



Kraków, 11 marzec 2019



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

Pani mgr Ewy Zofii PILCH

pt. „Otrzymywanie oraz wybrane właściwości żeli hydrofilowych z frakcją liposomową z dobezylanem wapnia”

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Ewy Zofii Pilch została wykonana w Katedrze i Zakładzie Chemii Fizycznej, Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Promotorem pracy jest Pan dr hab. Witold Musiał, prof. nadzw., kierownik ww. Katedry.

Rozprawa doktorska ma formę cyklu 3 spójnych tematycznie publikacji o łącznym współczynniku oddziaływania $IF=6.555$ i 80 pkt. MNiSW. Dwa artykuły stanowią prace oryginalne, trzecia praca jest artykułem poglądowym. We wszystkich pracach Pani mgr Ewa Zofia Pilch jest pierwszym autorem. Na podkreślenie zasługuje fakt, że wszystkie artykuły zostały opublikowane w czasopismach z listy A wg MNiSW.

Głównym kierunkiem zawartych w pracy doktorskiej zainteresowań badawczych Pani mgr Ewy Zofii Pilch jest poszukiwanie nośnika dla dobezylanu wapnia, który stworzyłby możliwość opracowania hydrożelu o kontrolowanym uwalnianiu substancji leczniczej, przeznaczonym do podania na skórę.

Aktywność farmakologiczna dobezylanu wapnia polega przede wszystkim na zmniejszaniu przepuszczalności naczyń włosowatych, agregacji płytek krwi oraz poprawie transportu limfatycznego. W leczeniu dobezylan wapnia jest stosowany w terapii retinopatii i nefropatii cukrzycowej oraz przewlekłej niewydolności żyłnej.

Obecnie w Polsce zarejestrowane są produkty lecznicze z dobezylanem wapnia w postaci tabletek oraz kapsułek o niemodyfikowanym uwalnianiu, przeznaczone do podawania doustnego. Dobezylan wapnia wchodzi również w skład kosmetycznego żelu do pielęgnacji skóry naczynkowej.

Mimo, że dobezylan wapnia jest substancją rozpuszczalną w wodzie, jego rozpuszczalność w kwaśnym pH zmniejsza się. Z kolei w pH zasadowym, substancja lecznicza jest podatna na utlenianie. Powyższe właściwości mogą mieć negatywny wpływ na dostępność biologiczną po podaniu doustnym. Biorąc pod uwagę działanie farmakologiczne dobezylanu wapnia, w pełni uzasadnione jest podejmowanie prac badawczo-rozwojowych, mających na celu opracowanie nowych postaci leku, które stworzyłyby możliwość uzyskania jednocześnie działania ogólnego lub/i miejscowego substancji leczniczej oraz wyeliminowania ograniczeń wynikających z jej właściwości fizykochemicznych. Opracowanie postaci leku do podania na skórę stwarza niewątpliwie taką możliwość.

W technologii hydrożeli, obecność dwuwartościowych jonów wapnia może inicjować reakcje chemiczne z wolnymi grupami funkcyjnymi polimerów,

Wydział

Farmaceutyczny

Katedra

Technologii

Postaci Leku

i Biofarmacji

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48(12) 62 05 600

fax: +48(12) 62 05 619

tpl@farmacja.cm-uj.krakow.pl

stosowanych jako substancje żelotwórcze. Na skutek tej interakcji, właściwości fizykochemiczne matrycy hydrożelowej mogą ulec niekorzystnej zmianie, co z kolei może stanowić istotne ograniczenie w praktycznym zastosowaniu preparatu. Ciekawym rozwiązaniem tego problemu jest inkorporowanie do powstałej matrycy hydrożelowej nośników dla substancji leczniczej w formie mikro- lub nanostruktur pęcherzykowych, takich jak frakcja liposomowa. Stwarza to możliwość stabilizacji substancji leczniczej oraz kontroli jej uwalniania. Rozpuszczalna w wodzie substancja lecznicza jest zamknięta we wnętrzu takiego nośnika. Jeśli dodatkowo w skład liposomów wchodzi etanol (tzw. etosomy), możliwe jest znaczne zwiększenie wchłaniania substancji leczniczej.

