

Kędzierzyn-Koźle, dnia 07.07.2022r.

Dr hab. inż. Jolanta Łowska

Sieć Badawcza Łukasiewicz - Instytut Ciężkiej Syntezy Organicznej „Blachownia”

47-225 Kędzierzyn-Koźle

Ul. Energetyków 9

Recenzja

pracy doktorskiej Pani mgr inż. Anny Drabczyk pt. „**Nanocząstki magnetyczne
jako nośniki leków przeciwnowotworowych**”

wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Bożeny Tyliczszak, profesor Politechniki Krakowskiej
i promotora pomocniczego dr n. biol. lek. med. Magdaleny Kędzierskiej.

Ocenę opracowano na podstawie przekazanej pracy doktorskiej pt. „Nanocząstki magnetyczne jako nośniki leków przeciwnowotworowych” obejmującej opracowanie Doktorantki zawarte na 173 stronach wraz z dorobkiem Doktorantki na kolejnych 7 stronach.

Informacje ogólne dotyczące pracy doktorskiej i dorobku naukowego

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Anny Drabczyk zatytułowana „Nanocząstki magnetyczne jako nośniki leków przeciwnowotworowych” została zrealizowana na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Fizyki, Katedrze Inżynierii Materiałowej Politechniki Krakowskiej pod kierunkiem dr hab. inż. Bożeny Tyliczszak, profesor Politechniki Krakowskiej. Promotorem pomocniczym pracy była Pani dr n. biol. lek. med. Magdalena Kędzierska.

Doktorantka jest współautorką 35 publikacji, w tym 6 publikacji związanych bezpośrednio z tematyką pracy. Zdecydowana większość artykułów opublikowana jest w czasopismach o zasięgu międzynarodowym (*m. in. Materials, Molecules, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, Journal of Polymer Research, International Journal of Polymer Analysis and Characterization, International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*). Pani mgr inż. Anna Drabczyk jest również współautorką dwóch rozdziałów w monografiach naukowych

SEKRETARIAT WIITCH

Wpłynęło dnia... 21.07.2024...

L.Dz. 1104

(Sustainable Production: Novel Trends in Energy, Environment and Material Systems, Springer, s. 61-74, DOI: 10.1007/978-3-030-11274-5, ISBN: 978-3-030; Acrylic polymers in Healthcare, InTech, s. 26-42, DOI: 10.5772/intechopen.69008. ISBN: 978-953-51-3594-4). Dorobek Doktorantki uzupełniają: wystąpienia na osiemnastu konferencjach naukowych, krajowych i międzynarodowych; autorstwo i współautorstwo ponad osiemdziesięciu plakatów prezentowanych na konferencjach krajowych i międzynarodowych oraz liczne medale i nagrody (w sumie 27). Pani mgr inż. Anna Drabczyk ma na swoim koncie dwie nagrody indywidualne: za Wybitne Osiągnięcia na Rok Akademicki 2018/2019 uzyskała stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz uzyskała Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców w roku 2020.

Indeks Hirscha Doktorantki wynosi 7, a prace Doktorantki były cytowane już 155 razy. To bardzo dobre wskaźniki, które pozwalają na zakwalifikowanie Doktorantki do grona najwybitniejszych młodych naukowców.

Wprowadzenie: Aktualność i ocena tematyki badawczej

Pomimo dynamicznego rozwoju onkologii, wciąż brakuje skutecznych metod leczenia chorób nowotworowych. W Polsce, pod względem częstości występowania chorób nowotworowych wśród kobiet, piąte miejsce zajmuje rak jajników. Wyleczalność raka jajników w I i II stopniu zaawansowania wynosi 60–80 %, natomiast w III i IV stadium jest to tylko 30–40 %. Efektywność diagnostyki decyduje o możliwości skutecznego leczenia. Potrzeba ciągłego ulepszania znanych metod wykrywania i leczenia nowotworów spowodowała, że istotna część badań nad nanocząstkami dotyczy ich zastosowania w medycynie. Wykorzystanie specyficznych właściwości nanomateriałów w terapii celowanej należy do wiodących tematów badawczych we współczesnej farmakologii i farmakoterapii. Możliwość wykorzystania nanomateriałów jako narzędzia umożliwiającego wykrywanie, leczenie i monitorowanie chorób nowotworowych jest bardzo interesująca z punktu widzenia naukowo-badawczego i obiecująca z punktu widzenia zastosowania w praktyce. Problematyka wytwarzania nanomateriałów, modyfikacji ich powierzchni jest przedmiotem wielu obecnie prowadzonych badań. Recenzowana praca dotyczyła opracowania nanocząstek magnetycznych o sfunkcjonalizowanej powierzchni połączonej z wybranymi lekami chemioterapeutycznymi, które mają zwiększać skuteczność chemioterapii, jednocześnie ograniczając towarzyszące jej skutki uboczne. Zagadnienie badawcze podjęte przez Doktorantkę i jego zakres były w pełni uzasadnione zarówno w aspekcie naukowym, jak i w aspekcie społecznym.

