

Warszawa, 1st April, 2025.

Autor rozprawy doktorskiej: **Neha Venkatesh RANGAM**

Promotor: **dr hab. Beata Lesiak-Orlowska**

*Drugi promotor (*ewentualnie, tylko w przewodach doktorskich): **dr hab. Laszlo Kover**

.....

Promotor pomocnicy:

Temat rozprawy doktorskiej: **Unraveling the chemistry behind the biological activity of green silver nanocomposites**

Polish Streszczenie

Rak nadal stanowi poważne globalne wyzwanie zdrowotne, pochłaniając miliony istnień ludzkich każdego roku i wywierając głęboki wpływ na jednostki, rodziny i społeczności. Konwencjonalne terapie mogą mieć poważne skutki uboczne i lekooporność, co wymaga opracowania bardziej biokompatybilnych i ukierunkowanych metod leczenia. Rozwijająca się dziedzina zielonej nanotechnologii utorowała drogę zrównoważonym i przyjaznym dla środowiska metodom syntezy nanokompozytów metalowych. Takie podejście nie tylko minimalizuje niebezpieczne produkty uboczne, ale także zwiększa biokompatybilność i bioaktywność nanomateriałów dzięki obecności bioaktywnych fitochemikaliów.

Niniejsza rozprawa dotyczy zielonej syntezy nanokompozytów srebra z wykorzystaniem odpadów browarniczych (BW) etapów 5 (BW5), 7 (BW7) i 9 (BW9), a także piwa (B) (Rozdział 3) i ekstraktów z liści *Malus sylvestris* L. (LE1), *Pinus sylvestris* L. (LE2) i *Sorbus aucuparia* L. (LE3) (Rozdział 4) jako naturalnych środków redukująco-utleniających i stabilizujących. Rosnąca akumulacja odpadów browarniczych stanowi poważne wyzwanie dla środowiska ze względu na złożoność ich utylizacji, podkreślając tym samym pilną potrzebę opracowania zrównoważonych strategii recyklingu tych odpadów w materiały o wartości dodanej. Badania te koncentrowały się na potencjale odpadów browarniczych w porównaniu z ekstraktami z liści w zakresie przyjaznej dla środowiska syntezy nanokompozytów srebra dzięki prostemu i opłacalnemu podejściu "jednonaczyniowemu".

Zsyntetyzowane nanokompozyty zostały dokładnie scharakteryzowane przy użyciu różnych technik analitycznych, w tym dyfrakcji rentgenowskiej, spektroskopii fluorescencji rentgenowskiej z dyspersją energii, transmisyjnej mikroskopii elektronowej oraz skaningowej mikroskopii elektronowej / spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energii, w celu określenia ich składu chemicznego i właściwości strukturalnych. Skład powierzchni tych nanokompozytów badano za pomocą rentgenowskiej spektroskopii fotoelektronów. Ich biokompatybilność oceniano na komórkach ludzkiej embrionalnej nerki (HEK293), natomiast ich cytotoksyczność oceniano wobec czterech linii komórek nowotworowych: raka szyjki macicy (HeLa), raka płuc (A549) i raka piersi (MCF-7 i MDA-MB-231). Badania aktywności przeciwnowotworowej przeprowadzono przy użyciu testu żywych/martwych komórek, testu LDH i testu MTT. Ponadto przetestowano działanie bakteriobójcze nanokompozytów na szczepie bakterii *Escherichia coli*.

Analiza chemiczna metodami spektrometrycznymi i chromatograficznymi wykazała, że zarówno ekstrakty **BW** (Seksja 3.1), jak i **LE** (Seksja 4.1) były bogate w węglowodany, polifenole, cukry fermentacyjne, siarczany, azot i fosfor. Nanokompozyty srebra zsyntetyzowane przy użyciu **BW** zawierały głównie AgCl i Ag₃PO₄ jako podstawowe fazy, z niewielką ilością srebra metalicznego (Seksja 3.2.1). Natomiast nanokompozyty pochodzące z **LE** składały się głównie ze srebra metalicznego ze śladowymi ilościami AgCl (Seksja 4.2.1). Wszystkie pierwiastki były równomiernie rozmieszczone w masie nanokompozytów (Seksja 3.2.3 i 4.2.3). Analiza metodą rentgenowskiej spektroskopii fotoelektronów potwierdziła obecność srebra, węgla i tlenu jako głównych pierwiastków na powierzchni wszystkich nanokompozytów (Seksja 3.2.4 i 4.2.4). W tym samym czasie śladowe ilości chloru i fosforu wykryto również w nanokompozytach na bazie **BW**. Ogólna zawartość pierwiastków srebra zwiększała się wraz ze wzrostem temperatury syntezy z 25 do 80 °C zarówno dla nanokompozytów **BW**, jak i **LE**. Powierzchnia nanokompozytów **BW** składała się w większości ze srebra (40–60% wag.), węgla o zawartości ~20–40% wag. i tlenu o zawartości ~10–15% wag., podczas gdy nanokompozyty **LE** składają się głównie z węgla (55–75% wag.), tlenu ~15–25% wag. i srebra ~8–20% wag.).

