



UNIwersytet  
MIKOŁAJA KOPERNIKA  
W TORUNIU

Wydział Farmaceutyczny  
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Prof. dr hab. Michał Piotr Marszałł

KATEDRA CHEMII LEKÓW

ul. Dr Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz,  
tel. +48 52 585 35 32, fax. +48 52 585 35 29  
e- mail: mmars@cm.umk.pl

Bydgoszcz, dn. 05.04.2023 r.

### Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. wet., mgr anal. med. Ludwika Piwowarczyk

*„Wykorzystanie nanoformulacji liposomalnych do zwiększenia potencjału przeciwnowotworowego  
wybranych związków pochodzenia naturalnego”*

wykonanej pod kierunkiem promotor prof. dr hab. Anny Jelińskiej,

oraz promotora pomocniczego dr Dariusza Młynarczyka

w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej

Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Liposomy ze względu na specyficzną strukturę i właściwości obecnie mają szerokie zastosowanie nie tylko w przemyśle kosmetycznym, ale również spożywczym i farmaceutycznym. Z punktu widzenia technologii postaci leku liposomy dzięki względnie prostej technologii wytwarzania są nośnikami o dużym potencjale aplikacyjnym. Przede wszystkim potrafią transportować leki bez względu na rozpuszczalność substancji aktywnych, zapewniając długotrwałe i ukierunkowane dostarczanie leku różnymi drogami podania. Dodatkowo, enkapsulacja substancji leczniczej w liposomy zwiększa jej trwałość i stabilność, chroniąc ją przed niekorzystnymi czynnikami zewnętrznymi. Powyższa tematyka wpisuje się w badania zrealizowane przez panią lek. wet., mgr anal. med. Ludwika Piwowarczyk w Katedrze i Zakładzie Chemii Leków, Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w ramach rozprawy doktorskiej, której promotorem jest Pani prof. dr hab. n. farm. Anna Jelińska, a promotorem pomocniczym dr n. farm. Dariusz Młynarczyk.

Rozprawa doktorska liczy 140 stron i poprzedzona jest wykazem skrótów, spisem treści oraz opisem aktywności i dorobku naukowego doktorantki. Dysertacja stanowi cykl 4 publikacji (w tym dwie przeglądowe) o łącznym współczynniku IF wynoszącym 26,352, w których doktorantka jest główną autorką a w trzech jest również autorem korespondencyjnym. Następnie został przedstawiony przedmiot badań, założenia i cele rozprawy doktorskiej oraz wnioski.

Cykl publikacji otwiera praca przeglądowa w czasopiśmie *Cancers* (2020), która podsumowuje doniesienia naukowe dotyczące opisu poszczególnych mechanizmów molekularnych i korzystnego wpływu kurkuminy i galusanu (-) epigallokatechiny jako potencjalnych leków w raku pęcherza moczowego. Ważnym spostrzeżeniem autorki jest fakt synergistycznego wpływu m.in. doksorubicyny i cisplatyny na działanie powyższych związków. W przypadku kurkuminy efekt ten przeciwdziała zjawisku oporności wielolekowej, poprzez uwrażliwienie komórek wieloopornych raka pęcherza moczowego na pojedyncze leki.

Realizacja pierwszego etapu badań została opisana w czasopiśmie *Nanomaterials* (2020). Doktorantka przeprowadziła badania porównawcze kurkuminy oraz stabilnej formy paracetylowanego galusanu epikatechiny (pEGCG) wykazując możliwość enkapsulacji powyższych fenoli osobno oraz w mieszaninie ze względnie wysoką efektywnością enkapsulacji. Oceeniła i porównała trwałość oraz wpływ wolnych związków polifenolowych oraz po ich inkorporacji w liposomach na przeżywalność badanych linii komórkowych. Udowodniła, że formułacja liposomalna utworzona z fosfolipidu (POPC) zawierająca mieszaninę polifenoli zwiększyła stabilność kurkuminy oraz paracetylowanego galusanu epikatechiny. Ciekawym wynikiem okazał się antagonistyczny wpływ badanych formułacji na linie komórkowe raka pęcherza moczowego (5637) oraz raka prostaty (LNCaP). Analizując publikację nasuwają się pytania:

- badając właściwości fizykochemiczne form liposomalnych, czy wykazano zależność ich aktywności na różne linie komórkowe od np. wielkości cząstek czy potencjału zeta?

- informacja umieszczona na str 27 o dotycząca DMSO – czy w praktyce stosowanie rozpuszczalnika DMSO negatywnie wpływa (fałszuje) badania in vivo?

