



UNIwersytet Jagielloński  
COLLEGIUM MEDICUM  
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny  
Katedra Chemii Farmaceutycznej | Zakład Chemii Leków  
30-688 Kraków, ul. Medyczna 9, tel. +48 12 620 54 50  
www.famacja.cm-uj.krakow.pl

Kraków, 04.07.2022

Dr hab. Krzysztof Kamiński, Prof. UJ  
E-mail: k.kaminski@uj.edu.pl  
Tel. 12 620 54 59  
Kom. 602441759

### Ocena

**rozprawy doktorskiej pt. „Zastosowanie mezoporowatych krzemionek jako nośników trudno rozpuszczalnych substancji leczniczych z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych” wykonanej przez mgr farmacji Adriannę Dadej w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu pod kierunkiem prof. dr hab. Anny Jelińskiej.**

Recenzja została przygotowana na podstawie uchwały nr 35/2022 Kapituły Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z dnia 26 kwietnia 2022 r.

Rozpuszczalność substancji w wodzie jest jedną z kluczowych właściwości fizycznych kandydatów na nowe leki, szczególnie w aspekcie wchłaniania z przewodu pokarmowego, łatwości przygotowania odpowiedniej postaci leku oraz możliwości podania parenteralnego (w tym przede wszystkim dożylnego) preparatu. Słaba rozpuszczalność substancji czynnej w wodzie jest również główną przyczyną niskiej dostępności farmaceutycznej lub/i biologicznej po jej doustnym podaniu, co często uniemożliwia rozwój kandydata na nowy lek w badaniach klinicznych, a problem związany z rozpuszczalnością jest poważny i dotyczy blisko 90% nowo otrzymanych cząsteczek organicznych. Co równie istotne, w przypadku substancji charakteryzującej się niską rozpuszczalnością w wodzie stężenie terapeutyczne we krwi po jej doustnym podaniu uzyskuje się zwykle poprzez zwiększenie stosowanej dawki. Postępowanie takie niesie jednak ze sobą ryzyko wystąpienia toksyczności miejscowej ze strony przewodu pokarmowego, toksyczności ogólnoustrojowej, a także zwiększa prawdopodobieństwo interakcji lekowych. Dlatego też, dobra rozpuszczalność substancji czynnych biologicznie w wodzie została uznana za jedną z kluczowych właściwości fizycznych branych pod uwagę przy opracowywaniu i rozwoju kandydatów na nowe leki. Do podstawowych metod wykorzystywanych w celu poprawy rozpuszczalności substancji należą, metody fizyczne (m.in. zmniejszenie wielkości cząsteczek poprzez zabieg mikronizacji, modyfikacja struktury



krystalicznej, tworzenie mieszanin eutektycznych lub stałych rozprożeń leku w nośniku, itp.), metody chemiczne, które opierają się na modyfikacjach strukturalnych umożliwiających zwiększenie polarności związku, tworzenie soli lub proleków, a także wykorzystanie do tego celu cyklodekstryn. **W tym kontekście szczególnie interesujące jest podejście zaproponowane przez Doktorantkę, bazujące na wykorzystaniu mezoporowatych krzemionek, które adsorbując na powierzchni substancje w postaci amorficznej przyspieszają ich rozpuszczanie.**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została przygotowana w oparciu o spójny tematycznie cykl pięciu prac (1 przeglądowej i 4 eksperymentalnych), opublikowanych w latach 2019–2022 w renomowanych czasopismach specjalistycznych polskich, jak i zagranicznych, w tym m.in. *Pharmaceuticals*, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* oraz *Materials*. Łączny współczynnik IF wspomnianych publikacji jest wysoki i wynosi 14,813, a liczba punktów MEiN to 430. **W każdej z wymienionych publikacji Doktorantka jest autorem pierwszym, a w 4 korespondencyjnym (P1, P3–P5), co potwierdza jej dominującą rolę w prowadzonych badaniach, a także w opracowaniu poszczególnych manuskryptów.** Warto zauważyć, iż poruszona tematyka badawcza była również przedmiotem 6 krajowych i międzynarodowych konferencji naukowych. Co również istotne, badania będące przedmiotem rozprawy były współfinansowane w latach 2018-2019 ze środków Uniwersytetu im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, w ramach projektu, pt. „Studium porównawcze właściwości adsorpcyjnych krzemionki mezoporowatej SBA-15 i krzemionki koloidalnej w stosunku do niesteroidowych leków przeciwzapalnych”.