Niewątpliwą wartością rozprawy doktorskiej Pani Ewy Zofii Pilch jest zaproponowanie nowatorskiego rozwiązania technologicznego, jakim jest opracowanie liposomów oraz etosomów z dobezytanem wapnia, a następnie ich inkorporowanie w modelowej matrycy hydrożelowej na bazie metylocelulozy.

Biorąc pod uwagę fakt, że dobezytan wapnia jest jedną z nielicznych substancji leczniczych syntetyzowanych w Polsce, słowa uznania należą się Doktorantce i jej Promotorowi - Panu dr hab. Witoldowi Musiał, prof. nadzw. - za wysoce aplikacyjny charakter podjętej tematyki badawczej, opisanej w niniejszej rozprawie.

Wyniki swoich badań Doktorantka przedstawiła w formie 110-stronicowej dysertacji, stanowiącej przewodnik po trzech publikacjach wplecionych w tekst oraz dodatkowy rozdział, dotyczący badań własnych, nieujętych w publikacjach. Rozprawa jest przygotowana w sposób estetyczny i przejrzysty.

Część teoretyczna – Wprowadzenie - rozpoczyna się krótkim opisem zasadniczego celu pracy, po którym następuje 8-stronicowa charakterystyka, uwzględniająca kolejno: właściwości podłoży hydrożelowych, liposomów, dobezytanu wapnia, etanolu jako substancji pomocniczej promującej wchłanianie oraz procesu liofilizacji w aspekcie stabilizacji liposomów. Ciekawym uzupełnieniem tego rozdziału jest praca pogładowa Doktorantki, przedstawiająca metody wytwarzania etosomów oraz przykłady ich zastosowania w technologii postaci leku. Praca została opublikowana na łamach renomowanego czasopisma *International Journal of Molecular Sciences* (Wyd. MDPI, IF₂₀₁₇=3.687).

Następnie Doktorantka opisuje materiały i metody użyte do realizacji badań, w tym również metodykę badań własnych nieopublikowanych. Docenić tutaj należy, umiejętności Doktorantki w doborze i posługiwaniu się zaawansowanym warształem badawczym, na który składają się nowoczesne narzędzia analizy fizykochemicznej, tj. metoda dynamicznego rozproszenia światła (DLS), spektroskopia w podczerwieni (FT-IR), analiza termogravimetryczna (TG, DTG), czy różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC).

Dalej następuje syntetyczny opis wyników badań z odniesieniem do dwóch publikacji oryginalnych zawartych w cyklu oraz dyskusja wyników.

Pierwsza praca oryginalna przedstawia wpływ matrycy hydrożelowej oraz rodzaju nośnika na kinetykę uwalniania dobezyłanu wapnia. Doktorantka opisała 8 receptur hydrożeli z dobezyłanem wapnia. Substancja lecznicza była inkorporowana w matrycy hydrożelowej w postaci liposomów przygotowanych na bazie lecytyny lub etosomów, zawierających dodatkowo etanol lub etanol i cholesterol. Wprowadzenie 20% etanolu do systemu nośnikowego (tj. opracowanie etosomów), korzystnie wpływało na stabilność liposomów w matrycy żelowej oraz szybkość uwalniania substancji aktywnej. Pozytywny wpływ na stabilność liposomów/etosomów miał również dodatek cholesterolu. Badania szybkości uwalniania, zostały uzupełnione matematyczną analizą kinetyki tego procesu. Najlepiej dopasowanym modelem kinetycznym okazał się model Higuchi'ego.

