



UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
Wydział Farmaceutyczny
Z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

Zakład Farmacji Stosowanej
15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2c
Tel. (85) 748-56-16, katarzyna.winnicka@umb.edu.pl

Prof. dr hab. n. farm. Katarzyna Winnicka

Białystok, 06.02.2024

OCENA PRACY DOKTORSKIEJ

pt.: „Interakcje lek-substancja powierzchniowo czynna
w micelarnych nośnikach substancji aktywnych farmaceutycznie”
(„*Drug-surfactant interactions in micellar carriers
of active pharmaceutical ingredients*”)

wykonanej przez mgr farm. Katarzynę Malec

w Katedrze i Zakładzie Technologii Postaci Leku

Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
pod kierunkiem dr hab. n. farm. Bożeny Karolewicz, prof. Uczelni
i promotora pomocniczego – dr hab. n. farm. Karola Nartowskiego

Znaczenie problematyki podjętej w recenzowanej rozprawie

Związki powierzchniowo czynne i tworzone przez nie układy micelarne cieszą się niesłabnącym zainteresowaniem technologów. Układy micelarne stanowią bowiem obiecujące nośniki dla substancji leczniczych – mogą wywierać korzystny wpływ na rozpuszczalność, profil uwalniania, czy przenikanie leków przez błony komórkowe. Nośniki te charakteryzują się złożoną i bardzo dynamiczną strukturą - wynikającą z przemieszczania się cząsteczek związków powierzchniowo czynnych oraz ze zróżnicowanego rozmieszczenia substancji czynnej w micelach, a próba poznania i wyjaśnienia struktury tych układów bez wątplenia stanowi wyzwanie naukowe.

1
K. Winnicka

Koncepcja przedstawionych założeń badawczych wpisuje się w aktualną problematykę technologii farmaceutycznej i niesie ze sobą zarówno aspekty poznawcze, jak i praktyczne – o potencjalnym znaczeniu aplikacyjnym. Należy podkreślić, że brakuje doniesień wyjaśniających mechanizmy oddziaływania substancji pomocniczych tworzących układy micelarne oraz ich wpływ na procesy solubilizacji i uwalniania substancji leczniczych.

Struktura rozprawy

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Malec stanowi opracowanie w języku angielskim, do którego został dołączony cykl dwóch publikacji oryginalnych oraz oświadczenia współautorów o udziale w powstawaniu publikacji. W języku polskim przedstawiono jeden rozdział – streszczenie. W skład opracowania wchodzi 12 rozdziałów, w tym rozdział opisujący dorobek i życiorys Kandydatki.

W rozdziale „*Introduction*” Autorka skrótowo scharakteryzowała układy micelarne jako nośniki leków oraz szczegółowo opisała możliwości wykorzystania wysokospecjalistycznych technik NMR (*nuclear magnetic resonance*) do pogłębionej oceny tych struktur (tzw. STD – *saturation transfer difference* NMR oraz DEEP-STD NMR (*differential epitope mapping* z wykorzystaniem STD NMR). Przedstawiła także wykorzystanie amfifilowych polimerów termowrażliwych - poloksamerów, inaczej pluroników w technologii postaci leku. Związki te (glikole polioksyetylenowo polioksypropylenowe) posiadają strukturę blokowych kopolimerów PEO-PPO i stosowane są m.in. jako środki zwilżające, dyspergujące, zagęszczające i emulgatory. Micele poloksamerowe posiadają hydrofobowy rdzeń z bloków propylenowych i hydrofilową koronę z bloków etylenowych, dzięki czemu stwarzają możliwości inkorporowania lipofilowych substancji czynnych. Posiadają ponadto szereg dodatkowych, cennych właściwości, jak np. wpływ na glikoproteinę P, czy białka odporności wielolekowej. Ostatnie trzy podrozdziały dotyczą zagadnień związanych z infekcjami grzybiczymi, zarejestrowanych produktów z flukonazolem oraz mechanizmów oporności szczepów *Candida*.

