona analiza widm ramanowskich w szerokim zakresie liczb falowych nie wykazała różnic w składzie (intensywności drgań grup funkcyjnych pochodzących od MEO₂MA i EGDMA) obu frakcji. Różnic w budowie chemicznej nie zaobserwowano także na podstawie widm ^{13}C NMR.

Wykazałem, że otrzymany materiał reprezentuje cechy układu gradientowego. Zgodnie z definicją za materiały gradientowe uważa się układy posiadające czasoprzestrzenną zmianę co najmniej jednej właściwości fizykochemicznej (Genzer i Bhat, 2008). W hydrożelach charakteryzujących się gradientem właściwości fizycznej lub chemicznej, jej zmiana następuje w obrębie całej sieci polimerowej. Przykładem może być szereg warstw niemieszających się polimerów, których właściwości zmieniają się stopniowo od środka próbki lub z jednej powierzchni do drugiej (Karabanova et al., 2012). W przedstawionym przypadku (hydrożele MEO₂MA z maksimum 5% udziałem EGDMA) mamy do czynienia

z rozkładem gęstości usieciowania pomiędzy warstwami górną i dolną. W pracach **H13** i **H14** przedstawiłem zatem indukowany radiacyjnie sposób otrzymywania hydrożeli o fizycznym gradiencie gęstości usieciowania. Należy zaznaczyć, że obserwacji takich nie dokonano dotąd dla żadnej innej znanej metody otrzymywania hydrożeli metakrylanu 2-(2-metoksyetoksy)etylu oraz w ogóle dla hydrożeli otrzymywanych metodą radiacyjną.

Podsumowanie:

Prezentowane wyniki badań stanowią istotny wkład w dziedzinę nauk chemicznych rozwijając wiedzę na temat oddziaływania promieniowania jonizującego z materia, a w szczególności z układami polimerowymi, wynikiem czego opracowane zostały nowe metody otrzymywania nano-, mikro- i makroskopowych hydrożeli polimerowych o kontrolowanych właściwościach fizyko-chemicznych, które mogą znaleźć zastosowanie np. w farmacji, jako aktywne nośniki leków czy materiały czułe na bodźce zewnętrzne.

Do głównych osiągnięć zaliczam:

- a) Opracowanie sposobu syntezy termoczulych nanożeli z poli(eteru winylo-metylowego), w tym: wskazanie wpływu stężenia i wyjściowej średniej masy cząsteczkowej polimeru na konkurencję pomiędzy sieciowaniem między- i wewnątrzcząsteczkowym oraz zależności temperatury odpowiedzialnej za separację fazową od gęstości usieciowania [**H1**].
- b) Wyjaśnienie mechanizmu tworzenia kompleksów międzypolimerowych poli(N-winylo-2-pirolidonu) i poli(kwasu akrylowego) i ich agregatów. Określenie wpływu masy cząsteczkowej polimerów biorących udział w tworzeniu kompleksów międzypolimerowych na strukturę otrzymanych połączeń oraz ich stabilność. Opracowanie sposobu indukowanej radiacyjnie stabilizacji (syntezy nanożeli) kompleksów międzypolimerowych poli(N-winylo-2-pirolidonu) i poli(kwasu akrylowego), w tym wykazanie wpływu dawki promieniowania jonizującego i wyjściowego składu kompleksów międzypolimerowych na zmianę średniej masy cząsteczkowej i wymiarów oraz gęstości usieciowania nanożeli PVP-PAA [**H2-H3**].
- c) Zaproponowanie i sprawdzenie nowej metody syntezy nanożeli polimerowych, umożliwiającej otrzymywanie wewnętrznie usieciowanych struktur o dowolnym ciężarze cząsteczkowym, a równocześnie o zakładanym promieniu bezwładności [**H4**].

- d) Wyjaśnienie najważniejszych przyczyn (m. in. rozkład odległości między rodnikami) nieklasycznego charakteru kinetyki sieciowania wewnątrzcząsteczkowego, w tym potwierdzenie badaniami doświadczalnymi słuszności wniosków wynikających z przeprowadzonych symulacji komputerowych [H5].
- e) Opracowanie sposobu otrzymywania nanocząstek z polimerów naturalnych na przykładzie albuminy i papainy oraz wyjaśnienie mechanizmu ich sieciowania [H6-8].
- f) Wykazanie wpływu stężenia polimeru na konkurencję pomiędzy sieciowaniem między- i wewnątrzcząsteczkowym, wpływającą z kolei na masę cząsteczkową, rozmiar i zmiany architektury nanożeli poli(N-winylo-2-pirolidonu) [H9].
- g) Opracowanie indukowanej radiacyjnie a także światłem UV-vis (pełen zakres oraz bliski UV-vis) metody otrzymywania czułych na pH makroskopowych hydrożeli z kompleksów międzypolimerowych poli(N-winylo-2-pirolidonu) i poli(kwasu akrylowego) oraz próba ich wykorzystania jako enzymatycznych (opartych na oksydazie glukozowej) czujników glukozy [H10-11].
- h) Charakterystykę makroskopowych hydrożeli Pluronicu F127 otrzymanych metodą radiacyjną, w tym wyznaczenie takich parametrów tworzenia sieci polimerowej jak dawka żelowania, wydajność radiacyjna sieciowania, wydajność radiacyjna degradacji oraz ich stosunek p_0/q_0 w funkcji stężenia polimeru i temperatury prowadzenia procesu syntezy [H12].
- i) Opracowanie indukowanej radiacyjnie metody syntezy termoczułych hydrożeli metakrylanu 2-(2-metoksyetoksy)etylu z gradientem gęstości usieciowania oraz ich charakterystyka [H13-H14].

Literatura cytowana z wykluczeniem prac będących podstawą przewodu habilitacyjnego:

Abd El-Rehim, H.A., Hegazy, E.A., Khalil, F.H., Hamed, N.A., 2007. Radiation preparation of drug carriers based polyacrylic acid (PAAc) using poly(vinyl pyrrolidone) (PVP) as a template polymer 254, 105–112.

Abd El-Rehim, H.A., Hegazy, E.S.A., Hamed, A.A., Swilem, A.E., 2013a. Controlling the size and swellability of stimuli-responsive polyvinylpyrrolidone-poly(acrylic acid) nanogels synthesized by gamma radiation-induced template polymerization 49, 601–612.

Abd El-Rehim, H.A., Swilem, A.E., Klingner, A., Hegazy, E.S.A., Hamed, A.A., 2013b. Developing the potential ophthalmic applications of pilocarpine entrapped into polyvinylpyrrolidone-poly(acrylic acid) nanogel dispersions prepared by γ radiation 14, 688–698.

