RN-BF 4100.4.2022
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI FARMACEUTYCZNE
RPU/16709/2025
Podpis 11.09.2025

UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KATEDRA I ZAKŁAD FARMACJI FIZYCZNEJ I FARMAKOKINETYKI

Adres: Coll. Pharmaceuticum, ul. Rokietnicka 3, 60-806 Poznań
tel. (61) 641-83-65
mkaraz@ump.edu.pl

Poznań 2025-09-01

RECENZJA

pracy doktorskiej wykonanej przez mgr Agnieszkę Katarzynę Kostrzębską
pt: „Trwałość fizykochemiczna i aktywność przeciwdrobnoustrojowa wybranych antybiotyków w układach aktywnie oddziałujących na modelowy łój skórny"

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska mgr Agnieszki Katarzyny Kostrzębskiej wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Witolda Musiała w Katedrze i Zakładzie Chemii Fizycznej i Biofizyki Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, dotycząca rozwoju hydrożelowych formulacji dermatologicznych, które mogłyby być wykorzystane do miejscowego leczenia trądziku pospolitego, doskonale wpisuje się w nowoczesny nurt badań przedklinicznych mających na celu zaprojektowanie i opracowanie bezpiecznych i skutecznych leków przy wykorzystaniu szeregu nowoczesnych technik analitycznych oraz modeli *in vitro* i *in vivo*.

Struktura przedstawionej mi do oceny pracy obejmuje wykaz publikacji składających się na rozprawę doktorską, opis dorobku naukowego Doktorantki, streszczenie w języku polskim i angielskim, teoretyczne wprowadzenie do badanej tematyki, jasno sprecyzowane założenia oraz cel projektu, opis metod zastosowanych do jego realizacji, wyniki wraz z komentarzem i wnioski, a także artykuły będące integralną częścią rozprawy. Wyniki przeprowadzonych przez mgr Kostrzębską badań udokumentowano w trzech spójnych tematycznie publikacjach oryginalnych, opublikowanych w latach 2021 – 2025 w międzynarodowych czasopismach (*Pharmaceutics, International Journal of Molecular Sciences*), posiadających wysokie współczynniki oddziaływania *Impact Factor* 4,9 – 6,525. Sumaryczny współczynnik oddziaływania cyklu prac wynosi 16,325. Elementem łączącym wszystkie publikacje są

formulacje hydrożelowe zawierające antybiotyki z grupy tetracyklin, dla których przeprowadzono badania właściwości fizykochemicznych, stabilności oraz aktywności i bezpieczeństwa. W związku z tym, że wszystkie prace zostały pozytywnie ocenione przez recenzentów podczas procesu publikacji, ich wartość merytoryczna nie wymaga dyskusji.

Do rozprawy dołączono oświadczenia współautorów opublikowanych manuskryptów. Szkoda tylko, że zabrakło oświadczenia Doktorantki dotyczącego Jej udziału w przeprowadzonych badaniach. Jednak z zamieszczonych w rozprawie doktorskiej informacji wynika, że mgr Kostrzębska jest osobą o znaczącym doświadczeniu naukowym, co na pewno pomogło Jej w planowaniu i realizacji szeregu zadań badawczych. Doktorantka może poszczycić się stosunkowo wysokim dorobkiem naukowym (całkowity IF = 30,046, punkty ministerialne 750), była kierownikiem dwóch projektów naukowych, brała udział w licznych konferencjach międzynarodowych, a za osiągnięcia naukowe otrzymała trzy nagrody JM Rektora.

