



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

KATEDRA I ZAKŁAD FARMACJI FIZYCZNEJ I FARMAKOKINETYKI

ul. Rokietnicka 5A
60-806 Poznań
e-mail: glowka@ump.edu.pl

tel. 61 6418366

prof. zw. dr hab. Franciszek Główka

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
BIURO RPN/13209/2023
RADY DISCYPLINY NAUKI FARMACEUTYCZNE
Podpis *Foralewska*
25.10.2023

Poznań, 20 października 2023 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr farm., mgr inż. Justyny Kobryń asystentki w Katedrze i Zakładzie Chemii Fizycznej i Biofizyki Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Rozprawa doktorska mgr Justyny Kobryń pt. ***Zastosowanie modyfikowanej strukturalnie skrobi jako substancji nośnikowej wybranych modelowych substancji leczniczych*** została przygotowana wg kryteriów zawartych w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) w formie cyklu publikacji z udziałem Kandydatki do stopnia doktora jako pierwszego autora, opublikowanych w uznanych czasopismach o cyrkulacji międzynarodowej:

1. Justyna Kobryń, Sandra Sowa, Monika Gasztych, Andrzej Dryś, Witold Musiał: *Influence of Hydrophilic Polymers on the β Factor in Weibull Equation Applied to the Release Kinetics of a Biologically Active Complex of Aesculus hippocastanum* Hindawi. International Journal of Polymer Science 2017 (3):1-8. IF 1,718, MNiSzW 25pkt.
2. Justyna Kobryń, Tomasz Zięba, Sandra Karolina Sowa, Witold Musiał: *Influence of Acetylated Annealed Starch on the Release of β -Escin from the Anionic and Non-Ionic Hydrophilic Gels*. Pharmaceutics 12(1):84. IF 6,321; MNiSzW 100 pkt.
3. Justyna Kobryń, Bartosz Raszewski, Tomasz Zięba, Witold Musiał *Modified Potato Starch as a Potential Retardant for Prolonged Release of Lidocaine Hydrochloride from*

Methylcellulose Hydrophilic Gel. *Pharmaceutics*. 2023, 15(2):387. IF 6,525; MNiSzW 100 pkt.

Znaczącą pozycję w cyklu badawczym Doktorantki stanowi publikacja z jej udziałem: Zięba Tomasz, Wilczak Aleksandra, **Kobryń Justyna**, Musiał Witold, Kapelko-Żeberska Małgorzata, Gryszkin Artur, Meisel Marta *The Annealing of Acetylated Potato Starch with Various Substitution Degrees*. *Molecules*. 2021, 26(7):2096. IF 4,927; MNiSzW 140 pkt., w której przedstawiono opis modyfikacji chemicznej i fizycznej skrobi będących aktualnie w obrocie rynkowym, jednak tej publikacji nie ujęła w przedstawionym cyklu publikacji stanowiących rozprawę doktorską.

1. Ocena Merytoryczna

Trafność problematyki badawczej i jej oryginalność

Poszukiwanie nowych nośników leków zwłaszcza pochodzenia naturalnego, jak i właściwa ocena oddziaływania lek - nośnik, wyjaśnienie kinetyki uwalniania API z podłoża, to bardzo istotne i wciąż aktualne zagadnienia ściśle związane z opracowaniem technologii nowych postaci leku. Zatem wybrana tematyka badawcza, której realizacji podjęła się mgr Justyna Kobryń, pod kierunkiem profesora Witolda Musiała, jest jak najbardziej zasadna, zwłaszcza w aspekcie praktycznego wykorzystania jej efektów badawczych do opracowania nowych formułacji leków o modyfikowanym uwalnianiu.

Kandydatka do stopnia doktora posiada bardzo dobre przygotowanie teoretyczne do przeprowadzenia zaplanowanych badań o czym przekonują opisane ze znanstwem zagadnienia obejmujące modyfikacje fizyczne i chemiczne skrobi, preparatykę modyfikowanych skrobi czy stosowane modele kinetyczne zamieszczone w części teoretycznej rozprawy doktorskiej. Korzystała też z dobrze wyposażonego zaplecza aparaturowego. Ponadto wykazała się bardzo dobrym przygotowaniem analitycznym do badania kinetyki uwalniania API z opracowanych podłoży oraz do oceny mechanizmu oddziaływania lek - adsorbent. Nawiązała współpracę z Katedrą Technologii Rolnej i Przechowywania Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu w

zakresie otrzymywania preparatów modyfikowanej skrobi ziemniaczanej, które stosowała w swoich badaniach nad uzyskaniem postaci o modyfikowanym uwalnianiu czynnych farmakologicznie związków modelowych.