Alemán, J. V., Chadwick, A. V., He, J., Hess, M., Horie, K., Jones, R.G., Kratochvíl, P., Meisel, I., Mita, I., Moad, G., Penczek, S., Stepto, R.F.T., 2007. Definitions of terms relating to the structure and processing of sols, gels, networks, and inorganic-organic hybrid materials (IUPAC Recommendations 2007). Pure Appl. Chem. 79, 1801–1829.

An, J.-C., 2010. Synthesis of the combined inter- and intra-crosslinked nanohydrogels by e-beam ionizing

- radiation, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 16 656-661.
- An, J.-C., Weaver, A., Kim, B., Barkatt, A., Poster, D., Vreeland, W.N., Silverman, J., Al-Sheikhly, M., 2011. Radiation-induced synthesis of poly(vinylpyrrolidone) nanogel. *Polymer (Guildf)*. 52, 5746–5755.
- Arndt, K.-F., Schmidt, T., Menge, H., 2001. Poly (vinyl methyl ether) hydrogel formed by high energy irradiation. *Macromol. Symp.* 164, 313–322.
- Arndt, K.-F., Schmidt, T., Reichelt, R., 2001. Thermo-sensitive poly(methyl vinyl ether) micro-gel formed by high energy radiation. *Polymer (Guildf)*. 42, 6785–6791.
- Baker, W.O., 1949. Microgel, A new macromolecule. *Ind. Eng. Chem.* 41, 511–520.
- Banerjee, M., Pal, U., Subudhi, A., Chakrabarti, A., Basu, S., 2012. Interaction of Merocyanine 540 with serum albumins: Photophysical and binding studies 108, 23–33.
- Barros, J.A.G., Fachine, G.J.M., Alcantara, M.R., Catalani, L.H., 2006. Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogels produced by Fenton reaction. *Polymer (Guildf)*. 47, 8414–8419.
- Borodin, O., Bedrov, D., Smith, G.D., 2001. A molecular dynamics simulation study of polymer dynamics in aqueous poly(ethylene oxide) solutions. *Macromolecules* 34, 5687–5693.
- Brasch, U., Burchard, W., 1996. Preparation and solution properties of microhydrogels from poly(vinyl alcohol). *Macromol. Chem. Phys.* 197, 223–235.
- Bromberg, L.E., Ron, E.S., 1998. Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 31, 197–221.
- Bueno, V.B., Cuccovia, I.M., Chaimovich, H., Catalani, L.H., 2009. PVP superabsorbent nanogels. *Colloid Polym. Sci.* 287, 705–713.
- Burchard, W., 1999. Solution properties of branched macromolecules. *Adv. Polym. Sci.* 143, 113–194.
- Buxton, G. V., Greenstock, C.L., Helman, W.P., Ross, A.B., 1988. Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}/\cdot\text{O}^-$) in aqueous solution 17, 513–886.
- Bywater, S., 1979. *Physical Chemistry*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 89–116.
- Chun, M.-K., Cho, C.-S., Choi, H.-K., 2002. Mucoadhesive drug carrier based on interpolymer complex of poly(vinyl pyrrolidone) and poly(acrylic acid) prepared by template polymerization. *J. Control. Release* 81, 327–334.
- Cortes, J., Saura, C., 2010. Nanoparticle albumin-bound (nabTM)-paclitaxel: improving efficacy and tolerability by targeted drug delivery in metastatic breast cancer. *Eur. J. Cancer Suppl.* 8, 1–10.
- De Rossi, D., Kajiwarra, K., Osada, Y., Yamauchi, A., 1991. *Polymer Gels. Fundamentals and Biomedical Applications*. Plenum Press, New York.
- Desai, N., 2007. Nanoparticle albumin bound (nab) technology: targeting tumors through the endothelial gp60 receptor and SPARC. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* 3.
- Devine, D.M., Higginbotham, C.L., 2005. Synthesis and characterisation of chemically crosslinked N-vinyl pyrrolidinone (NVP) based hydrogels 41, 1272–1279.
- Dispenza, C., Adamo, G., Sabatino, M.A., Grimaldi, N., Bulone, D., Bondi, M.L., Rigogliuso, S., Gherzi, G., 2014. Oligonucleotides-decorated-poly(N-vinyl pyrrolidone) nanogels for gene delivery. *J. Appl. Polym. Sci.* 131, 39774.
- Dispenza, C., Rigogliuso, S., Grimaldi, N., Sabatino, M.A., Bulone, D., Bondi, M.L., Gherzi, G., 2013. Structure and biological evaluation of amino-functionalized PVP nanogels for fast cellular internalization. *React. Funct. Polym.* 73, 1103–1113.
- Dispenza, C., Sabatino, M.A., Grimaldi, N., Bulone, D., Bondi, M.L., Casaletto, M.P., Rigogliuso, S., Adamo, G., Gherzi, G., 2012. Minimalism in radiation synthesis of biomedical functional nanogels. *Biomacromolecules* 13, 1805–17.
- Dong, H., Matyjaszewski, K., 2010. Thermally responsive P(M(EO)2MA- co -OEOMA) copolymers via AGET ATRP in miniemulsion. *Macromolecules* 43, 4623–4628.
- Douglas, J.F., Freed, K.F., 1984. Penetration function and second virial coefficient for linear and regular star polymers. *Macromolecules* 17, 1854–1870.