W trzeciej publikacji (*Biomedicine&Pharmacotherapy*, 2022), doktorantka opracowała przegląd naukowy dotyczący leczenia wybranych chorób głowy i szyi różnymi analogami kurkuminy w postaci różnych formułacji m. in. hydrożeli, dendrymerów czy też nanocząstek żelaza. Potwierdza on duże zainteresowanie kurkuminą oraz jej pochodnymi w badaniach in

żelaza. Potwierdza on duże zainteresowanie kurkumina oraz jej pochodnymi w badaniach in vitro a najnowsza literatura wskazuje na wielokierunkowy biomechanizm jej działania. Ponadto dzięki zdolności do generowania wolnych form tlenu po naświetlaniu, z powodzeniem może być stosowana w terapii fotodynamicznej niektórych nowotworów. W pracy autorka wskazuje również na literaturowe błędy w opisie niektórych linii komórkowych, podając dostępne międzynarodowe bazy danych, które powinny być podstawowym źródłem wiedzy dla opisu badań in vitro.

Ostatnia (czwarta publikacja) w czasopiśmie *Cancers* (2020), jest pracą opisującą próbę enkapsulacji związków naturalnych (kurkuminy, bisdemetoksykurkuminy, akteozydu oraz orientyny) jako potencjalnej strategii terapeutycznej w glejaku wielopostaciowym. Opracowana metodyka wytwarzania liposomów oparta była na bazie dwóch lipidów DOTAP oraz POPC. Doktorantka po enkapsulacji w formy liposomalne pojedynczych związków naturalnych i ich mieszanin dokonała oceny synergii w działaniu przeciwnowotworowym na liniach komórkowych glejaka T98G oraz U-138MG, udowadniając większą aktywność mieszanin. W preparatyce liposomów zmodyfikowała metodę homogenizacji z użyciem głowicy ultradźwiękowej uzyskując homogeną populację liposomów.

Reasumując wnioski, przede wszystkim doktorantce udało się wytworzyć i scharakteryzować formy liposomalne z dużą efektywnością enkapsulacji, w których zamknięto różne kompozycje pojedynczych związków naturalnych opisanych w pracy lub ich mieszanin. Otrzymane formy gwarantują większą stabilność fizykochemiczną aktywnych związków oraz efektywność działania potwierdzoną na różnych liniach komórkowych. Ciekawym spostrzeżeniem doktorantki jest fakt wykazania wpływu stężenia akteozydu oraz mieszaniny kurkuminy i orientyny na ekspresję białek związanych z procesem apoptozy. Należy zwrócić uwagę, że rozprawa doktorska jest cyklem czterech publikacji o łącznym współczynniku IF 26,352 oraz 480 punktów Ministerstwa Edukacji i Nauki a całkowity dorobek autorki wynosi 14 prac naukowych. Oświadczenia współautorów prac włączonych do rozprawy podkreślają duży wkład doktorantki w ich powstanie. Uczestniczyła również aktywnie w sympozjach naukowych, uzyskując główną nagrodę za wystąpienie ustne na Sesji Forum Młodych Naukowców. Ponadto studia doktoranckie doktorantka realizowała w ramach projektu Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „NanoBioTech”. Ten interdyscyplinarny program naukowy w zakresie nanonauki i nanotechnologii dał możliwość rozwinięcia badań w zakresie technologii postaci leku, syntezy oraz badań in vitro. Dzięki temu mogła poznać i



przeprowadzić badania z użyciem metod chromatograficznych, spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego oraz elektronowego rezonansu paramagnetycznego.

Zapoznając się z lekturą dysertacji z całą stanowczością stwierdzam, iż doktorantka umiejętnie wykorzystała zaoferowany jej potencjał naukowy promotorów oraz infrastrukturę naukową jednostki. Umiejętność poprawnego formułowania problemów oraz wyciągania wniosków z uzyskanych wyników została już potwierdzona publikacją jej badań w międzynarodowych czasopismach naukowych, w których miała wiodący udział.

Powyższa umiejętność oraz duże zaangażowanie doktorantki w realizację badań pozytywnie wpłynęły na osiągnięcie założonych celów. W mojej ocenie praca mgr Ludwika Piwowarczyk spełnia wymagania stawiane przez obowiązujące przepisy i tym samym wnoszę o dopuszczenie jej do dalszych etapów postępowania doktorskiego celem uzyskania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne. Biorąc pod uwagę duży wkład pracy, oryginalność tematyki i uzyskanych wyników przedstawioną mi do recenzji pracę oceniam bardzo dobrze i wnioskuję o jej wyróżnienie.

Kierownik  
Katedry Chemii Leków  
  
prof. dr hab. Michał Marszałł