W rozdziale pierwszym rozprawy, będącym teoretycznym wprowadzeniem do podjętej tematyki badań, Doktorantka przedstawiła zagadnienia dotyczące etiologii i patologii trądziku pospolitego, oraz omówiła zasady farmakoterapii tego schorzenia. Szczegółowo scharakteryzowała antybiotyki z grupy tetracyklin, szczególną uwagę zwracając na aspekty ich trwałości, w tym czynniki wpływające na degradację i powstające w jej wyniku produkty. Doktorantka trafnie wykorzystała przedstawione powyżej zagadnienia teoretyczne do podkreślenia zasadności podjęcia przeprowadzonych w ramach ocenianej rozprawy doktorskiej badań nad hydrożelowymi formulacjami dermatologicznymi zawierającymi tetracykliny. W tej części pracy znajduje się również podrozdział zatytułowany: „Model strukturalny mieszka włosowego oraz mechanizmy jego oczyszczania". Tytuł ten nie oddaje jednak precyzyjnie przestawionej treści, która obejmuje omówienie znaczenia składników sebum w prawidłowym funkcjonowaniu bariery skórnej, roli nadmiernej produkcji łoju w powstawaniu trądziku i innych schorzeń dermatologicznych, a także potencjalne możliwości wykorzystania alkoholamin do skutecznego oczyszczania gruczołów łojowych. Przedstawiono tutaj również wyniki przeprowadzonych wcześniej badań, dotyczących oceny aktywności alkoholaminy AMPD w stosunku do modelowego sebum skórnego w kontekście jej potencjalnego zastosowania do optymalizacji procesów oczyszczania gruczołów łojowych oraz wspomagania terapii schorzeń skórnych.

Wybór tematu pracy i cele badawcze zostały jasno sprecyzowane w rozdziale drugim. Doktorantka postawiła sobie ambitne zadanie przeprowadzenia szeregu badań obejmujących kompleksową ocenę właściwości fizykochemicznych oraz aktywności

przeciwdrobnoustrojowej wybranych antybiotyków tetracyklinowych w układach hydrożelowych aktywnie oddziałujących na modelowy łój skórny. Dodatkowe aspekty pracy obejmowały ocenę wpływu komponentów formulacji, takich jak alkoholaminy, etanol, czy dodatkowe substancje bioaktywne (diglicynian azeloilu) na stabilność i skuteczność opracowanych układów. Tak szeroki zakres badań wymagał dobrej znajomości i umiejętności wykorzystania różnych technik analitycznych, których zestawienie przedstawiono w rozdziale trzecim.

Pierwsza praca ujęta w rozprawie doktorskiej to publikacja przedstawiająca wyniki badań dotyczących opracowania stabilnej formulacji farmaceutycznej zawierającej chlorowodorek tetracykliny. Badania te obejmowały porównanie trwałości przygotowanych układów hydrożelowych oraz roztworów wodnych zawierających antybiotyk w obecności czynników środowiskowych, takich jak temperatura czy światło. Autorka dokonała wizualnej oceny badanych hydrożeli i roztworów w czasie ich dwumiesięcznej inkubacji, natomiast do oznaczenia zmiany stężenia antybiotyku w formulacjach zastosowano metodę HPLC z detekcją UV. Na podstawie analizy chromatogramów wykryto obecność dodatkowego piku, prawdopodobnie jednego z produktów rozkładu chlorowodorku tetracykliny. Chromatogramy te przedstawiono na rycinie 7. W jej opisie przydatne byłoby podanie warunków rozdziału chromatograficznego. Doktorantka wskazała na konieczność przeprowadzenia szczegółowej analizy pozwalającej jednoznacznie zidentyfikować powstały produkt degradacji. Na podstawie danych literaturowych i charakterystyki chromatograficznej tetracyklin, zidentyfikowała ten związek jako 4-epitetracyklinę. Jednak, aby jednoznacznie potwierdzić jego strukturę, warto byłoby zastosować techniki dedykowane identyfikacji produktów degradacji, takie jak LC-MS, spektroskopię NMR, czy spektroskopię IR. Wg mnie najbardziej interesujący aspekt tej pracy, to rzetelna analiza zmian fizykochemicznych zachodzących podczas dwumiesięcznego przechowywania roztworów i hydrożeli. Do tego celu, oprócz wizualnej inspekcji, Doktorantka wykorzystała techniki XRPD i SEM, co pozwoliło Jej zaobserwować amorficzne precypitaty, które mogą korzystnie wpływać na trwałość hydrożelowych formulacji dermatologicznych. Bardzo użyteczne są również przedstawione przez Autorkę rekomendacje dotyczące przechowywania hydrożeli w nieprzezroczystych pojemnikach chroniących od światła, w niskich temperaturach i w odpowiednim pH w celu zwiększenia trwałości tetracykliny.

