



UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KATEDRA I ZAKŁAD FARMACJI FIZYCZNEJ I FARMAKOKINETYKI

ul. Święcickiego 6
60-781 Poznań

tel. 061 854 64 37
fax 061 8546430
e-mail: glowka@ump.edu.pl

Prof. dr hab. Franciszek Główka, prof. zw.

Poznań, 4 czerwca 2020 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej **mgr. farm. Tomasza Urbaniaka**, asystenta w Katedrze i Zakładzie Chemii Fizycznej i Biofizyki Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Rozprawa doktorska **mgr. Tomasza Urbaniaka** pt. *Wytwarzanie mikronośników koniugowanych substancji leczniczych na potrzeby chorób makrofago-zależnych* 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)* z uwzględnieniem wymogów Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Podstawą rozprawy jest cykl 3 publikacji z udziałem Kandydata do stopnia doktora jako pierwszego autora, opublikowanych w uznanych czasopismach o cyrkulacji międzynarodowej:

1. Urbaniak, T.; Machová, D.; Janoušková, O.; Musiał, W. Microparticles of Lamivudine-Poly- ϵ -Caprolactone Conjugate for Drug Delivery via Internalization by Macrophages. *Molecules* 2019, 24, 723. IF 3,060.
2. Urbaniak, T.; Musiał, W. Influence of Solvent Evaporation Technique Parameters on Diameter of Submicron Lamivudine-Poly- ϵ -Caprolactone Conjugate Particles. *Nanomaterials*, 2019, 9, 1240. IF 4,084
3. Urbaniak, T.; Musiał, W. Selected Physicochemical and Pharmaceutical Properties of Poly- ϵ -caprolactone and Poly(d, l-lactide-co- ϵ -caprolactone) Conjugates of Lamivudine Synthesized via Ring-Opening Polymerization. *Polymers*, 2019, 11, 2124. IF 3,419.

1. Ocena merytoryczna

A. Trafność problematyki badawczej i jej oryginalność

Makrofagi odkryte na początku XX wieku utrzymują stan homeostazy w tkankach głównie dzięki swoim własnościom fagocytarnym i stanowią nadal przedmiot badań wielu naukowców ze względu m.in. na ich rolę w procesie rozwoju nowotworów układu krwiotwórczego. Problematyka badawcza obejmująca poszukiwanie nowych nośników substancji leczniczych dostarczanych na drodze procesu fagocytozy bezpośrednio do komórki uczestniczącej w procesie chorobowym, której realizacji podjął się mgr Tomasz Urbaniak, pod kierunkiem profesora Witolda Musiała stanowi aktualny kierunek badawczy i jest w mojej ocenie jak najbardziej zasadna. Oryginalność badań zaznacza się w niekonwencjonalnym ujęciu problematyki syntezy nowych mikronośników z opóźnionym uwalnianiem substancji leczniczej w komórce docelowej. Realizacja tego założenia może istotnie wpłynąć na zwiększenie biodostępności a w efekcie może znacznie poprawić efekt terapeutyczny.

Kandydat do stopnia doktora posiadał bardzo dobre przygotowanie teoretyczne do przeprowadzenia zaplanowanych badań, w szczególności syntezy nośników leków o czym przekonują omówione ze znanstwem zagadnienia we wstępie rozprawy doktorskiej. Doskonalił swoje umiejętności w zakresie badań polimerów uczestnicząc w specjalistycznym stażu - UNESCO/IUPAC Postgraduate Course on Polymer Science, organizowanym przez Czeską Akademię Nauk w Pradze w latach 2017 i 2018. Odbił szkolenie specjalistyczne w zakresie modelowania obliczeniowego i praktycznego badania zaawansowanych materiałów i ich zastosowań (Uniwersytet Humbolta w Berlinie). Ponadto doskonalił swoje umiejętności w zakresie chromatografii wykluczenia jonowego, analizie termicznej materiałów polimerowych metodą skaningowej kalorymetrii różnicowej. Odbił też szkolenie w zakresie metod proszkowej dyfrakcji rentgenowskiej.