Rozprawa doktorska ma formę zwięzłego autoreferatu, podsumowującego najważniejsze osiągnięcia, na który składają się wykaz publikacji będących podstawą rozprawy (P1–P5), opis dorobku naukowego, charakterystyka przedmiotu badań, wprowadzenie, założenia i cel badań, omówienie wyników zawartych w publikacjach P1–P5 oraz wnioski. Rozprawę uzupełnia wykaz zastosowanych skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz trafnie dobrana i aktualna bibliografia obejmująca 40 pozycji. Integralną część opracowania stanowią kopie publikacji tworzących dysertację, a także oświadczenia współautorów ww. prac oryginalnych, które wskazują na wkład poszczególnych osób zaangażowanych w badania. W tym miejscu chciałbym jednak zaznaczyć, iż stwierdzenie pojawiające się w oświadczeniach Doktorantki, informujące o wykonaniu większości badań jest mało precyzyjne, natomiast bez wątplenia o jej istotnym zaangażowaniu mówi deklarowany wkład pracy w przygotowaniu poszczególnych manuskryptów, który wynosił od 60–90%. W rozprawie pojawia się również rozdział Orzeczenia Komisji Bioetycznej, który moim zdaniem, ze względu na charakter prac naukowych jest zbędny. W mojej opinii, cenne, a zarazem rzadko spotykane w rozprawach doktorskich są słowa kluczowe, zamieszczone tuż po stronie tytułowej, które szybko wprowadzają czytelnika w zawartość merytoryczną opracowania.

Informacje zamieszczone we wstępie rozprawy w zwięzły, ale satysfakcjonujący sposób przybliżają problem rozpuszczalności w wodzie, jako jednego z kluczowych parametrów fizycznych substancji leczniczych decydujących o ich przydatności klinicznej. Doktorantka w tej części pracy charakteryzuje również krótko metody fizyczne i chemiczne pozwalające na zwiększenie szybkości rozpuszczania trudno rozpuszczalnych substancji, a także zastosowanie



do tego celu mezoporowatych materiałów krzemionkowych, co według mojej opinii uzasadnia celowość zaproponowanych do realizacji badań naukowych. Wybór modelowych trudno rozpuszczalnych substancji, tj. fenylbutazonu, sulindaku oraz lornoksykamu, będących lekami z grupy NLPZ w mojej ocenie jest słuszny, biorąc pod uwagę duże znaczenia kliniczne tej grupy preparatów, a także ich znaczne zróżnicowanie strukturalne, co umożliwia prawidłowe zweryfikowanie postawionej hipotezy badawczej, tj. możliwość opracowania biokompatybilnych nośników substancji leczniczych opartych na mezoporowatej krzemionce SBA-15. W tym kontekście prowadzone przez Doktorantkę badania naukowe mają charakter kompleksowy ponieważ łączą one zagadnienia specjalności chemia leków, technologia postaci leku i biofarmacja, a poruszona problematyka jest interesująca i kluczowa z punktu widzenia rozwoju przedklinicznego i klinicznego, w szczególności cząsteczek trudno rozpuszczalnych w wodzie.