Przedmiot badań stanowiły układy micelarne z modelowymi substancjami leczniczymi o różnej hydrofobowości – flukonazolem o działaniu przeciugrzybiczym oraz indometacyną – wykazującą działanie przeciwbólne i przeciwzapalne. W rozdziale „*Work objectives*” wyodrębnione zostały ponadto cele szczegółowe badań przedstawionych w cyklu artykułów naukowych. W rozdziale „*Methods*” skrótowo opisano metody wykorzystane w trakcie realizacji badań. Podkreślić należy, że Doktorantka korzystała z wysoce specjalistycznych

technik, m.in. z technik NMR, spektrofluorymetrii, tensjometrii, pomiarów dynamicznego rozproszenia światła oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Znaczna część badań przeprowadzona została we współpracy międzynarodowej. W badaniach wykorzystano nową metodę umożliwiającą mapowanie otrzymanych układów z wykorzystaniem nowoczesnych technik NMR. Po raz pierwszy zastosowano protokół, który dotychczas stosowany był do badań interakcji substancji niskocząsteczkowych z białkami, co umożliwiło przeprowadzenie pogłębionej analizy oddziaływań lek-surfaktant w powstającym układzie micelarnym. Pod kierunkiem prof. *Khimiaka* z Uniwersytetu Wschodniej Anglii (*University of East Anglia*) oceniona została ponadto aktywność przeciwgrzybicza wytypowanych formułacji z flukonazolem. Podjęto też próbę wyjaśnienia molekularnego mechanizmu znoszenia oporności na flukonazol – oceniano zahamowanie pomp efflux przez znaną substancję kontrolną oraz określano stopień ekspresji genów komórek grzybów (drożdżaków).

W rozdziale „*Overview of the publications included in the dissertation*” Doktorantka opisuje wyniki przeprowadzonych badań w odniesieniu do dwóch publikacji:

1. Katarzyna Malec, Serena Monaco, Ignacio Delso, Justyna Nestorowicz, Marta Kozakiewicz-Latała, Bożena Karolewicz, Yaroslav Z. Khimyak, Jesús Angulo, Karol P. Nartowski. *Unravelling the mechanisms of drugs partitioning phenomena in micellar systems via NMR spectroscopy*, Journal of Colloid and Interface Science, 2023, 638, 135-148; doi: 10.1016/j.jcis.2023.01.063 (pkt. IF: 9,9; pkt. MEiN 100)
2. Katarzyna Malec, Aleksandra Mikołajczyk, Dominik Marciniak, Agnieszka Gawin-Mikołajewicz, Agnieszka Matera-Witkiewicz, Bożena Karolewicz, Urszula Nawrot, Yaroslav Z. Khimyak, Karol P. Nartowski. *Pluronic® F-127 enhances antifungal activity of fluconazole against resistant Candida strains*, ACS Infectious Diseases, doi: 10.1021/acsinfecdis.3c00536; (pkt. IF: 5,3; pkt. MEiN 100)

Podkreślenia wymaga fakt, że artykuły stanowiące rozprawę doktorską p. mgr Katarzyny Malec ukazały się w prestiżowych, wysokopunktowanych czasopismach z dziedziny nauk farmaceutycznych. Dołączone oświadczenia współautorów o udziale w powstawaniu publikacji potwierdzają znaczący wkład Doktorantki w planowanie, wykonanie badań oraz opis i analizę uzyskanych wyników. Praca jest napisana i zredagowana starannie oraz stanowi logiczną całość. Zaproponowane wnioski zostały poprawnie sformułowane i stanowią podsumowanie wykonanych badań. Na podkreślenie innowacyjności badań

zasługuje fakt, że w pracy wykorzystano szereg nowoczesnych i komplementarnych technik, które umożliwiły scharakteryzowanie modelowych układów lek-substancja powierzchniowo czynna z uwzględnieniem lokalizacji leku w miceli, określeniem oddziaływań poszczególnych części struktury surfaktanta z lekiem oraz zbadanie wpływu innych czynników dodatkowych (temperatury, stężenia oraz struktury substancji powierzchniowo czynnej) na proces tworzenia nośników micelarnych i proces solubilizacji. Jednoczesne zastosowanie różnych technik umożliwiło porównanie informacji uzyskanych technikami NMR z danymi uzyskanymi z wykorzystaniem spektrofluorymetrii, tensjometrii, pomiarów dynamicznego rozproszenia światła czy wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Bez wątplenia przyczyniło się to do próby dokładniejszego wyjaśnienia procesów zachodzących podczas tworzenia układów micelarnych, co może być wykorzystane w trakcie projektowania nowych nośników o ściśle określonych parametrach.