Charakterystyka rozprawy

Przedstawiona do recenzji praca poświęcona jest badaniom nad opracowaniem nanocząstek magnetycznych, ich otrzymywania, funkcjonalizacji powierzchni, umożliwiającej zastosowanie otrzymanych materiałów do „transportu” wybranych leków chemioterapeutycznych do miejsca występowania komórek nowotworowych w organizmie ludzkim. Istotnym aspektem prowadzonych

prac badawczych była modyfikacja powierzchni nanomateriałów magnetycznych za pomocą nanocząstek metalicznych i za pomocą materiału polimerowego oraz ocena cytotoksyczności otrzymanych nośników.

Rozprawa doktorska została napisana w sposób typowy dla prac badawczych eksperymentalnych. Do zasadniczych elementów pracy należą: część literaturowa (58 stron) i część badawcza (102 strony). Całość opracowania uzupełnia spis literatury oraz część dokumentująca dotychczasowy dorobek naukowy Autorki. Praca liczy 160 stron i zawiera 96 rysunków oraz 15 tabel. Formalna kompozycja przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej spełnia obowiązujące standardy.

W ramach części wprowadzającej zatytułowanej *Problematyka badawcza i znaczenie podejmowanego tematu*, Doktorantka w sposób zwięzły scharakteryzowała podstawowe zagadnienia związane z podjętym problemem badawczym; tj. opracowania na bazie nanocząstek magnetycznego tlenku żelaza Fe_3O_4 nośnika leków chemioterapeutycznych, którego powierzchnię Autorka poddała modyfikacji za pomocą nanosrebra lub nanozłota oraz materiału polimerowego poli(glikolu etylenowego). Opracowane nośniki miały za zadanie przenoszenie („transportowanie”) do miejsc zmienionych nowotworowo cytostatyków wykorzystywanych w chemioterapii skojarzonej: cisplatyny (cis-diaminodichloroplatyny (II)) i paklitakselu (alkaloidu terpenowego). Ze względu na to, iż chemioterapia skojarzona jest bardzo efektywna w przypadku leczenia nowotworu jajnika, Doktorantka zaproponowała zastosowanie nowo opracowanych nośników do leczenia nowotworu jajnika oraz guzów nieoperacyjnych.

W dalszej części pracy Autorka w oparciu o dostępne publikacje przedstawiła i przedyskutowała zagadnienia dotyczące przedmiotu swoich badań. W rozdziale 3 przedstawiła problematykę chorób nowotworowych, a w niej najnowsze dane statystyczne, oraz scharakteryzowała kancerogenezę i czynniki onkogenne oraz opisała metody leczenia chorób nowotworowych, koncentrując się na chemioterapii skojarzonej. W tej części omówiła również leki cytostatyczne i sposoby ich dostarczania, szczegółowo opisując rolę nośników tych leków oraz ich działanie. W podsumowaniu części literaturowej Autorka zestawiała w tabeli 1 zalety i wady podstawowych metod leczenia nowotworów.

Rozdział 4 dotyczył stanu wiedzy na temat nanomateriałów, ich klasyfikacji, ogólnego sposobu otrzymywania, właściwości oraz obszarów zastosowania. W rozdziale 5 Doktorantka omówiła nanocząstki magnetyczne przedstawiając ich ogólną charakterystykę i sposoby otrzymywania, z których najobszerniej omówiła metody chemiczne. Osobne rozdziały poświęcono zagadnieniom dotyczącym materiałów wykorzystywanych do modyfikacji i metodom modyfikacji powierzchni nanocząstek magnetycznych oraz ich zastosowaniu w medycynie.