W swoich początkowych badaniach będących przedmiotem publikacji w *International Journal of Polymer Science*, 2017, Kandydatka do stopnia doktora zajmowała się badaniem kinetyki uwalniania modelowego związku leczniczego β -escyny z metylocelulozy i hydrofilowych żeli pochodnych kwasu poliakrylowego (PA1 i PA2) oraz poliakrylowego krosspolimeru 11, z którego to podłoża β -escyna uwalniała się wolno, w przeciwieństwie do podłoża z metylocelulozą. Wykazała, że uwalnianie API z podłoży hydrożelowych najlepiej opisywało równanie modelu Weibulla. Powyższa publikacja [1] w mojej ocenie nie do końca wpisuje się w podany temat rozprawy doktorskiej, aczkolwiek dotyczy nośników substancji leczniczych, które to podłoża wymieniałem powyżej.

W swoim głównym nurcie badawczym zgodnym z tematem rozprawy Doktorantka skupiła się na badaniach kinetyki uwalniania leków z nośników pochodnych skrobi, które były modyfikowane metodami chemicznymi i fizycznymi. Skrobia jest polisacharydem składającym się z cząsteczek D-glukozy, stąd stanowi główny zasobnik zmagazynowanej energii w świecie roślin i jest też głównym węglowodanem złożonym, który jest dostarczany z pożywieniem człowieka. Skrobia naturalna ze względu na swoje właściwości adsorpcyjne jak i możliwości modyfikacji cząsteczki stała się obok celulozy cennym surowcem farmaceutycznym jako nośnik leków, stąd zrozumiałe zainteresowanie Doktorantki tym naturalnym polimerem. Do badań zsyntezowano następujące połączenia: octan (SA), cytrynian (SCA) i difosforan skrobi (SDP). W badaniach stosowała też preparaty będące polimerami syntetycznymi i półsyntetycznymi. Hydrożele z których uwalniano β -escynę zostały przygotowane na bazie metylocelulozy (MC), polimerów kwasu akrylowego (PA1) i poliakrylanowego crosspolimeru. Jako odnośniki zastosowano preparaty dostępne w sprzedaży. Drugim związkiem modelowym wykorzystanym w badaniach kinetyki uwalniania z opracowanych podłoży był chlorowodorek lidokainy o odmiennych parametrach fizykochemicznych w porównaniu do β -escyny. Zasadniczym celem badawczym

czytelnie oddającym temat rozprawy było uzyskanie modyfikowanej skrobi, która spełniałaby cechy bezpiecznego nośnika dla leków podawanych na skórę. Tematyka w tym zakresie posiada cechy oryginalności.

Ocena uzyskanych wyników i ich przydatność dla nauki i praktyki

Realizując zasadniczy cel badawczy jakim było opracowanie i charakterystyka oddziaływania nowych nośników leków, pochodnych skrobi o modyfikowanym uwalnianiu substancji czynnej, Kandydatka do stopnia doktora uzyskała kilka istotnych wyników badawczych zarówno w aspekcie naukowym jak i praktycznego zastosowania w technologii postaci leku. Interesującym osiągnięciem badawczym Doktorantki mogącym mieć praktyczne zastosowanie było wykazanie za pomocą uznanych technik analitycznych: skaningowej kalorymetrii różnicowej, DSC, jak i rentgenowskiej dyfraktometrii proszkowej, XRPD, najbardziej amorficznego charakteru skrobi modyfikowanej kwasem cytrynowym w porównaniu do acetylowanej czy fosforylowanej skrobi oraz skrobi natywnej. Może to mieć istotne znaczenie przy opracowywaniu nowych formułacji leków zewnętrźnie stosowanych. Ponadto stosując technikę DSC Doktorantka uzyskała termogramy, na podstawie których wskazała na istnienie interakcji między modyfikowaną skrobią a chlorowodorkiem lidokainy. Oceniała też właściwości adsorpcyjne uzyskanych skrobi modyfikowanych. Opracowując odpowiednie modele adsorpcji błękitu metylenowego potwierdziła różnicę w mechanizmach adsorpcyjnych poszczególnych skrobi. Największą zdolność do adsorpcji modelowego związku błękitu metylenowego posiadała skrobia modyfikowana 10% kwasem cytrynowym i prażona w temperaturze 100°C w porównaniu do skrobi acetylowanej czy fosforylowanej. Za pomocą odpowiednich izoterm przedstawiła różnice w mechanizmach adsorpcji poszczególnych modyfikowanych skrobi. Adsorpcję na skrobi modyfikowanej kwasem cytrynowym najlepiej oddawał model izoterm BET, natomiast adsorpcja na skrobi natywnej jak i acetylowanej najpełniej była opisana za pomocą izoterm Freundlicha.

