



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETO
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETO**

**FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
OF KAUNAS UNIVERSITY OF TECHNOLOGY**

Public Institution, K. Donelaičio St. 73, LT-44029 Kaunas, Lithuania.
Tel. + 370 37 32 41 40 / 30 00 00, fax + 370 37 32 41 44, ktu.edu, e-mail ktu@ktu.lt
Data are collected and stored in the Register of Legal Entities, Code 111950581.
Faculty contacts: Radvilėnų St. 19, LT-50254 Kaunas, Lithuania.
Tel. (8 37) 30 01 50, fax. +370 37 30 01 52, ctf.ktu.edu, , e-mail ctf@ktu.lt

RECENZJA

pracy doktorskiej **Elizy Nazar** zatytułowanej
„Synthesis and properties of nanospherical drug carriers”
wykonanej na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej,
pod opieką promotorską prof. dr hab. Marka Bryjaka i prof. dr. Francesco Trotta

Nanocząsteczki, przenoszące leki do konkretnych miejsc w organizmie, to wielka nadzieja medycyny przyszłości. Wykorzystanie leków w takiej formie ułatwia jego dawkowanie, zmniejsza skutki uboczne, pozwala zwiększyć tolerancję pacjenta na lek oraz umożliwia efektywniejsze leczenie. Jednak trzeba przyznać, że skonstruowanie nanocząsteczek o pożądanym właściwościach fizykochemicznych oraz unieruchomienie w nich konkretnego związku aktywnego w taki sposób, aby nie straciłby on swojej aktywności, nie jest sprawą łatwą. Mimo, że tej tematyce jest poświęcono wiele badań to w praktyce takich leków jest jeszcze niewiele. W tym kontekście wybór tematyki rozprawy doktorskiej pani Elizy Nazar należy uznać za trafny, aktualny i ambitny. Jej praca jest bowiem poświęcona opracowaniu zarysu technologicznego dla syntezy nanocząsteczek z polimerów biokompatybilnych, immobilizowaniu cystatyny, oceny właściwości fizykochemicznych otrzymanych nanocząsteczek oraz ich działaniu farmakologicznemu.

Manuskrypt, napisany na języku angielskim, liczy 86 ponumerowanych stron i posiada klasyczną strukturę. Zawiera streszczenie na języku polskim, część wstępną, część literaturową (nazwaną wprowadzeniem – Introduction), opis stosowanych materiałów i metod, opis rezultatów i ich dyskusje, oraz wnioski. Spis cytowanej literatury zawiera 136 odnośniki. Co dotyczy strony formalnej manuskryptu, spełnia on wymagania stawiane pracom doktorskim, tekst jest napisany w sposób zwięzły (czasami aż zanadto) i dość łatwy w czytaniu. Pod względem edytorskim rozprawa została przygotowana niezbyt poprawnie, zawiera sporo błędów typograficznych, szczególnie w nazwach związków chemicznych, co świadczy o dość niestarannej edycji tekstu przez Doktorantkę.

W streszczeniu polskim i w części angielskiej autorka pracy przedstawia tematykę badań oraz cel i zadania pracy.

Część literaturowa zawiera 6 rozdziałów, rozbitych na podpunkty. Moim zdaniem ta część pracy została napisana poprawnie. Jest poświęcona omówieniu opracowań dotyczących sposobów

przenoszenia leków przez nanocząsteczki, metod wprowadzania do nanocząsteczek związków aktywnych, wykorzystaniu cystatyny jako leku oraz jako substancji kierującej nanocząstką. Przeważająca część cytowanej literatury pochodzi z ostatnich 10 lat. Analiza literaturowa wskazuje na to, że Doktorantka jest dobrze zorientowana w dziedzinie, w której realizowała swoją pracę doktorską.

W części doświadczalnej jest podany spis stosowanych materiałów i odczynników oraz wykazani ich dostawcy. W rozdziale czwartym są opisane metody, stosowane w pracy. Niestety, niektóre z nich są niewystarczająco wyczerpujące, jak, na przykład 4.4 (modyfikacja chitozanem). W metodyce 4.10 błędnie wskazano, że 0.5 M NaCl stosowano dla wymycia niezwiązanego białka, chociaż roztwory o takim stężeniu desorbują białko związane, jak to podano w rozdziale 5.1. Nie podana dokładność wykonywanych pomiarów.

Wyniki eksperymentalne zostały omówione w sposób zwarty, a najbardziej istotne dane podane w rysunkach i tabelach. Doktorantka syntezowała kilka rodzajów nanonośników z cyklodekstryn, chitozanu i z krzemianu. Poprzez modyfikację chemiczną otrzymała nanonośniki z powierzchniowymi grupami aminowymi pierwszorzędowymi, karboksylowymi lub hydroksylowymi, do których immobilizowała cystatynę. Badania właściwości fizykochemicznych cząstek pokazały, że otrzymane nanocząstki spełniają wymagania dla nanonośników stosowanych dla skierowanego dostarczania leków, mają odpowiednią wielkość, są stabilne i biokompatybilne. Biorąc pod uwagę toksyczność cytostatyków kinetykę uwalniania leków Doktorantka oceniła stosując hydrofilowe i lipofilowe ich analogi. Opierając się na otrzymanych wynikach, Doktorantka doszła do wniosku, że nośniki karbo-cyklodekstranowe są najlepsze do wiązania leków lipofilowych, natomiast nośniki krzemianowe, powlekanie chitozanem lub polietylenoiminą, mogą służyć do wiązania leków hydrofilowych.

Na szczególną uwagę zasługuje opracowana przez doktorantkę metoda oczyszczania cystatyny w skali laboratoryjnej poprzez obróbkę termiczną, filtrowanie i chromatografię powinowactwa. Oczyszczona takim sposobem cystatyna wykazała 1500-2000 razy większą aktywność w porównaniu z preparatem wyjściowym.

Na otrzymanych nanonośnikach z modyfikowaną powierzchnią Doktorantka różnymi metodami immobilizowała cystatynę poprzez kowalentne jej wiązania. Cytotoksyczność immobilizowanej cystatyny była oceniona w stosunku do kilku rodzajów komórek rakowych. Nie stwierdzono występowania cytotoksyczności nanocząstek bez analogów cytostatyków. W związku z tym wyniki pracy mogą być ocenione jako nowe, ciekawe i cenne pod względem naukowym i praktycznym.

Pytania dotyczące pracy:

1. Dziwi taka wysoka temperatura stosowana w metodyce oczyszczania cystatyny. Jaka jest termiczna odporność cystatyny, przy jakiej temperaturze białko denaturuje?
2. Z jakich względów przy określeniu kinetyki uwalniania leku z nanocząsteczek stosowano związki karotenoidowe, a nie białkowe?

3. Ogólnie wiadomo, że tlenek krzemu nie jest odporny przy pH powyżej 8 i się rozpuszcza. Czy wzięto to pod uwagę pokrywając krzemowe nanocząsteczki polietylenoiminą przy wysokich pH?

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska pani Elizy Nazar spełnia warunki określone w Ustawie o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki (Dz. U. z 2003, nr 65 poz. 595) i wnoszę do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie pani Elizy Nazar do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. Dr. Jolanta Liesiene
Katedra Chemii i Technologii Polimerów
Kowieński Uniwersytet Technologiczny

Kowno, 18 maja, 2015 r.