Kandydat zastosował lamiwudynę, prolek stosowany w leczeniu zakażeń ludzkim wirusem niedoboru odporności, HIV, którą kowalencyjnie sprzęgał z nośnikami polimerowymi na bazie kwasu mlekowego oraz poli- ϵ -kaprolaktonu. Nasuwa się pytanie, jak stabilny jest prolek w warunkach prowadzenia syntezy nośnika z

substancja czynną? W jakich warunkach następowało uwalnianie substancji czynnej z proleku? W procesie fagocytozy, czy bezpośrednio przed?

B. Ocena uzyskanych rezultatów i ich znaczenie dla nauki i praktyki

W mojej ocenie zasadniczym efektem badań zrealizowanych w ramach recenzowanej rozprawy doktorskiej było otrzymanie mikronośników o spowolnionym uwalnianiu lamiwudyny, które wykazują się dużą wydajnością wychwytu przez makrofagi w procesie fagocytozy. Spośród opracowanych nośników najlepsze w tym względzie okazały się niepowleczone o charakterze lipofilowym oraz cząsteczki posiadające zewnętrzną warstwę heparynową. Natomiast mikronośniki posiadające na powierzchni dekstran czy chlorowodorek polialliloaminy nie wykazywały wysokiej wydajności wychwytu przez makrofagi w procesie fagocytozy. Uzyskane wyniki posiadają charakter poznawczy, ale mają też potencjał wynikający z możliwości zastosowania opracowanych nośników leków w terapii chorób immunologicznych czy nowotworowych. Mogą też być z powodzeniem wykorzystane w nowoczesnej technologii postaci leku. Mgr T. Urbaniak jest też autorem patentu obejmującego sposób wytwarzania biodegradowalnego polimeru ϵ -kaprolaktonu, czym podkreśla praktyczny aspekt swoich osiągnięć badawczych.

C. Poprawności formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna

Praca została napisana poprawnym językiem polskim, jak i angielskim. Posiada ładną szatę graficzną, a jej redakcja nie budzi zastrzeżeń. Drobne uwagi zaznaczono w tekście. Uważam, że zamiast stosowania jednostki rpm, poprawny jest zapis **x g**.

2. OCENA METODOLOGICZNA

A. Dobór literatury, umiejętności wykorzystania źródeł

Piśmiennictwo, na które powoływał się Kandydat w rozprawie doktorskiej, jest trafnie dobrane. Obejmuje pozycje odpowiadające tematyce prowadzonych badań. Ilość prac w poszczególnych publikacjach mieściła się w granicach 42-55. W większości są to aktualne pozycje literaturowe, najczęściej z ostatnich dziesięciu lat. Nadmienię, że

artykuły pochodzą z renomowanych czasopism o międzynarodowej cyrkulacji. Umiejętnie stosuje informacje literaturowe zarówno w uzasadnieniu założeń rozprawy doktorskiej, jak i w dyskusji wyników swoich badań.

B. Poprawność formułowania problemów i hipotez (założenia badawcze)

Kandydat do stopnia doktora przejrzyście i zasadnie sformułował założenia swoich badań. Głównym celem badawczym rozprawy było opracowanie oraz wytworzenie modelowego nośnika substancji leczniczej, który byłby transportowany do miejsca docelowego z wykorzystaniem zjawiska fagocytozy makrofagów. W swoich założeniach mgr. T Urbaniak uwzględnił możliwość dostarczenia lamiwudyny do komórek zmienionych chorobowo opierając się na zjawisku fagocytozy nośnika z lekiem. Oceniał czynniki wpływające na reakcje polimeryzacji oraz na właściwości fizykochemiczne koniugatów. Ponadto przeanalizował kinetykę reakcji polimeryzacji z otwarciem pierścienia inicjowanej przez lamiwudynę. Konsekwentnie dążył do otrzymania mikronośników, które ze względu na swoje właściwości i rozmiar podlegałyby fagocytozie. Podsumowaniem ambitnie realizowanego planu badawczego była ocena wydajności fagocytozy z wykorzystaniem komórek linii makrofagów mysich. Istotnym elementem badań była też ocena toksyczności uzyskanych mikronośników.

C. Trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętności ich zastosowania

Otrzymane na drodze polimeryzacji z otwarciem pierścienia koniugaty poliestrów kwasu mlekowego oraz poli- ϵ -kaprolaktonu z użyciem lamiwudyny jako inicjatora reakcji, były stosowane do otrzymywania mikrosfer o właściwościach i rozmiarach specyficznych dla procesu fagocytozy. Niewątpliwie Kandydat w sposób niezwykle skrupulatny i dobrze zaplanowany opracował warunki syntezy koniugatów. Ponadto analizował właściwości fizykochemiczne otrzymanych nośników pod kątem ich praktycznego zastosowania. Ze znanostwem stosował w tym celu nowoczesne metody analityczne obejmujące protonowy rezonans magnetyczny, chromatografię żelową, spektroskopię w podczerwieni, spektrometrię mas, proszkową dyfrakcję rentgenowską, skaningową kalorymetrię różnicową czy skaningową mikroskopię

elektronową. Ponadto przeprowadził badania in vitro uwalniania lamiwudyny z mikrosfer z zastosowaniem HPLC w odwróconym układzie faz. Całości dopełniały prace oceniające wydajność procesu fagocytozy otrzymanych mikrosfer na komórkach linii mysich makrofagów RAW 264.7 z zastosowaniem cytometrii przepływowej oraz ocena toksyczności nośników w warunkach in vitro. Podsumowując należy podkreślić profesjonalne prowadzenie badań przez mgr. T. Urbaniaka w całym cyklu analitycznym.

D. Poprawność układu pracy i struktury podziału treści


Układ pracy jest prawidłowy. Przedłożona do oceny rozprawa doktorska obejmuje czytelnie przygotowany komentarz zawarty na 30 stronach, obejmujący istotne zagadnienia dotyczące tematyki rozprawy: 1. Koniugaty polimer - lek, 2. Biodegradowalne poliestry, 3. Polimeryzacja z otwarciem pierścienia, 4. Poliestrowe mikronośniki. 5. Powlekanie metodą layer – by-layer, 6. Wychwyt cząsteczek przez makrofagi. W dalszej części przedstawiony został cel i założenia pracy oraz metody analityczne stosowane w podczas realizacji tematyki badawczej. Znaczną część pracy obejmuje rozdział Wyniki i dyskusja, podsumowanie badań w formie opisowej zawarto w rozdziale Wnioski. Zamieszczono też 48 pozycji piśmiennictwa oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Ponadto Kandydat do stopnia załączył listę publikacji z jego udziałem, uzyskany patent, spis doniesień zjazdowych oraz CV. Załączył też oryginalne publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej. Układ pracy, kolejność ukazywania się poszczególnych rozdziałów nie budzą zastrzeżeń. Bardzo pomocne byłoby zamieszczenie spisu skrótów, którymi Autor rozprawy posługuje się w pracy.

Ponadto proponuję zredagowanie wniosków wynikających z przeprowadzonych badań w postaci punktów zamiast formy opisowej. Pozwoli to w mojej ocenie na lepsze wyartykułowanie uzyskanych osiągnięć badawczych.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr. farm. Tomasza Urbaniaka posiada poznawczy charakter. Zawiera istotne osiągnięcia naukowe w zakresie opracowania mikronośników leków, przez co tematyka wchodzi w zakres nowoczesnej technologii postaci leku, cechuje się też praktycznym aspektem w kontekście możliwego wykorzystania nośników w terapii chorób. Założenia pracy są poprawne, a realizacja celu badań prowadzona jest prawidłowo. Autor stosuje uznane nowoczesne metody analityczne, posiada bogaty warsztat naukowy. Dyskusję wyników prowadzi w sposób rzeczowy, wyciąga właściwe wnioski. Podsumowując rozprawa mgr. Tomasza Urbaniaka spełnia 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 o nadanie mgr. Tomaszowi Urbaniakowi stopnia doktora nauk farmaceutycznych.

Kierownik Katedry i Zakładu
Farmacji Fizycznej i Farmakokinetyki


Prof. dr hab. Franciszek Głównka