Kolejna publikacja jest kontynuacją podjętych badań i dotyczy oceny wpływu etanolu o różnym stężeniu na właściwości fizykochemiczne i aktywność przeciwbakteryjną opracowanych formulacji hydrożelowych z chlorowodorkiem

tetracykliny. Pierwszy etap badań dotyczył analizy trwałości antybiotyku w obecności etanolu z wykorzystaniem metody HPLC do oznaczeń stężeń leku. Tym razem analizę rozszerzono o produkt degradacji 4-epitetracyklinę. Autorka zaobserwowała wysoką trwałość chlorowodorku tetracykliny w hydrożelu zwierającym do 25% etanolu, jednak dwukrotny wzrost jego zawartości powodował spadek stężenia antybiotyku o ok. 50%. Co ciekawe, malało również stężenie produktu degradacji - 4-epitetracykliny. Przeprowadzona w dalszej części badań charakterystyka fizykochemiczna, obejmująca ocenę reologiczną badanych formulacji w zakresie temperatur 20 – 40°C, jest bardzo istotna ze względów aplikacyjnych. Uzyskane wyniki pomiarów lepkości dostarczają bowiem ważnych informacji w odniesieniu do przechowywania, aplikacji i przylegania preparatów do powierzchni skóry. Kolejnym ważnym aspektem poruszanym w pracy była aktywność przeciwbakteryjna preparatów wobec szczepu *Cutibacterium acnes*, oceniana na podstawie zmiany biomasy bakterii oraz obrazowania mikroskopowego. Na podstawie uzyskanych wyników, Autorka potwierdziła właściwości antybakteryjne badanych hydrożeli z chlorowodorkiem tetracykliny i etanolem, przy czym wykazane przeciwbakteryjne właściwości samego etanolu mogą zwiększać skuteczność opracowanych formulacji. Jedyna moja uwaga dotyczy opracowania tej części rozprawy. Wygodniej dla czytelnika byłoby, gdyby Rycina 9 znalazła się na str. 50, gdzie Autorka opisuje badanie i interpretuje uzyskane wyniki. W obecnej formie na str. 46, ze względu na brak komentarza, nie jest jasne, czego dotyczą prezentowane na niej dane.

W kolejnym rozdziale rozprawy opisano wyniki badań dotyczących oceny wpływu składników tworzących strukturę polimerową hydrożelu na trwałość antybiotyku i aktywność formulacji wobec modelowego sebum. Jak deklaruje Doktorantka, wyniki te zostały opublikowane, jednak publikacja ta nie wchodzi w skład cyklu objętego rozprawą doktorską. Niemniej jednak, zaprezentowane badania w sposób rzetelny przedstawiają proces rozwoju formulacji i optymalizacji jej składu w celu uzyskania preparatu o pożądanych właściwościach fizykochemicznych i terapeutycznych. Doktorantka wykazała, że proporcje trometaminy oraz karbomeru, poprzez wpływ na pH, są kluczowym czynnikiem decydującym o trwałości antybiotyku oraz działaniu formulacji wspomagającym oczyszczanie mieszków włosowych. Jest to bardzo ważny wniosek, który w sposób jednoznaczny potwierdza konieczność precyzyjnego doboru składników w celu maksymalizacji skuteczności i bezpieczeństwa preparatów leczniczych.

W rozprawie ujęto również wstępne wyniki badań dotyczących możliwości zastosowania w opracowanych hydrożelach związków wspomagających działanie przeciwtrądzikowe, tj. kwasu azelainowego i jego pochodnej azeloglicyny. Na podstawie

przeprowadzonych badań trwałości chlorowodorku tetracykliny oraz właściwości reologicznych hydrożeli, Doktorantka potwierdziła przewagę azeloglicyny jako substancji aktywnej, co stało się podstawą jej wyboru w dalszych etapach badań.