Analizując omawiane zagadnienia Autorka wykorzystwała i poddała dyskusji 219 pozycji literaturowych związanych z tematyką pracy, wśród których około 70 % zostało opublikowanych w ciągu ostatnich 5 lat, co uwidacznia nowatorski i rozwojowy charakter pracy.

Część Badawcza stanowi najobszerniejszy rozdział rozprawy doktorskiej. W części tej Doktorantka przedstawiła i scharakteryzowała: wykorzystywane w syntezach reagenty, warunki prowadzenia syntez nanocząstek magnetycznych Fe_3O_4 , warunki powlekania nanocząstek magnetycznych Fe_3O_4 nanocząstkami metalicznymi (nanosrebrem lub nanozłotem), warunki funkcjonalizacji nanocząstek magnetycznych powleczonych nanozłotem lub nanosrebrem za pomocą poli(glikolu etylenowego) oraz warunki otrzymywania nanocząstek magnetycznych połączonych z lekiem cytostatycznym. Do scharakteryzowania produktów otrzymanych w wyżej wymienionych procesach zastosowano metody: dynamicznego rozpraszania światła (DLS), spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR), spektroskopii w nadfiolecie oraz w świetle widzialnym (UV-Vis), dyfrakcji rentgenowskiej (XRD), skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) z systemem EDS oraz transmisyjną mikroskopię elektronową (TEM). Zastosowane metody badawcze zostały prawidłowo dobrane, stanowią one standardowe metody w badaniu nanomateriałów.

Doktorantka do otrzymania nanocząstek magnetycznych zastosowała metodę chemiczną współstrącania Massarta prowadząc syntezę w środowisku o odczynie zasadowym. Realizując pracę eksperymentalną poddała analizie wpływ stosunku molowego jonów żelaza ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$), pH środowiska reakcji, temperatury syntezy, dostępu tlenu do środowiska reakcyjnego, intensywności mieszania na rozkład wielkości, skład fazowy, morfologię czy też strukturę chemiczną i krystaliczną otrzymanych nanocząstek magnetycznych Fe_3O_4 . Otrzymane nanocząstki przed analizą przemywano w ustalonych przez Doktorantkę warunkach wybranym rodzajem środka (testowane były woda destylowana oraz cytrynian sodu). Następnie za pomocą analizy SEM-EDS Doktorantka określiła skład pierwiastkowy otrzymanych próbek nanomateriałów. W kolejnym kroku pracy za pomocą analizy metodą XRD zbadała wpływ użytego środka przemywającego na strukturę krystaliczną otrzymanego materiału oraz czystość fazową otrzymanego materiału (w przypadku użycia cytrynianu sodu o stężeniu 0,1 M, przemyty materiał nie zawierał pozostałości reakcyjnych, a jego struktura była krystaliczna). Otrzymane wyniki potwierdzały kubiczną strukturę odwróconego spinelu). Przeprowadzona przez Doktorantkę analiza spektroskopowa potwierdziła spinelową strukturę materiału Fe_3O_4 jednocześnie umożliwiła zaobserwowanie i skrupulatne wyjaśnienie pasm pochodzących od drgań zginających cząsteczek wody oraz drgań rozciągających wiązania O-H, badanego materiału. Po przemyciu Doktorantka przeprowadziła również analizę rozmiaru cząstek metodą DLS.

W kolejnym etapie badań (punkt 10, podpunkt b. – str.96) nanocząstki magnetyczne otrzymane w rezultacie syntezy Massarta zostały przez Doktorantkę poddane procesowi otoczkowania nanosrebrem oraz nanozłotem. W procesie otoczkowania nanosrebrem Doktorantka jako źródło

jonów srebra zastosowała azotan srebra natomiast rolę środka redukującego jony srebra do srebra metalicznego pełnił chlorowodorek hydroksyloaminy.

