Prof. dr hab. Wiesław Stręk

Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych

Polska Akademia Nauk, Wrocław

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Dziekanat Wydziału Farmaceutycznego
z Oddziałem Analityki Medycznej
03-12-2015
Nr DF-559/2015

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Pawła Biernata

„Ocena możliwości zastosowania nanosfer krzemionkowych jako nośnika substancji leczniczych"

Rozprawa doktorska mgr. Pawła Biernata została wykonana w Katedrze i Zakładzie Technologii Postaci Leku na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Promotorem rozprawy jest prof. dr hab. Janusz Pluta.

Celem rozprawy było zbadanie możliwości zastosowania nanorozmiarowych sferycznych cząstek krzemionkowych jako nośnika wybranych substancji leczniczych w terapii. Badania obejmowały ocenę stopnia wiązania z powierzchnią nanosfer, kinetykę i stopień desorpcji leków tak w zakresie in vitro jaki i in vivo na wybranej grupie zwierzęcej (szczurów laboratoryjnych) dla określenia ich wydalania z organizmu i stopnia kumulacji w wybranych narządach.

Rozprawa doktorska mg. P. Biernata liczy 200 stron i składa się z 15 rozdziałów oraz dodatkowo wykazu rycin i tabel. Została poprzedzona spisem treści i wykazem użytych skrótów. We Wstępie do pracy rozdz.1 (str. 5-7) autor krótko przedstawił cele farmakologii opartej na metodach nanotechnologii w zastosowaniu wytwarzania nowych ulepszonych substancji leczniczych. Scharakteryzował nanomateriały jako struktury o rozmiarach poniżej 200 nm, które wykazywać mogą odmiennymi własnościami fizyczno-chemicznymi i biologicznymi. Tematyka rozprawy mgr. P. Biernata dotyczy amorficznych krzemionkowych materiałów nanorozmiarowych (1-200 nm) w postaci kulistej (nanosfery) o dużej powierzchni właściwej (5-10 m^2/g) , charakteryzujących się obecnością grup wodorotlenowych na powierzchni, które umożliwiają związanie różnych związków chemicznych i grup funkcyjnych. Wskazał również

na problemy stosowania trudno rozpuszczalnych nanorozmiarowych substancji leczniczych w medycynie co jest związane z ich uwalnianiem z organizmu przez system retikularno-sródbłonkowy. Autor wybrał do badań ceramiczne nanokulki krzemionkowe z uwagi na prostą metodą ich syntezy i stabilność chemiczną.

W rozdz. 2 **"Otrzymywanie nanosfer krzemionkowych"** (str. 8 -16) autor przedstawił różne metody syntezy nanosfer krzemionkowych, czyli cząstek SiO_2 zawierających wodę w oparciu technologię zol-żel. Metoda ta umożliwia otrzymanie cząstek o dużej czystości, kontrolowanych rozmiarach i przy relatywnie niskich kosztach.

W rozdz. 3 **„Właściwości nanosfer krzemionkowych"** (str. 17-21) zostałe przedstawione informacje dotyczące o hydrofilowosci nanosfer krzemionkowych, stabilności chemicznej, rozkładzie wielkości nanocząstek, dużej powierzchni właściwej osiągającej nawet kilkaset m^2/g, oraz biokompatybilności, umożliwiającej wprowadzenie do układów biologicznych bez funkcjonalizowania powierzchni.

W rozdz. 4 **„Zastosowanie nanosfer krzemionkowych w farmacji i medycynie"** (str. 22-30) autor przedstawił interesująco obszary możliwości zastosowania nanosfer krzemionkowych jako nośników leków, w diagnostyce i obrazowaniu, w terapii genowej i terapii onkologicznej. Niezależnie wskazał także na potencjalne ograniczenia i zagrożenia toksyczne w przypadku zastosowania zbyt dużych rozmiarów nanocząstek

W rozdz. 5 **„Adsorpcja"** (str. 31-39) autor przedstawił właściwości procesów adsorpcji na granicy faz ciało stałe - roztwór, wynikających z oddziaływań międzycząsteczkowych. Zjawisko adsorpcji powierzchniowej opisuje się modelem Langmuira, opierając się na założeniu monoatomowej cienkiej warstwy. Na tej podstawie zostały podane równania opisujące izotermy adsorpcji Langmuira. Podane zostały równania opisujące adsorpcję wielowarstwowych struktur w oparciu o prawo Freudenlicha.

Na str. 40 zostały wymienione dwa rozdziały: **6. Część doświadczalna i 7. Cel pracy.**

W tym miejscu redakcja rozprawy jest niefortunna. Nie ma potrzeby oznaczać części doświadczalnej jako rozdz. 6, jeśli nie poświęcono mu nawet jednego zdania. Natomiast w omówieniu celów pracy przedstawiono skromnie tylko 4 zdania.

W rozdz. 8 „**Materiały i metody badań**" (str. 41-120) została przedstawiona charakterystyka materiałów zastosowanych w badaniach i używany sprzęt (8.1), w podrozdz. 8.2 przedstawiono metody badawcze procesów adsorpcji i stabilności badanych układów, przede wszystkim przez pomiar absorbancji. Wykazał, że najbardziej stabilnym jest układ absorbat-adsorbent po odwirowaniu.

Uwaga dot. redakcji- na str. 43 opis ryc. 11 jest również niefortunnie umieszczony, nie bezpośrednio pod rysunkiem ale w tekście pracy.