Testy cytotoksyczności wykazały odpowiedź zależną od dawki, wykazując selektywną toksyczność w stosunku do komórek nowotworowych (Seksje 3.3 i 4.3). We wszystkich nanokompozytach zaobserwowano dwufazowy mechanizm toksyczności: przy niższych stężeniach (0–10 µg ml⁻¹) dominowało zahamowanie wzrostu komórek, natomiast przy wyższych stężeniach (10–70 µg ml⁻¹) bezpośrednie zniszczenie komórek następowało po osiągnięciu około 30-50% zahamowania wzrostu. Warto zauważyć, że nanokompozyty syntetyzowane w temperaturze 25(±1) °C wykazywały wyższą cytotoksyczność, prowadząc do zwiększonej liczby śmierci komórek przy niższych stężeniach w porównaniu z tymi syntetyzowanymi w temperaturze 80(±1) °C. Wszystkie nanokompozyty wykazywały wyższą toksyczność wobec komórek HeLa i A549 w porównaniu z liniami komórkowymi MCF-7 i MDA-MB-231. Wartości połowy maksymalnego stężenia hamującego (IC50s) i połowy maksymalnego stężenia śmiertelnego (LC50s) dla nanokompozytów **BW** są niższe niż w przypadku nanokompozytów **LE**, co wskazuje, że nanokompozyty **BW** są bardziej skuteczne pod względem cytotoksyczności dla komórek nowotworowych niż nanokompozyty **LE** (Seksja 5.1). Nanokompozyty **BW** mają wyższą zawartość srebra (głównie zawierają AgCl i Ag₃PO₄ działających jako źródło jonów srebra), fosforu i chloru na powierzchni oraz w masie, niż nanokompozyty **LE**. Prawdopodobnie umożliwiają one łatwiejszy dostęp jonów

Ag^+ przenikających do komórek, lepszą toksyczność P i Cl dla komórek oraz poprawę ogólnej cytotoksyczności nanokompozytów **BW** w porównaniu z nanokompozytami **LE**. Ponadto wszystkie nanokompozyty wykazywały biokompatybilność z normalnymi komórkami ludzkimi HEK293 w zakresie stężeń, w którym wykazywały cytotoksyczność dla komórek nowotworowych (Seksja 3.3 i 4.3). Temperatura syntezy nanokompozytów **BW** i **LE** wpłynęła na ich właściwości oraz oddziaływania z normalnymi komórkami, przy czym te zsyntetyzowane w wyższych temperaturach wykazały lepszą biokompatybilność. Najwyższą aktywność przeciwnowotworową wykazywały nanokompozyty **BW5Ag1** ze względu na większą zawartość i mały rozmiar form Ag (Ag_{met} , AgCl i Ag_3PO_4) dostarczający jonów Ag^+ , obecność fosforu i wysoką zawartość węgla nasyconego na powierzchni, a także generowany H_2O_2 ROS. Największą aktywność przeciwbakteryjną wykazywały nanokompozyty **BW7Ag1** i **BW7Ag3** ze względu na wyższą zawartość form Ag_3PO_4 o małych rozmiarach oraz generowany ROS (Seksja 3.4).

Badania te dostarczają cennych informacji na temat roli zielonej syntezy w zwiększaniu bioaktywności nanokompozytów srebra i podkreślają ich potencjał jako skutecznych i przyjaznych dla środowiska środków terapeutycznych w leczeniu nowotworów oraz innych zastosowaniach biomedycznych.

Netawo