Proces otoczkowania Doktorantka poprzedziła badaniami nad doбором środka stabilizującego (zabezpieczającego przed agregacją otrzymanego nanomateriału) oraz badaniami wpływu rodzaju środowiska reakcyjnego na właściwości cząstek (woda, olejek eteryczny, w/o w różnym stosunku). Oprócz tych badań prowadziła prace z wykorzystaniem sonikacji – zastosowania fal dźwiękowych o wysokiej częstotliwości (ultradźwięków) w celu dezintegracji aglomeratów wytworzonych nanomateriałów, a skuteczność tej metody Doktorantka weryfikowała ponowną analizą rozmiaru cząstek. Otrzymane w różnych środowiskach materiały zostały zanalizowane spektrofotometrycznie w celu potwierdzenia uformowania warstwy nanosrebra na powierzchni nanocząstek. W rezultacie tych badań do procesu otoczkowania jako środka stabilizującego użyła 3% (masowo) roztworu gumy arabskiej, a sam proces prowadziła w układzie dwufazowym (w stosunku objętościowym olejku eterycznego do wody destylowanej 1,0 : 1,4). Wykorzystując technikę UV-Vis doktorantka potwierdziła powstanie nanocząstek $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}$, a za pomocą metody DLS wykonała analizę rozmiaru cząstek. Doktorantka wykorzystując FT-IR scharakteryzowała strukturę chemiczną otrzymanego materiału, a analizę jego krystaliczności przeprowadziła metodą XRD. Metoda XRD potwierdziła strukturę krystaliczną badanego materiału, a zaobserwowane na dyfraktogramie piki okazały się charakterystyczne dla regularnej płasko-centrycznej kubicznej struktury krystalicznej srebra. Uzupełnieniem tej części badań było wykorzystanie skaningowej mikroskopii elektronowej sprzężonej z systemem EDS dla scharakteryzowania powierzchni otrzymanych nanomateriałów oraz zweryfikowanie ich składu pierwiastkowego. Przeprowadzając wymienioną metodą punktową analizę pierwiastkową w badanym materiale Doktorantka stwierdziła obecność pierwiastków takich jak żelazo, tlen oraz srebro potwierdzając wytworzenie się na nanomateriale otoczki z nanosrebra.

W rozdziale 10 c. na stronie 124 zachowując identyczną, przyjętą metodologię badań Doktorantka otrzymała nanomateriał $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}$. Źródłem jonów Au^{3+} był kwas tetrachlorozłotowy (III), a środkiem redukującym jony złota Au^{3+} do Au^0 chlorowodorek hydroksyloaminy. Doktorantka podobnie jak w przypadku $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}$ na podstawie badań wpływu środowiska reakcyjnego na powstawanie aglomeratów nanocząstek, stwierdziła, że najkorzystniejszym środowiskiem jest środowisko dwufazowe, wodno-olejowe o identycznym stosunku objętościowym wody destylowanej do olejku eterycznego. W przypadku otrzymywania nanomateriałów magnetycznych otoczkowanych nanozłotem, Doktorantka określiła również wpływ środowiska reakcji, czasu sonifikacji, stosunku molowego reagentów, temperatury podwyższonej do 80°C na rozmiar cząstek oraz stabilność ich zawiesin. Dla potwierdzenia uzyskania nanocząsteczek otoczkowanych powłoką z nanozłota przeprowadziła analizę morfologii SEM połączoną z punktową analizą pierwiastkową. W badanym materiale stwierdziła obecność takich pierwiastków jak tlen, żelazo i złoto.

Przed funkcjonalizacją materiałem polimerowym za pomocą poli(glikolu etylenowego), ze względu na proponowane przez Doktorantkę wykorzystanie opracowanych materiałów do celów medycznych, a w szczególności do celowanego dostarczania chemioterapeutyków, Autorka pracy przeprowadziła analizę ich cytotoksyczności. Do analizy zastosowała badania: aktywności przeciwdrobnoustrojowej badanych zawiesin, analizy cytotoksyczności z wykorzystaniem testu redukcji MTT połączonej z obrazowaniem za pomocą mikroskopu konfokalnego, wpływu zawiesin na proces gojenia się ran oraz analizy aktywności prozapalnej zawiesin nanocząsteczek. Na podstawie badań aktywności przeciwdrobnoustrojowej względem *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™ oraz *Staphylococcus epidermidis* ATCC® 12228™ Doktorantka zaobserwowała, że $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}$ charakteryzują się lepszym działaniem przeciwdrobnoustrojowym w porównaniu do nanocząstek $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}$. Analizę cytotoksyczności z wykorzystaniem testu redukcji MTT również wykonała dla różnych, typów otrzymanych zawiesin. Na podstawie otrzymanych przez Autorkę rezultatów wynika, że po odpowiednim rozcieńczeniu zawiesiny nanocząstek $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}$ i $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}$ nie wykazują cytotoksyczności względem fibroblastów mysich L929. Zawiesiny nanocząstek $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}$ i $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}$ również po odpowiednim rozcieńczeniu nie wykazują negatywnego wpływu na proces gojenia się ran. Doktorantka stwierdziła, że otrzymane przez nią zawiesiny nanocząstek nie odznaczają się aktywnością prozapalną, a otrzymane wyniki badań zbliżone są do wyników otrzymanych z wykorzystaniem niestymulowanych monocytów w podłożu hodowlanym.