W części 8.2.3 autor przedstawił metodykę badań przeprowadzonych na zwierzętach. Do badań zostały użyte dwa rodzaje zawiesin nanosfer krzemionkowych o mniejszych rozmiarach ok. 50 nm oraz większych rozmiarach ok. 150 nm (cząstki w przedziale 100-200 nm) o stężeniu ok. 0.5 mg/cm^3. Badania na zwierzętach prowadzono zgodnie z procedurą zatwierdzoną przez Lokalną Komisję Bioetyczną. Wyniki badań opracowane zostały z pomocą programu statystycznego Statistica Pl.

W kolejnych podrozdziałach autor przedstawił wyniki badań procesów adsorpcji i desorpcji wybranych substancji leczniczych i ich oceny na podstawie izoterm Langmuira i Freundlicha, m.in.: błękitu metylenowego (traktowanego jako substancja referencyjna-wzorcowa), diklofenaku sodowego (składnika leków przeciwbólowych i przeciwzapalnych), paracetamolu (niesteroidowego leku przeciwzapalnego),chlorowodorku tetrakainy (substancji o właściwościach zasadowych), famotydyny (słaborozpuszczalna substancja zasadowa w wodzie), chlorowodorku prokainy oraz antybiotyków w postaci chloramfenikolu, gentamycyny, ceftazydymu. Autor przeprowadził badania w sposób systematyczny, uzyskując cały szereg interesujących i ważnych dla przyszłych aplikacyjnych wyników. Uzyskał cały szereg ciekawych wyników, wskazujących na zależność czasu desorpcji od stężenia substancji i rozmiarów nanosfer.

W podrozdz. 8.5 autor przedstawił wyniki badań zmian pH na procesy desorpcji substancji czynnych z powierzchni nanosfer krzemionkowych oraz wpływu ilości

nanosfer na pH zawiesiny (wynik był negatywny). W podozdz. 8.5 przedstawił również wyniki badań kinetyki wydalania nanosfer krzemionkowych z organizmu zwierząt doświadczalnych oraz możliwości kumulacji w głównych narządach. Pomiaru dokonał poprzez oznaczenie gęstości moczu, stężenia krzemu oraz kinetykę jego wydalania.

W rozdz. 9 **„Dyskusja"** (str. 121- 130) autor podsumował uzyskane wyniki, wskazując na najważniejsze z nich: za proces adsorpcji na powierzchni nanocząstek odpowiadają głównie wiązania wodorowe, siły Van der Walsa oraz tzw. wiązania π w cząsteczce adsorbatu. Sole słabej zasady i silnego kwasu wykazują zawsze silną adsorpcję oraz, że sole słabych zasad i mocnych kwasów wykaziją większe powinowactwo do powierzchni nanosfer krzemionkowych niż sole mocnych zasad i słabych kwasów. Wyniki uzyskane dla zbadania procesów desorpcji są również oryginalne i zasługują na publikacje, ponieważ powiązane były z badaniami *in vivo*.

Lista ważnych wyników rozprawy jest znacznie szersza, chociaż autor we wnioskach ograniczył się do wymienienia tylko 8. Odnoszę wrażenie, że będą one przedmiotem oddzielnych publikacji.

W rozdz. 10 **„Wnioski"** str. 131 autor na jednej stronie zestawił 8 najważniejszych wyników pracy, z których moim zdaniem najważniejszym jest stwierdzenie że „zwiększona kumulacja nanosfer krzemionkowych o mniejszej średnicy może zostać wykorzystania w terapii celowanej".

Autor kończy rozprawę powtórnym podsumowaniem uzyskanych wyników w rozdz. 11 **„Podsumowanie"** (str. 132-133) oraz całkiem już zbędnym **„Streszczeniem"** jako rozdz. 12 (str. 133-134).

Do pracy dołączono krótkie podsumowanie w języku angielskim **„Summary"** na str. 134-135.

W części końcowej pracy na stronach 135-176 autor przedstawił w postaci tabel pomocniczych wyniki ilościowe swoich eksperymentalnych danych.

W rozdz. 15 „Piśmiennictwo" autor zestawił listę 114 publikacji naukowych, do których odnosił się swojej rozprawie.

Wykaz rycin i tabel zamieszczonych w rozprawie autor przedstawił na str. 191-200.

Moja ocena rozprawy doktorskiej mgra. P. Biernata jest generalnie pozytywna. Uzyskał cały szereg ważnych rezultatów, które z pewnością znajdą zastosowania medyczne. Zasadniczym elementem badań było otrzymanie nanosfer krzemionkowych o dobrze zdefiniowanej morfologii (kształt, rozmiary, rozkład rozmiarowy, stopień zagregowania. Nie bardzo się zorientowałem z lektury rozprawy, czy autor przeprowadzał syntezy nanocząstek w Instytucie Materiałoznawstwa i Mechaniki Technicznej Politechniki Wrocławskiej, czy też były mu przekazane, ponieważ w części opisowej poświęcił ich syntezie szeroki opis. Zdecydowanie brak jest badań morfologii otrzymanych nanocząstek, np. na podstawie zdjęć z mikroskopii elektronowej (TEM, SEM). Redakcja pracy również budzi szereg zastrzeżeń, ale wynikają one prawdopodobnie z pośpiesznej redakcji.

Powyższe uwagi nie umniejszają mojej pozytywnej oceny rozprawy. Uważam, że rozprawa doktorska mgr. Pawła Biernata, ubiegającego się o stopień naukowy doktora, spełnia wymagania stawiane rozporządzeniem Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego i wnoszę o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, dn. 27.11. 2015