- Doytcheva, M., Dotcheva, D., Stamenova, R., Orahovats, A., Tsvetanov, C., Leder, J., 1997. Ultraviolet-induced crosslinking of solid poly(ethylene oxide). *J. Appl. Polym. Sci.* 64, 2299–2307.
- Dusek, J. (Ed. ., 1993. *Responsive Gels: Volume Transitions*, Adv. Polym. Sci. Springer, Berlin.
- Elzoghby, A.O., Samy, W.M., Elgindy, N.A., 2012. Albumin-based nanoparticles as potential controlled release drug delivery systems. *Rad. Phys. Chem.* 157, 168–182.
- Emami, S.H., Salovey, R., 2003. Crosslinked poly(ethylene oxide) hydrogels. *J. Appl. Polym. Sci.* 88, 1451–
- Emami, S.H., Salovey, R., Hogen-Esch, T.E., 2003. Degradable poly(ethylene oxide) hydrogels formed by crosslinking with tert-butylperoxybenzoate. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 41, 520–527.
- Emami, S.H., Salovey, R., Hogen-Esch, T.E., 2002. Peroxide-mediated crosslinking of poly(ethylene oxide). *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 40, 3021–3026.
- Fechine, G.J.M., Barros, J.A.G., Catalani, L.H., 2004. Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogel production by ultraviolet radiation: new methodologies to accelerate crosslinking. *Polymer (Guildf)*. 45, 4705–4709.
- Freed, K.F., 1987. *Renormalization Group Theory of Macromolecules*. Wiley, New York.
- Funke, W., Okay, O., Joos-Müller, B., 1998. Microgels - intramolecularly crosslinked macromolecules with a globular structure. *Adv. Polym. Sci.* 136, 139–234.
- Gehrke, S.H., 1993. Synthesis, equilibrium swelling, kinetics, permeability and applications of environmentally responsive gels. *Adv. Polym. Sci.* 110, 80–144.
- Genzer, J., Bhat, R.R., 2008. Surface-bound soft matter gradients. *Langmuir* 24, 2294–2317.
- Goldraich, M., Kost, J., 1993. Glucose-sensitive polymeric matrices for controlled drug delivery. *Clin. Mater.* 13, 135–142.
- Gong, J., Huo, M., Zhou, J., Zhang, Y., Peng, X., Yu, D., Zhang, H., Li, J., 2009. Synthesis, characterization, drug-loading capacity and safety of novel octyl modified serum albumin micelles. *Int. J. Pharm.* 376, 161–168.
- H. Staudinger, Huseman, E., 1935. Highly polymerized compounds. CXVI. The limiting swelling capability of polystyrene. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* 68, 1618–1634.
- Harsh, D.C., Gehrke, S.H., 1991. Controlling the swelling characteristics of temperature-sensitive cellulose ether hydrogels. *J. Control. Release* 17, 175–185.
- Hirsch, S.G., Spontak, R.J., 2002. Temperature-dependent property development in hydrogels derived from hydroxypropylcellulose. *Polymer (Guildf)*. 43, 123–129.
- Hoffman, A.S., 2001. Hydrogels for biomedical applications. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 944, 62–73.
- Horne, R.A., Almeida, J.P., Day, A.F., Yu, N.T., 1971. Macromolecule hydration and the effect of solutes on the cloud point of aqueous solutions of polyvinyl methyl ether: a possible model for protein denaturation and temperature control in homeothermic animals. *J. Colloid Interface Sci.* 35, 77–84.
- Houée-Levin, C., Bobrowski, K., 2013. The use of the methods of radiolysis to explore the mechanisms of free radical modifications in proteins. *J. Proteomics* 92, 51–62.
- Houée-Lévin, C., Bobrowski, K., Horakova, L., Karademir, B., Schöneich, C., Davies, M.J., Spickett, C.M., 2015. Exploring oxidative modifications of tyrosine: An update on mechanisms of formation, advances in analysis and biological consequences. *Free Rad. Res.* 5762, 1-27.
- Ichijo, H., Hirasa, O., Kishi, R., Oowada, M., Sahara, K., Kokufuta, E., Kohno, S., 1995. Thermo-responsive gels. *Radiat. Phys. Chem.* 46, 185–190.
- Iliopoulos, I., Audebert, R., 1991. Complexation of acrylic acid copolymers with polybases. Importance of cooperative effects. *Macromolecules* 24, 2566–2575.
- Ishizone, T., Seki, A., Hagiwara, M., Han, S., Yokoyama, H., Oyane, A., Deffieux, A., Carlotti, S., 2008. Anionic polymerizations of oligo(ethylene glycol) alkyl ether methacrylates: Effect of side chain length and ω -alkyl group of side chain on cloud point in water. *Macromolecules* 41, 2963–2967.
- Ito, Y., Casolaro, M., Kono, K., Imanishi, Y., 1989. An insulin-releasing system that is responsive to glucose. *J. Control. Release* 10, 195–203.
- Ivanov, S., 1992. *Radiation chemistry of polymers*. VSP, Utrecht.

- Janik, I., Kasprzak, E., Al-Zier, A., Rosiak, J., 2003. Radiation crosslinking and scission parameters for poly(vinyl methyl ether) in aqueous solution. *Nucl. Instr. Meth B* 208, 374–379.
- Janik, I., Ulanski, P., Hildenbrand, K., Rosiak, J.M., von Sonntag, C., 2000. Hydroxyl-radical-induced reactions of poly(vinyl methyl ether): A pulse radiolysis, EPR and product study in deoxygenated and oxygenated aqueous solutions. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 2041–2048.
- Kaczmarek, H., Szalla, A., Kamińska, A., 2001. Study of poly(acrylic acid) - poly(vinylpyrrolidone) complexes and their photostability. *Polymer (Guildf)*. 42, 6057–6069.
- Kadlubowski, S., Grobelny, J., Olejniczak, W., Cichomski, M., Ulanski, P., 2003. Pulses of fast electrons as a tool to synthesize poly(acrylic acid) nanogels. Intramolecular cross-linking of linear polymer chains in additive-free aqueous solution. *Macromolecules* 36, 2484–2492.
- Kang, S. Il, Bae, Y.H., 2003. A sulfonamide based glucose-responsive hydrogel with covalently immobilized glucose oxidase and catalase. *J. Control. Release* 86, 115–121.
- Karabanova, L.V, Mikhalovsky, S.V, Lloyd, A.W., 2012. Gradient semi-interpenetrating polymer networks based on polyurethane and poly(2-hydroxyethyl methacrylate) for biomedical applications. *J. Mater. Chem.* 22, 7919–7928.
- Katchalsky, A., Zwick, M., 1955. Mechanochemistry and ion exchange. *J. Polym. Sci.* 16, 221–234.
- Kishi, R., Ichijo, H., Hirasa, O., 1993. Thermo-responsive devices using poly(vinyl methyl ether) hydrogels. *J. Intell. Mater. Syst. Struct.* 4, 533–537.
- Kuhn, W., Hargitay, B., Katchalsky, A., Eisenberg, H., 1950. Reversible dilation and contraction by changing the state of ionization of high-polymer acid networks. *Nature* 165, 514–516.
- Langer, R., 1998. Drug delivery and targeting. *Nature* 392 (Suppl, 5–10).
- Lee, S.H., Heng, D., Ng, W.K., Chan, H.K., Tan, R.B.H., 2011. Nano spray drying: A novel method for preparing protein nanoparticles for protein therapy. *Int. J. Pharm.* 403, 192–200.
- Lopérgolo, L.C., Lugão, A.B., Catalani, L.H., 2003. Direct UV photocrosslinking of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) (PVP) to produce hydrogels. *Polymer (Guildf)*. 44, 6217–6222.
- Lutz, J.F., Andrieu, J., Üzgün, S., Rudolph, C., Agarwal, S., 2007. Biocompatible, thermoresponsive, and biodegradable: Simple preparation of "All-in-one" biorelevant polymers. *Macromolecules* 40, 8540–8543.
- Lutz, J.F., Hoth, A., 2006. Preparation of ideal PEG analogues with a tunable thermosensitivity by controlled radical copolymerization of 2-(2-methoxyethoxy)ethyl methacrylate and oligo(ethylene glycol) methacrylate. *Macromolecules* 39, 893–896.
- Lutz, J.F., Stiller, S., Hoth, A., Kaufner, L., Pison, U., Cartier, R., 2006. One-pot synthesis of PEGylated ultrasmall iron-oxide nanoparticles and their in vivo evaluation as magnetic resonance imaging contrast agents. *Biomacromolecules* 7, 3132–3138.
- Maeda, H., 1994. Interaction of water with poly(vinyl methyl ether) in aqueous solution. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* 32, 91–97.
- Maeda, Y., Kubota, T., Yamauchi, H., Nakaji, T., Kitano, H., 2007. Hydration changes of poly(2-(2-methoxyethoxy)ethyl methacrylate) during thermosensitive phase separation in water. *Langmuir* 23, 11259–11265.
- Marsano, E., Bianchi, E., Sciutto, L., 2003. Microporous thermally sensitive hydrogels based on hydroxypropyl cellulose crosslinked with poly-ethyleneglycol diglycidyl ether. *Polymer (Guildf)*. 44, 6835–6841.
- Meeussen, F., Bauwens, Y., Moerkerke, R., Nies, E., Berghmans, H., 2000. Molecular complex formation in the system poly(vinyl methyl ether)/water. *Polymer (Guildf)*. 41, 3737–3743.
- Moerkerke, R., Meeussen, F., Koningsveld, R., Berghmans, H., Mondelaers, W., Schacht, E., Dušek, K., Šolc, K., 1998. Phase transitions in swollen networks. 3. Swelling behavior of radiation cross-linked poly(vinyl methyl ether) in water. *Macromolecules* 31, 2223–2229.
- O'Reilly, R.K., Hawker, C.J., Wooley, K.L., 2006. Cross-linked block copolymer micelles: functional nanostructures of great potential and versatility. *Chem. Soc. Rev.* 35, 1068–1083.
- Oh, J.K., Drumright, R., Siegwart, D.J., Matyjaszewski, K., 2008. The development of microgels/nanogels for drug delivery applications. *Prog. Polym. Sci* 33, 448–477.