Uzyskując pozytywne wyniki analizy cytotoksyczności otrzymanych zawiesin Doktorantka w kolejnym kroku zrealizowała badania dotyczące otrzymania nanocząstek magnetycznych funkcjonalizowanych nanocząstkami metalicznymi oraz poli(glikolem etylenowym) – $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}@PEG$ i $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}@PEG$. Otrzymany materiał Autorka poddała analizie spektroskopowej FT-IR, bardzo wnikliwie scharakteryzowała i omówiła otrzymane wyniki, które potwierdziły prawidłowy proces PEGylacji. Następnie wykonała analizę rozmiaru $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}@PEG$ za pomocą metody DLS (170 nm), po 15 minutach sonikacji powtórzyła pomiar (96 nm). Analogiczne prace przeprowadziła dla $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}@PEG$ uzyskując materiał o rozmiarze 105 nm, a po sonikacji 88 nm. Opracowane układy wykazywały stabilność -charakteryzowały się niemal tym samym rozmiarem w ciągu trzech dni po ich syntezie.

Doktorantka na Mikrofotografiach TEM nanocząstek $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}@PEG$ i $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}@PEG$ zaobserwowała cząstki o rozmiarze poniżej 100 nm i stwierdziła, że nanocząstki otoczkowane nanosrebrem i PEG występują w dużych skupiskach co uniemożliwia ujęcie pojedynczych cząstek. W przypadku nanocząstek otoczkowanych nanozłotem oraz PEG obserwowano zupełnie odmienne rozmieszczenie cząstek w badanej zawieszynie i można było zaobserwować pojedyncze cząstki. Autorka przy zastosowaniu analizy MTT z wykorzystaniem linii komórkowej fibroblastów ludzkich poddała otrzymane nanomateriały badaniu ich cytotoksyczności. Za pomocą tej techniki jednoznacznie

wykazała brak cytotoksyczności nanocząstek $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au@PEG$ względem badanej linii komórkowej (żywołność komórek powyżej 70 %). W przypadku nanocząstek $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ag@PEG$ żywołność komórek wynosiła około 50 % co potwierdza cytotoksyczność działania tych układów i wyklucza ich potencjalne zastosowanie jako nośniki leków cytostatycznych.

Ostatnim zadaniem badawczym Doktorantki było zastosowanie nanocząstek $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au@PEG$ jako nośnika leków. Doktorantka modyfikowała powierzchnię nośnika cisplatyną, palitakselem oraz cisplatyną i palitakselem. Za pomocą techniki FT-IR poddała weryfikacji otrzymane układy nośnik-lek.

Otrzymane wyniki potwierdziły występowanie oddziaływań pomiędzy nośnikiem, a substancją aktywną. Autorka pracy otrzymane układy poddała analizie cytotoksyczności względem linii komórkowej SK-OV-3. Na podstawie otrzymanych wyników mogła potwierdzić działanie cytotoksyczne wszystkich opracowanych układów. Nośniki modyfikowane pojedynczymi lekami wykazują żywołność badanych komórek w przypadku pierwszego na poziomie 31,1 %, a w przypadku drugiego 27,9 %.

Ocena pracy i uwagi

Recenzowana praca obejmuje istotny z punktu widzenia naukowego i aplikacyjnego temat syntezy nanocząstek magnetycznych ich modyfikacji nanosrebrem lub nanozłotem oraz poli(etyleno glikolem). Podjęta tematyka została potraktowana przez Doktorantkę kompleksowo z uwzględnieniem zagadnień związanych z wytwarzaniem i wpływem wielu różnych czynników na produkt końcowy, oceną właściwości i zastosowania produktu finalnego, co stanowi bardzo mocną część pracy.