Jako niezwykle cenną część zaprezentowanych badań chciałabym wskazać wykazanie wpływu nośnika – Pluronicu F-127 - na aktywność flukonazolu. Z wykorzystaniem opornych szczepów *C. glabrata* wykazano, że wypływ leku z komórki grzyba przez białka błonowe był głównym mechanizmem ich oporności. Zastosowanie Pluronicu F-127 wywarło korzystny wpływ na transportery błonowe i przepuszczalność błon grzybiczych drożdżaków. Inkubacja komórek z opracowanymi układami micelarnymi przyczyniła się bowiem do wzrostu przepuszczalności błony komórkowej i ograniczonego wypłukiwania leku z wnętrza komórki.

Uzyskane wyniki badań mogą przyczynić się ponadto do opracowania narzędzia służącego do oceny struktury systemów micelarnych, a przedstawiona metoda mapowania z wykorzystaniem NMR może zostać zastosowana do wyjaśnienia procesów solubilizacji leków w innych nośnikach.

W toku obrony pracy, do dyskusji chciałabym zaproponować następujące zagadnienia:

- wybór flukonazolu został w pracy dogłębnie uzasadniony; cenne byłoby jednak wyjaśnienie, czym Autorka kierowała się w doborze indometacyny jako leku modelowego? Jako powód podano jedynie „różną hydrofobowość indometacyny i flukonazolu”;
- dlaczego wybrano pluroniki i czy były podejmowane próby sporządzenia układów micelarnych z innymi związkami powierzchniowo czynnymi?

Inne osiągnięcia Doktorantki

Całkowity dorobek Doktorantki obejmuje dziewięć publikacji w czasopismach z IF (o łącznej wartości 44,848 pkt. IF i 895 pkt. MNiSW/MEiN) oraz siedemnaście prezentacji konferencyjnych. Doktorantka w trakcie studiów przebywała na wyjeździe naukowo-szkoleniowym w ramach programu Erasmus + na Uniwersytecie Miguela Hernández w Elche w Hiszpanii. Odbyła szereg staży naukowo-badawczych w ośrodkach zagranicznych, m.in. na Uniwersytecie w Bonn, Niemcy; na University of Warwick oraz na Uniwersytecie Anglii Wschodniej (University of East Anglia) w Wielkiej Brytanii. Efektem staży jest nawiązana współpraca naukowa zwieńczona wspólnymi publikacjami. Mgr farm. Katarzyna Malec jest także współautorem zgłoszenia patentowego. Na podkreślenie zasługuje fakt, że doktorantka uczestniczyła w realizacji szeregu projektów finansowanych przez Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, a ponadto była kierownikiem projektu ETIUDA – finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Wnioski i konkluzja końcowa

Podsumowując, oceniana rozprawa doktorska autorstwa mgr Katarzyny Malec pt. „*Interakcje lek-substancja powierzchniowo czynna w micelarnych nośnikach substancji aktywnych farmaceutycznie*” stanowi oryginalne i wartościowe opracowanie naukowe, poruszające zaawansowane zagadnienia technologii farmaceutycznej. Praca spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179 ust. 2 i 3 Ustawy z 3 lipca 2018 roku Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.) i na tej podstawie wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr Katarzyny Malec do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, z uwagi na nowatorski charakter i wysoką jakość przeprowadzonych badań oraz fakt, że na ich podstawie złożone zostało polskie zgłoszenie patentowe (“*The pharmaceutical composition with fluconazole with enhanced antifungal activity, the formulation of the pharmaceutical composition, and the use of the pharmaceutical composition*”; No. P.443724), składam formalny wniosek o wyróżnienie recenzowanej rozprawy doktorskiej.

Poniedziałek, 06.02.2024.

KIEROWNIK
Zakładu Farmacji Stosowanej
Katarzyna Wiwnicka
Prof. dr hab. n. farm. Katarzyna Wiwnicka