- Olejniczak, J., Rosiak, J., Charlesby, A., 1991. Gel/dose curves for polymers undergoing simultaneous cross-linking and scission. *Radiat. Phys. Chem.* 38, 113–118.
- Pelton, R., 2000. Temperature-sensitive aqueous microgels. *Adv. Colloid Interface Sci.* 85, 1–33.
- Peppas, N.A., 1986. *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*. CRC Press, Boca Raton.
- Plonka, A., 1991. Developments in dispersive kinetics. *Prog. Reaction Kinet.* 16, 157–333.
- Podual, K., 2000. Preparation and dynamic response of cationic copolymer hydrogels containing glucose oxidase. *Polymer (Guildf)*. 41, 3975–3983.
- Podual, K., Doyle, F.J., Peppas, N.A., 2000a. Dynamic behavior of glucose oxidase-containing microparticles of poly(ethylene glycol)-grafted cationic hydrogels in an environment of changing pH. *Biomaterials* 21, 1439–1450.
- Podual, K., Doyle, F.J., Peppas, N.A., 2000b. Preparation and dynamic response of cationic copolymer hydrogels containing glucose oxidase. *Polymer (Guildf)*. 41, 3975–3983.
- Podual, K., Doyle, F.J., Peppas, N.A., 2000c. Glucose-sensitivity of glucose oxidase-containing cationic copolymer hydrogels having poly(ethylene glycol) grafts. *J. Control. Release* 67, 9–17.
- Raemdonck, K., Demeester, J., De Smedt, S., 2009. Advanced nanogel engineering for drug delivery 5, 707–715.
- Rainaldi, I., Cristallini, C., Ciardelli, G., Giusti, P., 2000. Kinetics and reaction mechanism of template polymerization investigated by conductimetric measurements. Part 3. Radical polymerization of acrylic acid in the presence of poly(N-vinylpyrrolidone). *Polym. Int.* 49, 63–73.
- Rodríguez-Henrández, J., Chécot, F., Gnanou, Y., Lecommandoux, S., 2005. Toward “smart” nano-objects by self-assembly of block copolymers in solution. *Prog. Polym. Sci.* 30, 691–724.
- Rosiak, J., 1990. Hydrogel dressings HDR. *ACS Polym. Prepr. Div. Polym. Chem.* 31, 361–362.
- Rosiak, J.M., 1998. Gel/sol analysis of irradiated polymers. *Radiat. Phys. Chem.* 51, 13–17.
- Rosiak, J.M., 1991. Hydrogel dressings HDR, in: Clough, R.C., Shalaby, S.W. (Eds.), *Radiation Effects on Polymers*, ACS Symposium Series 475. American Chemical Society, Washington, pp. 271–299.
- Sabliov, C., Chen, H., Yada, R., 2015. *Nanotechnology and Functional Foods: Effective Delivery of Bioactive Ingredients*, 1st ed. Wiley-Blackwell.
- Solar, S., Solar, W., Getoff, N., 1984. Reactivity of hydroxyl with tyrosine in aqueous solution studied by pulse radiolysis. *J. Phys. Chem.* 88, 2091–2095.
- Soppimath, K.S., Aminabhavi, T.M., Dave, A.M., Kumbar, S.G., Rudzinski, W.E., 2002. Stimulus-responsive “smart” hydrogels as novel drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 28, 957–974.
- Soto Espinoza, S.L., Sánchez, M.L., Risso, V., Smolko, E.E., Grasselli, M., 2012. Radiation synthesis of seroalbumin nanoparticles. *Radiat. Phys. Chem.* 81, 1417–1421.
- Tanaka, T., 2003. *From Gels to Life*. University of Tokyo Press, Tokyo.
- Tanaka, T., Fillmore, D.J., 1979. Kinetics of swelling of gels. *J. Chem. Phys.* 70, 1214–1218.
- Tang, L., Yang, Y., Bai, T., Liu, W., 2011. Robust MeO2MA/vinyl-4,6-diamino-1,3,5-triazine copolymer hydrogels-mediated reverse gene transfection and thermo-induced cell detachment 32, 1943–1949.
- Thalmann, C., Lötzbeyer, T., 2002. Enzymatic cross-linking of proteins with tyrosinase. *Eur. Food Res. Technol.* 214, 276–281.
- Theiss, D., Schmidt, T., Arndt, K.F., 2004. Temperature-sensitive poly(vinyl methyl ether) hydrogel beads. pp. *Macromolecular Symposia* 210, 465–474.
- Traitel, T., Cohen, Y., Kost, J., 2000. Characterization of glucose-sensitive insulin release systems in simulated in vivo conditions. *Biomaterials* 21, 1679–1687.
- Ulanski, P., Bothe, E., Hildenbrand, K., Rosiak, J.M., von Sonntag, C., 1996a. Hydroxyl-radical-induced reactions of poly(acrylic acid); a pulse radiolysis, EPR and product study. Part I. Deoxygenated aqueous solutions. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1, 13–22.
- Ulanski, P., Bothe, E., Hildenbrand, K., Rosiak, J.M., von Sonntag, C., 1996b. Hydroxyl-radical-induced

reactions of poly(acrylic acid); a pulse radiolysis, EPR and product study. Part II. Oxygenated aqueous solutions. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1, 23–28.