Znacznym osiągnięciem Doktorantki było też wyjaśnienie kinetyki uwalniania związków modelowych z opracowanych nośników. Zdecydowanie najmniejsze dopasowanie

zmian stężenia uwolnionego leku uzyskano w modelu kinetyki zerowego rzędu, w porównaniu do pozostałych przyjętych modeli: kinetyki pierwszego i drugiego rzędu oraz modeli Higuchiego oraz Weibulla. Kinetyka uwalniania związków modelowych różniła się dla poszczególnych formułacji, podyktowane to było różnym mechanizmem oddziaływania lek – nośnik, co Doktorantka podkreśla w dyskusji wyników.

Mgr J. Kobryń wykazała też, że skład podłoży hydrożelowych istotnie wpływa na przedłużenie uwalniania β -escyny. Z hydrożelu na bazie polimerów kwasu akrylowego zawierającego skrobię acetylowaną uzyskiwano najdłuższy czas uwalniania β -escyny. Podobnie hydrożel metylocelulozy zawierający skrobię modyfikowaną 5% kwasem cytrynowym wykazał największe wydłużenie czasu uwalniania chlorowodorku lidokainy. Badania podsumowano pięcioma wnioskami, z których 3-5 najbardziej odzwierciedlają uzyskane efekty badań, natomiast wnioski 1 i 2 wydają się być zbyt ogólnikowe.

Poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna

Praca została napisana poprawnym językiem polskim jak też i angielskim, o czym świadczy fakt opublikowania prac w anglojęzycznych czasopismach naukowych. Posiada ładną szatę graficzną, a jej redakcja nie budzi większych zastrzeżeń. Podczas zapoznawania się z pracą zauważyłem drobne niedociągnięcia. Przytoczę najistotniejsze, które wymagają korekty.

W miejsce stosowania *rpm*, należy podać bardziej poprawny zapis **x g**. Zamiast „zespół publikacji” proponuję użyć „cykl publikacji”.

Sformułowanie „Zastosowanie hydrożeli obejmuje miejscowe, a także przedłużone uwalnianie substancji aktywnych , co umożliwia zmniejszenie dawek terapeutycznych” (str. 9) wymaga wyjaśnienia.

Opis modyfikacji enzymatycznych w podrozdziale 2.2.1. Fizyczna modyfikacja „Skrobia podlega modyfikacjom enzymatycznym. Do najważniejszych należy hydroliza enzymatyczna.....”, należy przenieść do rozdziału 2.2.2. Chemiczna modyfikacja (str.13). Str. 14 „....W 610% roztworze NaCl...” powinno byćw 6% i 10 %....

Str. 29. „Badanie absorbancji...” absorbancję mierzy się.

Str. 51 określenie „... *najgorsze* dopasowanie do modelu” może jednak użyć najmniejsze. Str. 56. „Odczytano *wartość absorbancji*.....”. Wartość absorpcji to właśnie absorbancja, stąd odczytano *absorbancję*. Str. 57 zamiast „...ma wpływ na *prolongację* uwalniania”, proponuję ma wpływ na *przedłużenie* uwalniania.

Strona 57. Uzupełnienia wymaga stwierdzenie “Wśród nich nie wykazano jednoznacznych zależności (?) od wzrostu temperatury i stopnia podstawienia.

W wykazie skrótów zabrakło wyjaśnienia skrótów REF, SN, SA.

OCENA METODOLOGICZNA

a) Dobór literatury, umiejętności, wykorzystanie źródeł

Piśmiennictwo, na które powoływała się Doktorantka w rozprawie doktorskiej obejmuje 113 pozycji w większości z ostatnich 10 lat, aczkolwiek można znaleźć pozycje 28 i 103 z lat 60-tych. Przy pozycjach 43 i 46 należy podać datę wejścia do bazy internetowej. Piśmiennictwo jest trafnie dobrane, obejmuje publikacje odpowiadające tematyce prowadzonych badań. Doktorantka umiejętnie stosuje dane literaturowe odnoszące się do uzasadnienia założeń rozprawy doktorskiej jak i prowadzonej dyskusji wyników badań.

b) Poprawność formułowania problemów i hipotez (założenia badawcze)

Doktorantka w czytelny sposób sformułowała założenia swojej pracy badawczej, której celem była ocena oddziaływań uzyskanych modyfikowanych pochodnych skrobi z modelowymi lekami oraz określenie, które połączenie skrobi spełniałoby cechy bezpiecznego nośnika dla leków podawanych zewnętrznje.

c) Trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętności ich zastosowania

Postawiony cel badawczy wymagał przygotowania znacznej ilości preparatów skrobiowych, z których uwalniano związki aktywne. Określenia kinetyki uwalniania jak i oddziaływań lek - nośnik wymagało od mgr. J. Kobryń umiejętności doboru, jak i praktycznego zastosowania szeregu technik badawczych. Z tego zadania Doktorantka wywiązała się bardzo dobrze stosując umiejętnie w swoich badaniach uznane metody

badawcze. Do oceny uwalniania czynnych farmakologicznie związków modelowych zastosowała farmakopealną metodę z użyciem aparatu łopatkowego Erweka DT 700. Pomiar absorpcji modelowych analitów zostały wykonane metodą spektrofotometryczną. Kinetykę uwalniania modelowych analitów analizowano przez dopasowanie uzyskanych danych pomiarowych do odpowiednich modeli kinetycznych reakcji zerowego, pierwszego i drugiego rzędu, Higuchi'ego oraz Weibulla. W celu potwierdzenia termicznej stabilności modyfikowanych skrobi, jak i połączeń z lekami zastosowała technikę skaningowej kalorymetrii różnicowej. Analizę stopnia krystaliczności przeprowadziła za pomocą specjalistycznej techniki badawczej - rentgenowskiej dyfraktometrii proszkowej. W swoich badaniach wykorzystwała też wiele innych, powszechnie stosowanych metod, takich jak spektrofotometria w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) czy metodę potencjometryczną wyznaczania pH. Na podkreślenie zasługuje szeroki wachlarz użytych technik badawczych i umiejętność ich zastosowania w praktyce.

d) Poprawność układu pracy i struktury podziału treści

Rozprawa doktorska mgr J. Kobryń zawiera rozbudowany komentarz zawarty na 54 stronach obejmujący istotne zagadnienia dotyczące tematyki rozprawy. W zwięzłej części teoretycznej zawarto wprowadzenie do tematyki badawczej oraz zdefiniowano cel pracy. W dalszej części Doktorantka scharakteryzowała hydrożele jako półstałe nośniki leków. Szczegółowo scharakteryzowała metylocelulozę, polimery kwasu akrylowego. W dalszej części skupiła się na właściwościach skrobi i jej modyfikacji przy zastosowaniu metod fizycznych jak i chemicznych. Omówiła też modelowe substancje aktywne stosowane w badaniach. Stosując odpowiednie schematy czytelnie przedstawiła preparatykę modyfikowanych skrobi. Dalszą część rozprawy zajmują szczegółowo opisane metody przygotowania preparatów do badań oraz badania kinetyki uwalniania β -escyny i chlorowodorku lidokainy. Czytelnie zostały przedstawione techniki badawcze stosowane w pracy. Znaczącą część rozprawy stanowią wyniki badań wraz z wykresami i tabelami. Podsumowanie rozprawy stanowi merytorycznie przeprowadzona dyskusja wyników w oparciu o bogato prezentowane

specjalistyczne piśmiennictwo. Badania podsumowano wnioskami. Zamieszczono też streszczenie w języku polskim i angielskim. Całość kończy piśmiennictwo, wykaz skrótów, spis tabel, rysunków i załączników. Dołączone zostały oświadczenia współautorów publikacji, kopie trzech publikacji stanowiących cykl rozprawy oraz życiorys i wykaz publikacji wraz z analizą bibliometryczną z Biblioteki Głównej UM we Wrocławiu. Układ pracy jak i podział treści rozprawy zostały przygotowane w prawidłowy sposób.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr farm Justyny Kobryń posiada jednoznacznie poznawczy charakter, zawarte zostały w niej istotne osiągnięcia naukowe jak i do praktycznego zastosowania. Rozprawa spełnia zatem ustawowe wymagania stawiane pracom doktorskim. W związku z powyższym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dalsze procedowanie wniosku zmierzające do nadania mgr Justynie Kobryń stopnia doktora nauk farmaceutycznych.

Wniosek o wyróżnienie

Rozprawa doktorska została przygotowana w na podstawie cyklu publikacji, które zostały w opublikowane w uznanych czasopismach o cyrkulacji międzynarodowej, potwierdzonej znaczącym współczynnikiem oddziaływania IF 14,474, stąd biorąc pod uwagę również opinię wyrażoną w recenzji wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Justyny Kobryń.

Kierownik Katedry i Zakładu
Farmacji Fizycznej i Farmakokinetyki

Prof. dr hab. Franciszek Głowska