Ostatnia publikacja objęta rozprawą doktorską, wg mnie najważniejsza w całym cyklu, dotyczy szczegółowej analizy właściwości fizykochemicznych oraz potencjalnej skuteczności i bezpieczeństwa opracowanych preparatów zawierających tetracyklinę lub chlorotetracyklinę oraz azeloglicynę jako składnik wspomagający o działaniu przeciwbakteryjnym i pielęgnującym. Szczegółowe badania właściwości fizykochemicznych, przeprowadzone analogiczne jak w poprzednich pracach z cyklu, zostały rozszerzone o analizę strukturalną hydrożeli z wykorzystaniem spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR), analizę zdolności opracowanych hydrożeli do oczyszczania modelu mieszka włosowego wypełnionego sztucznym sebum oraz analizę mikrobiologiczną z użyciem szczepu *Staphylococcus aureus,* przeprowadzoną w warunkach zbliżonych do środowiska skóry trądzikowej. Ponadto, dokonano wstępnej oceny bezpieczeństwa i biozgodności preparatów w układzie biologicznym z wykorzystaniem larw *Galeria mellonea*. Na podstawie przeprowadzonych badań Autorka wykazała lepszą trwałość tetracykliny w porównaniu do chlorotetracykliny w szerokim zakresie pH, korzystny wpływ azeloglicyny na właściwości reologiczne formulacji oraz ich interakcję z komponentami sebum i biofilmem bakteryjnym oraz korzystny profil bezpieczeństwa opracowanych formulacji. Zaprezentowane w pracy badania mają charakter interdyscyplinarny i stanowią istotny wkład w rozwój nowoczesnych formulacji dermatologicznych dedykowanych leczeniu złożonych problemów skórnych.

W przedstawionej do oceny rozprawie zamieszczono wnioski oraz podsumowanie przeprowadzonych badań, które jednoznacznie wskazują na zasadność opracowania preparatów hydrożelowych działających miejscowo, zawierających tetracyklinę oraz substancje wspomagające, takie jak AMPD, etanol i azeloglicyna. Przemawia za tym wielokierunkowe działanie tych formulacji, nie tylko ze względu na udowodnioną zdolność do ograniczania rozwoju biofilmu bakteryjnego, lecz również poprzez interakcje ze składnikami sebum, co może zwiększać skuteczność leczenia trądziku pospolitego.

Do rozprawy dołączono również bibliografię, obejmującą 120 pozycji, głównie w postaci publikacji zagranicznych z kilku ostatnich lat i źródeł internetowych, które zostały dobrze dobrane i w sposób wyczerpujący wyjaśniają podstawy teoretyczne podjętych badań. Praca napisana jest starannie pod względem edytorskim, z dbałością o szczegóły przy jednoczesnym zachowaniu przejrzystości wywodu. Zastosowane metody badawcze są nowoczesne i zostały trafnie dobrane do rodzaju zadań badawczych i wyznaczonego celu.

Liczne tabele i ryciny obrazujące wyniki badań przedstawione w publikacjach są niezwykle pomocne przy interpretacji prezentowanych parametrów. W mojej ocenie wszystkie wyniki zostały poprawnie zinterpretowane i skomentowane.

Podsumowując, recenzowana rozprawa doktorska jest oryginalna i dostarcza wielu wartościowych danych dotyczących właściwości fizykochemicznych, efektywności i bezpieczeństwa hydrożelowych formulacji dermatologicznych zawierających tetracykliny. Zawarte w niej dane i sposób analizy świadczą o dużej wiedzy i umiejętnościach Doktorantki, nie tylko w zakresie planowania eksperymentów i prowadzenia badań z wykorzystaniem różnorodnych metod analitycznych i układów modelowych, ale także analizy i dyskusji uzyskanych wyników. Stanowi ona twórczy wkład Doktorantki w proces rozwoju nowego preparatu o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu miejscowym trądziku pospolitego.

Rozprawa doktorska, autorstwa mgr Agnieszki Kostrzębskiej spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 t.j.). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy mgr Agnieszki Kostrzębskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.

Dodatkowo, proponuję wyróżnić przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską ze względu na wysoki aplikacyjny charakter przeprowadzonych badań. O ich wartości świadczy również fakt, że zostały opublikowane w specjalistycznych czasopismach z bazy JCR o sumarycznym współczynniku oddziaływania IF= 16,325 i punktacji MEiN = 340.

prof. dr hab. Marta Karaźniewicz-Łada
specjalista farmacji klinicznej