Ulanski, P., Janik, I., Rosiak, J.M., 1998. Radiation formation of polymeric nanogels. *Radiat.Phys.Chem.* 52, 289–294.

Ulanski, P., Rosiak, J.M., 2004. Polymeric Nano/Microgels, in: Nalwa, H.S. (Ed.), *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*. American Scientific Publishers, Stevenson Ranch, CA, pp. 845–871.

Ulanski, P., Rosiak, J.M., 1999. The use of radiation technique in the synthesis of polymeric nanogels. *Nucl. Instr. Meth. B* 151, 356–360.

Ulanski, P., Rosiak, J.M., 1994. Pulse radiolysis of poly(acrylic acid) in deoxygenated aqueous solution. *J. Radioanal. Nucl. Chem. Lett.* 186, 315–324.

Ulanski, P., Zainuddin, Rosiak, J.M., 1995. Pulse radiolysis of poly(ethylene oxide) in aqueous solution. II. Decay of macroradicals. *Radiat. Phys. Chem.* 46, 917–920.

Ulański, P., Janik, I., Rosiak, J.M., 1998. Radiation formation of polymeric nanogels. *Radiat. Phys. Chem.* 52, 289–294.

Vaiana, S.M., Emanuele, A., Palma-Vittorelli, M.B., Palma, M.U., 2004. Irreversible formation of intermediate BSA oligomers requires and induces conformational changes. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* 55, 1053–1062.

Varca, G.H.C., Perossi, G.G., Grasselli, M., Lugão, A.B., 2014. Radiation synthesized protein-based nanoparticles: A technique overview. *Radiat. Phys. Chem.* 105, 48–52.

Vinogradov, S. V., Batrakova, E. V., Kabanov, A. V., 2004. Nanogels for oligonucleotide delivery to the brain. *Bioconjug. Chem.* 15, 50–60.

Vinogradov, S. V., Bronich, T.K., Kabanov, A. V., 2002. Nanosized cationic hydrogels for drug delivery: preparation, properties and interactions with cells. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54, 135–147.

Weber, C., Coester, C., Kreuter, J., Langer, K., 2000. Desolvation process and surface characterisation of protein nanoparticles. *Int. J. Pharm.* 194, 91–102.

Wichterle, O., Lim, D., 1960. Hydrophilic gels for biological use. *Nature* 185, 117–118.

Xu, R., Fisher, M., Juliano, R.L., 2011. Targeted albumin-based nanoparticles for delivery of amphipathic drugs. *Bioconjug. Chem.* 22, 870–878.

Yaung, J.F., Kwei, T.K., 1998. pH-sensitive hydrogels based on polyvinylpyrrolidone-polyacrylic acid (PVP-PAA) semi-interpenetrating networks (semi-IPN): Swelling and controlled release. *J. Appl. Polym. Sci.* 69, 921–930.

Yoon, J.A., Bencherif, S.A., Aksak, B., Kim, E.K., Kowalewski, T., Oh, J.K., Matyjaszewski, K., 2011a. Thermoresponsive hydrogel scaffolds with tailored hydrophilic pores 6, 128–136.

Yoon, J.A., Gayathri, C., Gil, R.R., Kowalewski, T., Matyjaszewski, K., 2010. Comparison of the thermoresponsive deswelling kinetics of poly(2-(2-methoxyethoxy)ethyl methacrylate) hydrogels prepared by ATRP and FRP *Macromolecules* 43, 4791–4797.

Yoon, J.A., Kowalewski, T., Matyjaszewski, K., 2011b. Comparison of thermoresponsive deswelling kinetics of poly(oligo(ethylene oxide) methacrylate)-based thermoresponsive hydrogels prepared by “graft-from” ATRP *Macromolecules* 44, 2261–2268.

Zhang, X.-Z., Yang, Y.-Y., Chung, T.-S., Ma, K.-X., 2001. Preparation and characterization of fast response macroporous poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogels. *Langmuir* 17, 6094–6099.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych.

5.1. Okres studiów

Studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej na kierunku Technologia Chemiczna rozpocząłem w roku 1994 po uzyskaniu świadectwa dojrzałości w Liceum

Ogólnokształcącym w Aleksandrowie Łódzkim. Od IX semestru zajęcia realizowałem w ramach indywidualnego toku studiów, dzięki czemu miałem możliwość uzyskania dodatkowej wiedzy w zakresie chemii polimerów. Podjęcie indywidualnego toku studiów to jednocześnie początek mojej drogi naukowej realizowanej pod kierunkiem prof. dr hab. Janusza M. Rosiaka w Zespole Chemii Radiacyjnej Stosowanej, Międzyresortowego Instytutu Techniki Radiacyjnej PŁ.

Od tego czasu moje główne zainteresowania badawcze skierowane były na wpływ promieniowania jonizującego na wodne roztwory polimerów. W tym okresie zacząłem też zapoznawać się z technikami radiolizy impulsowej oraz pomiaru intensywności światła rozproszonego przez roztwory polimerów, które stały się jednym z podstawowych narzędzi mojego warsztatu badawczego. Jeszcze przed obroną pracy magisterskiej jej wyniki przedstawiłem na dwóch konferencjach: Mikrosymposium - Kinetyczne metody badania mechanizmów reakcji w roztworach oraz Fifth International Conference on Frontiers of Polymers and Advance Materials & NATO Advanced Research Workshop Polymers and Composites for Special Applications; stanowiły one także podstawę patentu (pozycja B1, sekcja II B, załącznik 5).

5.2. Okres realizacji pracy doktorskiej

Tematyka mojej pracy doktorskiej związana była z badaniem wpływu promieniowania jonizującego na wodne, rozcieńczone roztwory polimerów ze szczególnym uwzględnieniem procesów sieciowania wewnątrzcząsteczkowego. Prace początkowo prowadzone były w ramach projektu badawczego „Opracowanie technologii wytwarzania nano i mikrohydrożeli do celów biomedycznych”, którego byłem głównym wykonawcą, a następnie grantu promotorskiego „Radiacyjna synteza nanożeli polimerowych”. W prowadzonych badaniach rozwijałem swoją wiedzę nie tylko w zakresie chemii radiacyjnej, głównie polimerów, ale także korzystania z takich technik badawczych jak preparatywna radioliza impulsowa, radioliza impulsowa z detekcją spektrofotometryczną, statyczne i dynamiczne rozpraszanie światła oraz wiskozymetria. Prowadzone prace zaowocowały 5 publikacjami w czasopiśmie z listy JCR (pozycja A1-A5, sekcja II A, załącznik 5), stanowiącymi podstawę pracy doktorskiej. Badane przeze mnie podstawy mechanizmu sieciowania wewnątrzcząsteczkowego rozwinięte zostały także w ramach pracy doktorskiej dr inż. Artura Henke (której byłem opiekunem).