Przedmiotem drugiej pracy oryginalnej jest ocena wpływu suszenia liofilizacyjnego na właściwości hydrożeli, zawierających dobezyłan wapnia w postaci liposomów. Autorka wykazała, że podczas rehydratacji hydrożelu, możliwe jest odtworzenie pęcherzykowych struktur nośnikowych dla dobezyłanu wapnia, tj. liposomów i etosomów. Ponadto stwierdziła, że półstały hydrożel powstały w wyniku pęcznienia łańcuchów metylocelulozy, zapobiegał agregacji liposomów podczas rehydratacji, ale jego wysoka osmolarność powodowała ich deformację. Przy użyciu techniki DLS wykazano wpływ dodatku etanolu i cholesterolu na wielkość liposomów. Zastosowanie spektroskopii w podczerwieni (FT-IR) umożliwiło, identyfikację interakcji między lecytiną i etanolem, która może skutkować hydrolizą wiązań estrowych w cząsteczce lecytyny. Co ciekawe, powyższa interakcja nie powodowała utraty kulistego kształtu liposomów, utrzymywanych w sferycznej formie dzięki obecności długołańcuchowych kwasów tłuszczowych i ich soli.

Zakres prac badawczych opisanych w artykułach oryginalnych, sposób prezentacji wyników oraz ich interpretacji nie wymaga dodatkowego komentarza, biorąc pod uwagę przychylne opinie międzynarodowych ekspertów, z jakimi te prace musiały się spotkać przed opublikowaniem. Samo ich wydanie na łamach czasopism z bazy JCR świadczy o wysokich walorach naukowych badań, które wnoszą istotny wkład w światową literaturę naukową z obszaru technologii postaci leku.

Podsumowanie najważniejszych wyników badań, Kandydatka zawarła w siedmiu wnioskach. Sześć z nich ma bezpośredni związek z wykonanym eksperymentem, siódmy wniosek ma charakter bardziej ogólny.

Rozprawę kończy wykaz piśmiennictwa, obejmujący w sumie 51 prac, umiejętnie cytowanych w tekście rozprawy. Drobny mankament edytorski, nie umniejszający wartości rozprawy, dotyczy sposobu cytowania piśmiennictwa, który jest niejednorodny, ale zasadniczo polega na umieszczaniu odnośnika po kropce kończącej zdanie, zamiast przed końcowym znakiem interpunkcyjnym.

W streszczeniu pracy, Doktorantka przedstawiła najważniejsze jej elementy. Wersja angielska streszczenia jest spójna z wersją polską. Uzupełnieniem rozprawy jest lista publikacji własnych Doktorantki, krótki życiorys oraz oświadczenia współautorów prac wchodzących w skład cyklu publikacji. Ostatnie dwa rozdziały niniejszej rozprawy stanowią kopie prac tworzących cykl publikacji, jak również tych otwierających przewód doktorski.

Na dodatkowy komentarz zasługuje, pierwszy artykuł oryginalny Doktorantki, który co prawda nie wchodzi w skład cyklu publikacji, ale stanowił podstawę otwarcia niniejszego przewodu doktorskiego.

Praca dotyczy oceny właściwości reologicznych powstałych podłoży kremowych, stanowiących nośnik dla substancji leczniczej z grupy kortykosteroidów. Ta krótką, jednak starannie przygotowaną, publikacją wskazuje na zdolności Pani mgr Ewy Zofii Pilch do poprawnego opracowania wyników badań naukowych i w pełni uzasadnia jej starania o nadanie stopnia naukowego doktora.

Biorąc pod uwagę doświadczenie Doktorantki w wykonywaniu i interpretacji wyników analiz reologicznych układów powstałych, po przeczytaniu przedłożonej do oceny rozprawy nasuwają mi się dwa pytania o charakterze polemicznym:

- 1) *Czy opracowanie żeli hydrofilowych z frakcją liposomową może mieć wpływ na właściwości reologiczne preparatu w porównaniu do hydrożelu, który nie zawiera frakcji liposomowej? Jakie to może mieć znaczenie praktyczne?*
- 2) *Jakie inne substancje żelujące mogłyby zostać użyte do przygotowania powstałej matrycy hydrożelowej w aspekcie zapewnienia kontroli uwalniania dobezylanu wapnia?*

W pracy nie znaleziono istotnych błędów stylistycznych, ortograficznych lub gramatycznych.

