

Dr hab. Jakub Gburek
Katedra i Z-d. Biochemii Farmaceutycznej
Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

OCENA

Rozprawy doktorskiej **mgr inż. Elizy Nazar**, wykonanej w Zakładzie Materiałów Polimerowych i Węglowych Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej pt.: **„Synteza i właściwości nanosferycznych nośników leków”**.

Nanotechnologia to interdyscyplinarna dziedzina nauki zajmująca się technikami wytwarzania, organizowania i manipulowania strukturami o rozmiarach w skali nanometrycznej, oraz ich zdolnościami aplikacyjnymi. Zdobycze technologiczne w tym obszarze są obecnie powszechnie wykorzystywane między innymi w mikroelektronice, optoelektronice, rolnictwie czy monitoringu środowiska naturalnego. Nanotechnologie są również niezwykle atrakcyjne dla zastosowań zarówno w biomedycynie jak i farmacji. W dziedzinie farmacji do szczególnie rozwiniętych należą badania nad projektowaniem i zastosowaniem nanomateriałów w systemach kontrolowanego uwalniania leków oraz terapiach celowanych. Ich zastosowanie stwarza możliwości poprawienia farmakokinetyki leku oraz jego kierowania do komórek objętych procesem patologicznym za pomocą immobilizowanych, tkankowo-specyficznych ligandów.

Owocystatyna, nazywana w pracy cystatyną, jest endogennym inhibitorem proteaz cysteinowych, które ulegają nadekspresji w otoczeniu tkanki guza nowotworowego. Wstępne badania wskazują, iż białko to może być efektywnym czynnikiem kierującym dla nośników leku w terapii celowanej chorób nowotworowych.

W wyżej wymienionym obszarze doktorantka, pod kierunkiem promotora prof. dr. hab. Marka Bryjaka, podjęła swoje badania. W świetle dużego znaczenia tej tematyki dla rozwoju nowych generacji leków przeciwnowotworowych, założenia i cel badań uważam za w pełni uzasadnione. Warto również nadmienić, że badania te leżą na styku dwóch dyscyplin: nanotechnologii materiałowej i farmacji, które zostały zakwalifikowane do dyscyplin inteligentnej specjalizacji w ramach Regionalnej Strategii Innowacji dla Województwa Dolnośląskiego na lata 2011-2020 (Makrosfera: Przedsiębiorczość i Innowacyjność, Przedsięwzięcie 8.4.10). W związku z tym badania te, oprócz waloru naukowego, cechują się także innowacyjnością i mają charakter aplikacyjny, co jest cenne w aspekcie rozwoju regionalnego.

Jako szczegółowy cel pracy badawczej autorka wyznaczyła sobie opracowanie zarysu technologicznego dla syntezy nanocząstek polimerowych z immobilizowaną cystatyną oraz ocena ich właściwości fizykochemicznych i niektórych właściwości farmakologicznych.

Rozprawę doktorską, liczącą 94 strony, 42 ryciny i 15 tabel rozpoczyna klarowny Wstęp, wprowadzający czytelnika w tematykę dotyczącą zastosowania nanomateriałów w terapii schorzeń nowotworowych; charakterystykę inhibitorów proteaz cysteinowych z rodziny cystatyn oraz ich tropizm do miejsc zmienionych nowotworowo. Po Wstępie zdefiniowany jest cel pracy i poszczególne etapy pracy eksperymentalnej. Następnie przedstawiono metodykę badań. Zadania badawcze zostały konsekwentnie zrealizowane, opisane i przedyskutowane w rozdziale Wyniki i Dyskusja.

Zarówno metodyka jak i opis wyników nie budzą zastrzeżeń merytorycznych. Uzyskane wyniki są wnikliwie dyskutowane na tle literatury światowej.

Do głównych osiągnięć doktorantki niewątpliwie należy zaliczyć:

- 1) Opracowanie metody syntezy nanonośników na bazie cyklodekstryn i związków krzemionkowych;
- 2) Określenie profili uwalniania związków hydrofobowych i hydrofilowych z w/w nośników;
- 3) Wykazanie, że nośniki te nie są cytotoksyczne w modelu *in vitro* wobec wybranych linii komórek nowotworowych;
- 4) Opracowanie metody oczyszczania owocystatyny na skalę laboratoryjną z wykorzystaniem metody termicznej i chromatografii powinowactwa;
- 5) Analiza metod funkcjonalizacji w/w nośników dla procesu sprzęgania z owocystatyną
- 6) Wykazanie, że biokoniugaty owocystatyny z nośnikiem cyklodekstrynowym mają najwyższą aktywność antypapainową, co świadczy o zachowaniu konformacyjnie aktywnej struktury sprzęgniętego inhibitora.

Warto również podkreślić, iż badania doktorantki były prowadzone częściowo we współpracy z prof. Francesco Trotta z Laboratorium Materiałów Polimerowych Wydziału Chemicznego Uniwersytetu w Turynie. Świadczy to o przygotowaniu doktorantki do podjęcia w przyszłości dalszych współprac i projektów międzynarodowych.

Praca nie zawiera większych uchybień natury merytorycznej bądź nieprawidłowości natury redakcyjnej. Moje uwagi są następujące:

- 1) W odniesieniu do używanej w pracy cystatyny pochodzącej z białka jaja kurzego powinno się używać nazwy „owocystatyna”, stosując się do najbardziej aktualnej klasyfikacji inhibitorów peptydaz zgodnie z bazą danych MEROPS udostępnianą przez Wellcome Trust Sanger Institute. Użycie prawidłowej klasyfikacji dotyczy również przedstawianych we Wstępie paptydaz cysteinowych.
- 2) Ze względu na właściwości agragacyjne owocystatyny otrzymany preparat powinien być scharakteryzowany także w elektroforezie aby stwierdzić lub wykluczyć obecność form polimerycznych, które nie posiadają właściwości inhibitorowych.
- 3) Wniosek na temat biokompatybilności badanych koniugatów został sformułowany zbyt szeroko. Biokompatybilność danego związku lub koniugatu obejmuje, oprócz

braku cytotoksyczności, również jego zgodność z układem immunologicznym oraz brak właściwości hemolitycznych. Tych pozostałych właściwości nie da się wykazać w przeprowadzając badania tylko na komórkach *in vitro*.

- 4) Zamieszczenie w pracy wykazu stosownych skrótów znacznie ułatwiłoby jej odbiór przez czytelnika.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona mi praca doktorantki Elizy Nazar spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim i wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, 12 maja 2015 r.