W początkowym okresie realizacji pracy doktorskiej odbyłem miesięczny staż w Università Degli Studi dell'Aquila, Dipartimento di Chimica, Ingegneri Chimica e Materiali, Montelucio di Roio - L'Aquila we Włoszech w zespole prof. L. Pajewskiego z którym Zespół Chemii Radiacyjnej Stosowanej prowadził bliską współpracę w zakresie otrzymywania biomateriałów polimerowych. Wynikiem zainteresowań w temacie biomateriałów jest 5 publikacji dotyczących materiałów hydrożelowych (pozycja A3, A5, C1-C3, sekcja II A i II C, załącznik 5).

Tematyką badawczą nie związaną z klasyczną chemią radiacyjną, a którą zainteresowałem się w okresie wykonywania pracy doktorskiej była sonochemia oraz symulacje komputerowe. Techniki te, a szczególnie metody obliczeniowe, wykorzystywałem także po zakończeniu pracy doktorskiej.

16 września 2004 roku obroniłem z wyróżnieniem pracę doktorską pod tytułem „Radiacyjna synteza nanożeli polimerowych”.

5.3. Okres po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

W X 2004, po uzyskaniu stopnia naukowego doktora zostałem zatrudniony na stanowisku adiunkta w Międzyresortowym Instytucie Techniki Radiacyjnej. Pracę rozpocząłem od udziału we wspólnym z Massachusetts Institute of Technology (MIT) projekcie (Enzyme immobilization in stimuli-sensitive hydrogel matrices) finansowanym przez NATO. Nawiązałem wówczas współpracę z prof. Alanem T. Hattonem oraz dr Lvem Brombergiem (specjalistami w dziedzinie inżynierii chemicznej) dzięki czemu w 2005 wyjechałem na staż w MIT w ramach projektu Międzynarodowej Agencji Energii Atomowej (IAEA) „Opracowanie radiacyjnych technologii wytwarzania nowych produktów polimerowych do celów medycznych” (załącznik 7). Wynikiem prowadzonych wspólnie prac są 2 publikacje (pozycja H11, H12, załącznik 2 i 5) opisujące, między innymi, nowatorską metodę otrzymania makroskopowych hydrożeli z kompleksów polimerowych za pomocą indukowanego światłem UV sieciowania międzycząsteczkowego. Od tego czasu oprócz rozwoju (w tym opracowania nowych rozwiązań) i propagowania indukowanej radiacyjnie syntezy nanożeli i nanocząstek polimerowych głównym obiektem prac badawczych były materiały hydrożelowe stosowane w medycynie i naukach pokrewnych.

Po powrocie byłem głównym wykonawcą licznych projektów, w tym VI PR UE, IAEA, Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, Narodowego Centrum Nauki oraz Narodowego

Centrum Badań i Rozwoju. Podstawowym celem prowadzonych badań było opracowanie nowych materiałów wykorzystywanych w hodowlach komórkowych oraz do leczenia trudno gojących się ran a wynikiem tych prac są, między innymi, 3 patenty (pozycja B2, B4, B5, sekcja II B, załącznik 5).

W ramach prowadzonych prac badawczych nawiązałem współpracę z głównymi ośrodkami zajmującymi się chemią radiacyjną polimerów (prof. Xavier Coqueret; Université de Reims Champagne Ardenne (URCA), Institut de Chimie Moléculaire de Reims (ICMR), Reims, Francja), syntezą i funkcjonalizowaniem nanożeli polimerowych (prof. Cleila Dispenza; Università Degli Studi Palermo – Palermo, Włochy) oraz otrzymywaniem nanocząstek z polimerów naturalnych: prof. Mariano Graselli (Universidad Nacional de Quilmes – Buenos Aires, Argentyna), dr Gustavo H. C. Varca (Nuclear and Energy Research Institute - IPEN/CNEN-SP – São Paulo, Brazylia) (załącznik 7). Współpraca ta zaowocowała trzema wizytami naukowymi w ww. ośrodkach organizowanymi przez IAEA.

Od 2006 rozpocząłem współpracę z grupą prof. Jacka Ulańskiego z Katedry Fizyki Molekularnej (Wydział Chemiczny Politechniki Łódzkiej) w zakresie oddziaływań międzycząsteczkowych, głównie polimer-woda, w hydrożelach otrzymywanych metodą radiacyjną. Wynikiem prowadzonych prac jest 6 publikacji (pozycja H13, H14, A7, A8, A9, A13, sekcja I B i II A, załącznik 5) przedstawiających między innymi nowatorski sposób otrzymywania tzw. żeli gradientowych metodą radiacyjną. Układy takie, ze względu na swoje właściwości (zmiana gęstości sieciowania w obrębie sieci polimerowej) stanowią mogą np. rusztowania do hodowli komórkowych naśladujących naturalne połączenie tkanek miękkich i twardych (chrząstki). W badaniach właściwości fizyko-chemicznych dwutlenku tytanu pracownicy Katedry wykorzystali także moje doświadczenie związane z pomiarem rozmiarów nanocząstek metodą rozpraszania światła (pozycja A11, sekcja II A, załącznik 5). Współpracuję także nad zupełnie nowym zagadnieniem, jakim jest kinetyka polimeryzacji oraz tworzenia sieci polimerowych badana metodami eksperymentalnymi (radioliza impulsowa – MITR) oraz obliczeniowymi (algorytm DLL; ang. Dynamic Lattice Liquid – KFM). W 2007 nawiązałem także współpracę z dr hab. inż. Markiem Kozickim, prof. PŁ (Katedra Włókien Sztucznych, Wydział Technologii Materiałowych i Wzornictwa Tekstyliów, Politechnika Łódzka) w zakresie dozimetrii (tekstylnej oraz żelowej) promieniowania wysokoenergetycznego (pozycja C8, sekcja II C, załącznik 5).

W 2005 i 2006 otrzymałem Nagrodę Zespołową odpowiednio Ministra Sportu i Edukacji oraz Prezydenta Łodzi (Łódzka Eureka 2006) za "Opracowanie nowej metody otrzymywania nano- i mikrożeli zwłaszcza do zastosowań biomedycznych". W 2013 i 2015 wraz z członkami Zespołu Chemii Radiacyjnej Stosowanej otrzymałem nagrodę zespołową JM Rektora Politechniki Łódzkiej za udział w przygotowaniu serii publikacji, patentów i zgłoszeń patentowych, a w 2016 nagrodę zespołową Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych za cykl publikacji dotyczących radiacyjnej syntezy nanocząstek z polimerów syntetycznych i z białek. Prace prowadzone w ramach projektu POLYCELL nagrodzone zostały prestiżową nagrodą Prix Galien (sekcja II H, załącznik 5).