Założenia i cele pracy zostały skonstruowane w klarowny sposób, a następnie zrealizowane w systematycznych i logicznie zaplanowanych badaniach własnych, które obejmowały, m.in. syntezę niemodyfikowanych materiałów krzemionkowych SBA-15 oraz ich funkcjonalizowanie grupami 3-aminopropylowymi, opracowanie metody adsorpcji leków i oceny wydajności tego procesu na krzemionce niemodyfikowanej i modyfikowanej, analizę szybkości uwalniania substancji czynnej z otrzymanych układów oraz określenie potencjału cytotoksycznego z wykorzystaniem modelu komórkowego Caco-2. Metodyka badań chemicznych i fizykochemicznych w poszczególnych publikacjach P2–P5, została opisana w sposób przejrzysty, szczegółowy i wyczerpujący, a zastosowane techniki analityczne, służące m.in. do określenia powierzchni właściwej nośników, objętości porów i mikroporów, oceny właściwości teksturalnych i morfologii materiałów, postaci amorficznej lub krystalicznej leków, ilości substancji zaadsorbowanych wewnątrz i na powierzchni nośników, a także do oceny szybkości uwalniania substancji leczniczych są adekwatne i zgodne z aktualnymi wymaganiami. Wśród metod tych wymienić należy, m.in. transmisyjną i skaningową mikroskopię elektronową, rentgenowską dyfraktometrię proszkową, różnicową kolorymetrię skaningową, analizy termogravimetryczne i elementarne, metody UV-VIS i  $^1\text{H}$  NMR. Ocenę dostępności farmaceutycznej określono przy zastosowaniu klasycznego aparatu łopatkowego.

Najważniejszym osiągnięciem Doktorantki wynikającym z przeprowadzonych badań było otrzymanie krzemionki mezoporowatej SBA-15, zarówno niemodyfikowanej, jak i modyfikowanej grupami 3-aminopropylowymi. Dodatkowo, dowiedziono iż wspomniana funkcjonalizacja fragmentami o właściwościach zasadowych jest korzystna z punktu widzenia adsorpcji modelowych leków, a ponadto zapewnia ich szybsze rozpuszczanie w porównaniu z odpowiednią formą krystaliczną substancji, przy czym udowodniono również, iż efekt ten był uzależniony zarówno od stopnia pokrycia powierzchni krzemionki fragmentami 3-aminopropylowymi, który decydował o pojemności adsorpcyjnej krzemionek, jak i pH środowiska, w którym prowadzono analizę uwalniania (efekt zróżnicowany w zależności od badanej substancji). W przypadku lornoksykamu, Doktorantka, udowodniła również, iż korzystniejszą metodą ładowania nośnika modyfikowanego jest metoda polegająca na adsorpcji z roztworu w wyniku ciągłego mieszania, co umożliwiało rozlokowanie preparatu zarówno na powierzchni,



jak i w porach krzemionki. Niewątpliwą zaletą stosowanych nośników (wolnych i inkorporowanych lekiem) jest ich niska cytotoksyczność, którą zbadano na komórkach Caco-2.

**W mojej ocenie zakres przeprowadzonych badań jest szeroki i kompleksowy, co pozwoliło na zweryfikowanie postawionej hipotezy badawczej, i co najważniejsze zrealizowanie postawionego celu, tj. poprawy szybkości rozpuszczania modelowych leków w wyniku ich adsorpcji na krzemionce. Chciałbym jednocześnie podkreślić, iż wyniki badań wykonanych przez Doktorantkę mają charakter aplikacyjny i mogą zostać wykorzystane do opracowania nowych doustnych formułacji dla leków trudno rozpuszczalnych w wodzie, charakteryzujących się m.in. lepszą dostępnością farmaceutyczną i biologiczną, co może przyczynić się do obniżenia dawek wymaganych do uzyskania efektu farmakologicznego oraz redukcji działań niepożądanych, m.in. w obrębie przewodu pokarmowego. Warto również zaznaczyć, iż nośniki opisane w niniejszej dysertacji mogą posłużyć również do uzyskania postaci leku o modyfikowanym uwalnianiu substancji aktywnej, co może mieć korzystne przełożenie na optymalizację ich profilu farmakokinetycznego.**