Analizując wyniki przeprowadzonych przez Doktorantkę badań można jednak sformułować kilka uwag o charakterze merytorycznym:

1. POMIARY DLS

Analiza DLS otrzymywanych nanocząstek jest istotną i obszerną częścią pracy. Przedstawienie wyników pomiarów DLS powinno być w mojej opinii nieco inne, a opis metodyki bardziej kompletny. Uwagi są następujące:

- a) W metodzie DLS mierzymy rozmiar cząstek, które są porównywane do cząstek kulistych, a równanie Stokesa-Einsteina pozwala wyznaczyć ich promień lub średnicę, zwane odpowiednio promieniem hydrodynamicznym i średnicą hydrodynamiczną. Autorka nie podała co oznacza „rozmiar” mierzonych cząstek, czy jest to średnia średnica hydrodynamiczna czy średni promień hydrodynamiczny. Wprawdzie, z postaci równania Stokesa-Einsteina wynika, że jest to promień hydrodynamiczny (str. 80), nie mniej jednak taka informacja powinna zostać podana w opisie parametrów występujących w równaniu. Średnica jest dwa razy większa niż promień, więc np. cząstki o promieniu 88 nm będą miały średnicę 166 nm, więc ich rozmiar już nie będzie w zakresie nanometrycznym, którego umowna granica wynosi 100 nm.

- b) Autorka nie opisała wystarczająco precyzyjnie warunków pomiarów DLS. Nie podano kąta pomiarów, od którego dość istotnie zależy rozmiar mierzonych cząstek. Nie jest to sprawa oczywista, ponieważ podstawowa wersja aparatu Zetasizer Nano ZS wykonuje pomiary pod kątem 173° natomiast są modele, które robią to pod kątem 90° . Przy pomiarach DLS zawsze należy podać kąt.
- c) Nie wskazano algorytmu, według którego dane były analizowane. Podstawowa wersja aparatu Zetasizer Nano ZS podaje wyniki według algorytmu CONTIN i metody kumulant, wyniki mogą się różnić.
- d) W pracy wyniki otrzymane metodą DLS przedstawiono w postaci wykresów zależności rozmiaru cząstek od intensywności rozpraszanego światła. Do wykresów mam następujące uwagi:
- Dlaczego nie przedstawiono wyników w skali logarytmicznej? Według mojej opinii jest to dużo korzystniejsze, między innymi dlatego, że wyniki odnoszące się do małych rozmiarów, tj. mniejszych niż 100 nm, tak istotnych dla omawianej pracy, są dużo bardziej czytelne. Na przykład, na rys. 53, 54 i 57 pojawia się pik odpowiadający bardzo niewielkim rozmiarom. Pik ten pominięto w opisie wykresów DLS. Czemu odpowiada ten pik? Zastosowanie skali logarytmicznej na wykresach sprawiłoby, że pik ten byłby lepiej widoczny.
 - W pracy nie podano wartości PDI (zapewne dlatego, że część wyników otrzymano w postaci multimodalnych rozkładów wielkości cząstek i PDI jest bliskie 1), natomiast wykresy nie są przedstawione w tej samej skali, tzn. na przykład na rys. 27 oś x kończy się na 10 000 nm, a na rys. 28., na 6 000 nm. Takie przedstawienie rozkładów wielkości cząstek znacznie utrudnia porównanie ich szerokości. Taka sama skala wszystkich wykresów pozwoliłaby na czytelne porównanie dyspersji rozmiarów. Moim zdaniem, brakuje przedstawienia danych z analizy DLS w postaci tabeli lub tabel. Takie zestawienie znacznie ułatwiłoby analizę wyników, szczególnie zmiany rozmiaru cząstek w wyniku sonikacji i otoczkowania.
2. Jako modelową fazę olejową użyto olejków eterycznych, skąd taki wybór? Nie jest to prosta substancja, ale mieszanina. Jakiego olejku użyto?
3. Na str. 152 pokazano mikrofotografie TEM nanocząstek $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}@\text{PEG}$, Autorka opisuje, że na tych mikrofotografiach widoczne są skupiska nanocząstek. Na wykresie DLS (rys. 88 i 89) te skupiska nie są widoczne. Skąd ta nieścisłość? Autorka pisze: „Brak rozproszenia tych układów uniemożliwił ujęcie pojedynczych nanocząstek.”, natomiast na DLS widnieją rozkłady monomodalne, na których widać te „pojedyncze” cząstki o rozmiarach 88 nm i 105 nm.
4. Podsumowanie i wnioski: „Analiza spektroskopowa FT-IR przeprowadzona dla układów nośnik – lek cytostatyczny potwierdziła występowanie oddziaływań pomiędzy $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}@\text{PEG}$ a zastosowanym chemioterapeutykiem. Na stronie 160 „wykazano, że oddziaływania te mają