Oprócz badań głównym elementem mojej pracy na Wydziale Chemicznym PŁ jest nauczanie. W celu lepszego przekazywania wiedzy studentom PŁ ukończyłem studia podyplomowe z Dydaktyki. W 2009 za osiągnięcia dydaktyczne otrzymałem nagrodę JM Rektora Politechniki Łódzkiej.

W kolejnych latach pracy na stanowisku adiunkta prowadziłem szereg, często autorskich, wykładów i zajęć laboratoryjnych oraz byłem opiekunem lub promotorem 30 prac inżynierskich i magisterskich. W tym miejscu warto podkreślić wyróżnienia, jakie otrzymały kierowane przeze mnie prace:

- Alicja Starzyńska, Nagroda Prorektor ds. Nauczania Uniwersytetu Łódzkiego za najlepszy poster podczas XI Sesji Posterowej Tematów Prac Dyplomowych Środowiska Chemików Łódzkich,
- Magdalena Grala, Nagroda Polskiego Towarzystwa Chemicznego Oddział Łódzki za poster podczas XII Sesji Posterowej Tematów Prac Dyplomowych Środowiska Chemików Łódzkich,
- Beata Nagórniewicz, I nagroda w konkursie na najlepszy poster podczas IV Ogólnopolskiej Studenckiej Konferencji "Nowoczesne Metody Doświadczalne Fizyki, Chemii i Inżynierii,
- Magdalena Ciekańska, I Nagroda Instytutu Biologii Medycznej Państwowej Akademii Nauk w kategorii „Badania na pograniczu biologii i medycyny” podczas II Sesji Magistrantów i Doktorantów Środowiska Chemików Łódzkich.

Sprawuję także opiekę nad studentami w ramach podejmowanych przez nich prac wolontariackich, stażystami Międzynarodowej Agencji Energii Atomowej oraz studentami przyjeżdżającymi na wymianę w ramach programu Erasmus (w latach 2008-2013 byłem

jednym z Koordynatorów Programu Erasmus – dwustronna umowa pomiędzy Università degli Studi dell'Aquila oraz Politechniką Łódzką).

Niemal od początku pracy na PŁ aktywnie włączyłem się także w obowiązki administracyjne. W latach 2006 – 2011 brałem udział w pracach Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej, początkowo jako jej członek a następnie jako zastępca przewodniczącego. W 2009 wybrany zostałem na Elektora w Kurii Doktorów w wyborach do Rady Głównej Szkolnictwa Wyższego X kadencji, a w latach 2012 – 2016 reprezentowałem nauczycieli akademickich w obradach Rady Wydziału Chemicznego PŁ. Od 2016 jestem członkiem Komisji ds. Dydaktyki i Jakości Kształcenia działającej przy Radzie Wydziału Chemicznego PŁ oraz Dziekańskiej Komisji Stypendialnej dla Studentów Wydziału Chemicznego PŁ. W 2010 byłem członkiem komisji kierującej utworzeniem Kolegium Towaroznawstwa Politechniki Łódzkiej oraz członkiem jego Rady Programowej. Od 2012 powierzono mi funkcję administratora licencji oprogramowania w Międzyresortowym Instytucie Techniki Radiacyjnej Politechniki Łódzkiej. Jestem także opiekunem studentów na kierunku Nanotechnologia. Propagowałem studia na Wydziale Chemicznym PŁ, między innymi, biorąc czynny udział w Szkolnych Spotkaniach z Nauką "Copernicus Science" w Kaliszu (dwukrotnie wykład na zaproszenie organizatorów)

Na koniec warto zaznaczyć moją aktywność jako recenzenta artykułów w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Jako ekspert w dziedzinie chemii radiacyjnej polimerów przygotowałem 46 recenzji, głównie dla *Radiation Physics and Chemistry* (22) ale także dla *Biomacromolecules*, *Journal of Applied Polymer Science*, *Polymers for Advanced Technologies* itd. W 2017 zostałem wybrany na gościnnego edytora specjalnego numeru *Radiation Physics and Chemistry* zatytułowanego *Radiation Technologies for the Synthesis of Nanoparticles and Nanostructured Systems*

5.4. Najbliższe plany badawcze

a) Układ do radiolizy impulsowej z wielokątową detekcją światła rozproszonego. Opracowanie nowej metody badawczej oraz skonstruowanie i przetestowanie nowatorskiej w skali światowej aparatury pomiarowej do badania szybkich reakcji chemicznych i procesów fizycznych, w tym zwłaszcza reakcji rodnikowych w układach polimerowych. Metoda polega na wielokątowej analizie, w czasie rzeczywistym z mikrosekundową rozdzielczością czasową, zmian natężenia światła rozproszonego przez próbkę indukowanych impulsem

przyspieszonych elektronów z akceleratora. Budowa unikalnego układu do rozdzielczych w czasie pomiarów intensywności światła rozproszonego pozwoli na rozpoczęcie nowatorskich - w sensie techniki pomiarowej - badań kinetyki i mechanizmu takich reakcji i procesów, poprzez bezpośrednią obserwację przebiegu zmian masy i rozmiarów makrocząsteczek. Układ umożliwi także badanie szybkich procesów zachodzących w trakcie reakcji rodników z biopolimerami oraz obserwacje w czasie rzeczywistym (w skali mikro- i milisekund) wywołanych bodźcem zewnętrznym zmian konformacji polimerów syntetycznych i biopolimerów takich jak białka czy DNA. Zasadniczo źródłem energii inicjującej, w sposób impulsowy, procesy chemiczne i fizyczne w badanych układach będzie impuls wysokoenergetycznych elektronów z akceleratora (radioliza impulsowa), jednak układ będzie można łatwo przystosować do pracy z laserem impulsowym jako źródłem energii, co pozwoli poszerzyć zakres jego zastosowań i prowadzić również badania w dziedzinie fotochemii i fotofizyki polimerów. (Narodowe Centrum Nauki (2013-2016); 2012/07/B/ST4/01429; Budowa i zastosowania badawcze układu do radiolizy impulsowej z wielokątową detekcją światła rozproszonego; główny wykonawca)

b) Opatrunki hydrożelowe do leczenia trudno gojących się ran ze szczególnym uwzględnieniem zespołu stopy cukrzycowej.