Wysoko oceniam całościowy dorobek naukowy Doktorantki, który na ten moment jest znaczący i obejmuje współautorstwo w 13 publikacjach, z czego 5 to artykuły oryginalne, natomiast 9 to prace przeglądowe. Łączny współczynnik oddziaływania IF czasopism, w których opublikowane zostały ww. publikacje wynosi 25,343, a liczba punktów MEiN – 810. Dodatkowo, Doktorantka uczestniczyła w przygotowaniu rozdziału w monografii pt. „*Kierunki rozwoju chemii leków*” (pod redakcją prof. Anny Jelińskiej i dr hab. Izabeli Muszalskiej), a także w ramach popularyzowania nauki, prowadziła wykłady poświęcone farmakologii leków ocznych oraz działań niepożądanych związanych z narządem wzroku w ramach szkoleń przeznaczonych dla członków Polskiego Towarzystwa Optometrii i Optyki. Na szczególne podkreślenie zasługują szerokie zainteresowania naukowe Doktorantki, które poza głównym zagadnieniem ujętym w rozprawie doktorskiej, obejmują również nowe możliwości farmakoterapii cukrzycy, gruźlicy, wirusowego zapalenia wątroby typu C, czerniaka, wymiotów oraz reumatoidalnego zapalenia stawów. Świadczy to niewątpliwie o cennej dla młodego badacza otwartości naukowej, łatwości stawiania i rozwiązywania problemów naukowych, co w mojej opinii jest kluczowe dla budowania kariery akademickiej.

Analiza wyników opisanych w rozprawie i publikacjach oryginalnych nasuwa pewne pytania i sugestie, które w przyszłości mogą pozwolić na opracowanie kolejnych wartościowych manuskryptów, a być może przygotowanie wyników do komercjalizacji:

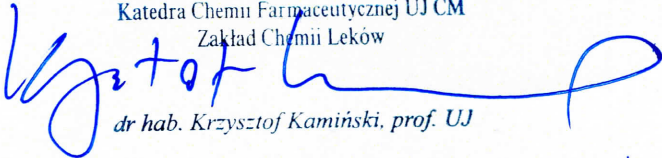
- W kilku miejscach rozprawy (m. in.) we Wnioskach (s. 26) pojawia się błędna konkluzja dotycząca poprawy biodostępności, ponieważ nie zostało to potwierdzone eksperymentalnie. Należy zaznaczyć, iż zwiększanie dostępności farmaceutycznej nie oznacza równocześnie poprawy dostępności biologicznej leku w szczególności po podaniu doustnym. W mojej ocenie stwierdzenie to musi zostać poparte wynikami badań farmakokinetycznych,
- Czy zastosowanie w szczególności fenylobutazonu w formie połączeń z krzemionką może przyczynić się do zredukowania toksyczności miejscowej leku, tj. działania drażniącego na przewód pokarmowy?



- Jak jest możliwość wykorzystania krzemionki BSA-15 do otrzymywania leków w skali przemysłowej?
- Opis podstaw teoretycznych spektroskopii protonowego rezonansu jądrowego  $^1\text{H}$  NMR na stronie 20 jest moim zdaniem zbyteczny,
- Czy opracowane nośniki oparte na mezoporowatej krzemionce mogą posłużyć do zwiększenia szybkości rozpuszczania leków o właściwościach obojętnych lub zasadowych?

Reasumując, pod względem merytorycznym i formalnym przedłożona do oceny praca spełnia wszystkie kryteria stawiane rozprawom o stopień doktora, które określa art. 13, ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity - Dz. U. z 2017 r., poz. 1789), zatem wnoszę do Kapituły Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, o jej przyjęcie i dopuszczenie Autorki, Pani mgr farm. Adrianny Dadej, do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dodatkowo, mając na uwadze innowacyjność, kompleksowość i wysoki poziom naukowy przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej, a także fakt, że opisane w niej badania są przedmiotem 4 prac oryginalnych i 1 przeglądowej w czasopismach o uznanej w środowisku renomie, wnoszę o jej wyróżnienie.

Katedra Chemii Farmaceutycznej UJ CM  
Zakład Chemii Leków  
  
dr hab. Krzysztof Kamiński, prof. UJ