Drobna uwaga dotyczy Rysunku 4. Dobezylan wapnia jest monohydratem (wg FP XI), dlatego wzór strukturalny substancji leczniczej powinien uwzględniać obecność cząsteczki wody w strukturze związku.

Powyższe uwagi wynikają z obowiązków recenzenta, ale w żaden sposób nie wpływają na całokształt mojej wysoce pozytywnej opinii na temat niniejszej rozprawy doktorskiej.


Podsumowanie

Recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr Ewy Zofii Pilch składa się z cyklu trzech prac naukowych opublikowanych w czasopiśmie, znajdujących się w bazie Journal Citation Report (JCR). Ich sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) wynosi 6.555.

Osiągnięcie naukowe będące przedmiotem rozprawy, jest bez wątpienia nowatorskie. Istotnym atutem pracy jest wysoki potencjał aplikacyjny wyników, które mogą być pomocne w opracowaniu nowych, polskich produktów leczniczych z dobezytanem wapnia przeznaczonych do terapii powikłań, towarzyszących chorobom cywilizacyjnym.

Na podstawie przedstawionej rozprawy doktorskiej stwierdzam, że wypełnia ona wymogi merytoryczne i formalne stawiane dysertacjom doktorskim. Niniejszym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr Ewy Zofii Pilch do dalszych etapów postępowania w ubieganiu się o stopień naukowy doktora.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoką wartość naukową rozprawy, wnioskuje do Wysokiej Rady o wyróżnienie opiniowanej pracy (załącznik 1).

Katedra Technologii Postaci Leku
i Biofarmacji UJCM

dr hab. Anna Krupa
Adiunkt

Kraków, 11.03.2019



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Imię i nazwisko recenzenta: **dr hab. n. farm. Anna Krupa**

Imię i nazwisko doktoranta: **mgr n. farm. Ewa Zofia Pilch**

Tytuł pracy doktorskiej: **„Otrzymywanie oraz wybrane właściwości żeli hydrofilowych z frakcją liposomową z dobezylanem wapnia”**

WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE PRACY DOKTORSKIEJ

Niniejszym zwracam się do Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o wyróżnienie przedmiotowej rozprawy doktorskiej.

Uzasadnienie:

Przedstawiona do recenzji praca stanowi cykl trzech spójnych tematycznie publikacji o łącznym wskaźniku oddziaływania $IF=6.555$ i 80 pkt. MNiSW ($>>30$). Istotnym jest, że wszystkie prace zostały opublikowane w czasopismach z listy A wg MNiSW. We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, a jej wiodący wkład w powstanie niniejszych publikacji nie budzi wątpliwości.

Wyniki badań opisane w ocenianej pracy doktorskiej mają wysoką wartość innowacyjną, poznawczą i aplikacyjną. Doktorantka opracowała metodę sporządzania liposomów/etosomów z dobezylanem wapnia oraz technologię wprowadzania ich do półstałej matrycy hydrożelowej. Następnie Pani mgr Ewa Pilch wykazała umiejętność posługiwania się zaawansowanymi metodami analizy fizykochemicznej w badaniach preformulacyjnych, tj. FT-IR, DTG, DSC.

Baza wiedzy zgromadzona w oparciu o wyniki tych analiz może być pomocna w opracowaniu nowoczesnego, polskiego produktu leczniczego do podawania na skórę.

Na całkowity dorobek Doktorantki składa się 6 prac o sumarycznym $IF=8.056$ i 125 pkt. MNiSW. Pani mgr Ewa Zofia Pilch jest autorką lub współautorką 14 komunikatów zjazdowych (12 zaprezentowanych na konferencjach krajowych oraz 2 na konferencjach międzynarodowych).

Wydział

Farmaceutyczny

Katedra

Technologii

Postaci Leku

i Biofarmacji

Katedra Technologii Postaci Leku
i Biofarmacji UJCM

dr hab. Anna Krupa
Adiunkt

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48(12) 62 05 600

fax: +48(12) 62 05 619

tnl@farmacia.um.wroclaw.pl