Cukrzyca jest przewlekłą chorobą cywilizacyjną, w której trzustka nie produkuje wystarczającej ilości insuliny lub nie jest ona prawidłowo wykorzystywana przez komórki ciała człowieka. Przewiduje się systematyczny wzrost liczby zachorowań na cukrzycę z powodu prowadzenia tzw. złego trybu życia (brak zbilansowanej diety, otyłość, siedzący tryb życia itd.). Z tego powodu wszelkie rozwiązania medyczne (wyroby medyczne, produkty lecznicze) wspomagające profilaktykę lub leczenie cukrzycy i powikłań cukrzycowych, znajdują się w obszarze zainteresowań większości firm farmaceutycznych i biotechnologicznych.

Jednym z nielicznych materiałów opatrunkowych dostępnych obecnie na rynku dedykowanych w głównej mierze ranom pooperacyjnym, ale także trudno gojącym się ranom pochodzenia troficznego, są opatrunki żelowe. Celem planowanych prac będzie taka ich modyfikacja by mogły być używane do leczenia ran związanych z zespołem stopy cukrzycowej. W ramach wstępnych badań opracowana została metoda ochrony wybranych, przyspieszających leczenie, peptydów przed niekorzystnym działaniem promieniowania jonizującego. Planowane są dalsze prace rozwojowe, w tym badania na zwierzętach pokazujące efektywne działanie opracowanego materiału hydrożelowego oraz działania mające na celu wdrożenie opatentowanego wynalazku.

c) Układy do transportu leków oparte na nanożelach polimerowych

Nanozele polimerowe to obiekt intensywnych badań związanych z ich potencjalnymi zastosowaniami praktycznymi, w tym głównie jako układów do transportu leków. Badane są nie tylko nowe drogi ich syntezy prowadzące do otrzymania układów o określonych właściwościach fizyko-chemicznych, ale przede wszystkim możliwość ich funkcjonalizacji poprzez przyłączenie związków biologicznie ważnych.

Celem rozpoczętych prac (Międzynarodowa Agencja Energii Atomowej (2009-2012); Coordinated Research Programme F23028; Nanoscale Radiation Engineering of Advanced Materials for Potential Biomedical Applications) jest taka modyfikacja nanożeli na bazie poli(kwasu akrylowego), by nie tylko mogły przyłączać się do określonego typu komórek, ale także były nośnikiem radionuklidu. Układ taki mógłby wówczas działać jako narzędzie do terapii przeciwnowotworowej.

d) Makroskopowe hydrozele do dwu- i trójwymiarowych hodowli komórkowych

Makroskopowe hydrozele z powodzeniem znalazły zastosowanie nie tylko jako opatrunki na trudno gojące się rany ale także jako dwu- i trójwymiarowe matryce do hodowli komórkowych. Badane są między innymi możliwość otrzymywania cienkich warstw termoczułych hydrożeli, które w warunkach hodowlanych (37°C) charakteryzują się hydrofobowością. Hodowane są na nich wówczas warstwy komórek skóry (fibroblasty, keratynocyty i inne), które po obniżeniu temperatury otoczenia, poniżej 20°C, oddzielają się od podłoża w postaci ciągłych arkuszy. Mogą być one wówczas przenoszone na rozległe, zwykle poparzeniowe, rany. Trwają badania nad optymalizacją procedury zdejmowania arkuszy komórkowych z nośników polimerowych.

Trwają także badania nad możliwością hodowania komórek macierzystych wewnątrz matryc hydrożelowych. Komórki takie mogą być, zgodnie z odpowiednią procedurą, różnicowane do materiału biologicznego dowolnego typu. Otrzymano w ten sposób matrycę hydrożelową zawierającą skupiska połączonych w sieć komórek neuronalnych. Dla tak przygotowanego układu z powodzeniem badano między innymi zdolność przesyłania przez sieć komórek sygnałów elektrycznych.

Celem planowanych badań jest próba hodowli różnego rodzaju komórek wewnątrz opracowanych żeli z gradientem gęstości sieciowania. Układy takie w dość dobry sposób naśladują naturalne tkanki występujące w organizmie np. chrząstki, łączące cechy tkanek twardych i miękkich. Możliwość hodowli różnego rodzaju komórek w różnych częściach żelu lub wykazanie gradientu ilości komórek w zależności od gęstości sieci pozwoli na dalsze badania aplikacyjne.

6. Podsumowanie

Moja praca naukowo-badawcza związana jest z dwoma podstawowymi obszarami:

- radiacyjną syntezą nanocząstek polimerowych,
- wykorzystaniem techniki radiacyjnej do syntezy materiałów hydrożelowych o potencjalnych zastosowaniach biomedycznych.

Jestem autorem i współautorem 41 oryginalnych publikacji naukowych (z czego 32 po uzyskaniu stopnia doktora), ponad 150 doniesień konferencyjnych oraz 5 patentów.

Moje dane bibliometryczne na dzień 21.06.2017 według bazy Web of Science kształtują się następująco:

- Sumaryczny Impact Factor = **70,973**
- Sumaryczny Impact Factor prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego = **33,827**
- Liczba cytowań (bez autocytowań) = **337 (286)**
- Index Hirscha = **11**

Prowadzę współpracę naukową z zespołami PŁ (m.in. grupy prof. Ulańskiego, dr hab. Kozickiego) oraz ośrodkami w kraju (PAN Zabrze, Centrum Leczenia Oparzeń w Siemianowicach Śląskich) i za granicą (USA, Francja, Włochy, Brazylia, Argentyna). Byłem członkiem zespołów badawczych realizujących 5 projektów o charakterze międzynarodowym. Brałem, lub biorę obecnie udział w realizacji 6 krajowych projektach badawczych.

Jestem współautorem programu studiów w ramach Kolegium Towaroznawstwa PŁ. Przygotowałem i prowadziłem cykle wykładów poświęconych polimerom i ich właściwościom oraz liczne laboratoria w zakresie m.in. chemii fizycznej, chemii polimerów i chemii radiacyjnej. Byłem lub obecnie jestem opiekunem naukowym w 5 przewodach doktorskich oraz opiekunem i promotorem 30 prac inżynierskich i magisterskich.

W obszarze prac organizacyjnych należy wspomnieć o pracy w Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej oraz w Radzie Wydziału Chemicznego PŁ i jej Komisjach.

Moje osiągnięcia dydaktyczne i badawcze docenione zostały zarówno przez JM Rektora PŁ jak i przez instytucje zewnętrzne: Polskie Towarzystwo Badań Radiacyjnych, International Irradiation Association.

Pełen wykaz publikacji naukowych, aktywności konferencyjnych, danych bibliometrycznych, realizowanych projektów badawczych, osiągnięć dydaktycznych oraz innych jest szczegółowo wymieniony w załączniku 5.

21.06.2017

dr inż. Sławomir Kadłubowski