odmienny charakter. W przypadku układu nośnik – paklitaksel potwierdzono występowanie oddziaływań fizycznych w postaci wiązań wodorowych. Natomiast dla układów zawierających cisplatynę wykazano obecność oddziaływań chemicznych w postaci wiązania kowalencyjnego pomiędzy nośnikiem a lekiem.” Zatem wykazano, że są oddziaływania między nanocząstkami a lekami, natomiast nie opisano, co wynika z występowania tych oddziaływań. Czy są to oddziaływania oczekiwane i czy decydują one o możliwości potencjalnego zastosowania nośnika wraz z lekiem?

5. W mojej opinii brakuje kilku zdań podsumowania przed wypunktowanymi elementami „podsumowanie i wnioski”. Przypomnienie w kilku zdaniach celu pracy i przebiegu badań na pewno ułatwiłoby czytelnikowi podążanie za wnioskami Autorki.

Należy tutaj nadmienić, że uwagi te mają charakter dyskusyjny i nie wpływają na wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej.

Podsumowanie

Opracowanie koncepcji badań, uporządkowania planu eksperymentalnego i analiza uzyskanych podczas realizacji pracy eksperymentalnej wyników wymagały od Doktorantki bardzo dobrego przygotowania teoretycznego z zakresu inżynierii materiałowej, technologii chemicznej, nanotechnologii, biotechnologii oraz znajomości technik wybranych analiz medycznych.

Dzięki właściwemu zaplanowaniu i zrealizowaniu obszernego zakresu badań związanych z podjętą tematyką Doktorantka osiągnęła wyznaczony cel. Rezultaty badań, których wyniki przedstawiono w dysertacji, zaowocowały opracowaniem koncepcji technologicznej wytwarzania nanomateriałów magnetycznych o sfunkcjonalizowanej powierzchni będącymi nośnikami wybranych leków chemioterapeutycznych. Niezależnie od skrupulatnej analizy wyników otrzymanych podczas przeprowadzonych eksperymentów, Autorka scharakteryzowała otrzymany układ nośnik-lek oraz przedstawiła ocenę jego oddziaływania na komórki nowotworowe SK-OV-3. Uważam, że jest to bardzo ważne z punktu widzenia możliwości zastosowania praktycznego omawianych nanomateriałów w przyszłości.

Podkreślić w tym miejscu należy fakt, że część uzyskanych wyników została już przez Doktorantkę opublikowana w recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, co potwierdza trafność przyjętego kierunku badań i jakość uzyskanych wyników.

Podsumowując uważam, że przedstawiona rozprawa doktorska Pani mgr inż. Anny Drabczyk spełnia warunki stawiane pracom doktorskim w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 wraz z późniejszymi zmianami). W związku z tym wnioskuję do Rady Naukowej Wydziału Inżynierii i

Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie jej do dalszego procedowania.

Dodatkowo, mając na uwadze jakość realizacji szerokiego zakresu wykonywanych badań, wnikliwość badawczą Doktorantki oraz przedstawiony dorobek naukowy wnioskuję o wyróżnienie ocenianej rozprawy doktorskiej zgodnie z Kryterium wyróżnienia prac doktorskich na Politechnice Krakowskiej.

Jolanta Florko

Uwagi redakcyjne

W swojej pracy Doktorantka popełniła bardzo mało błędów edycyjnych. Poniżej przedstawiam listę błędów:

- str. 55, 2 akapit, 8 wers od góry po kropce zdanie powinno rozpocząć się z dużej, a nie małej litery,
- str.62, 2 wers od góry drugie się w zdaniu można pominąć,
- str.76, d 2 akapit, 4 wers od góry, brak zamknięcia nawiasu,
- str. 131, 3 wers od góry, zamiast a w słowie pierwiastkowa powinno być ą,

Jolanta Fluska