



Zakład Chemii Produktów Pochodzenia Naturalnego
Katedra i Zakład Farmakognozji i Botaniki Farmaceutycznej
UNIWERSYTET MEDYCZNY W LUBLINIE
ul. Chodźki 1, 20-093 LUBLIN
tel. +48 81448 7080 e-mail: kskalicka@pharmacognosy.org

Lublin, 16.12.2022

RECENZJA

rozprawy na stopień doktora nauk farmaceutycznych mgr. farm. Kamila Pawłowicza zatytułowanej „**Dobór i charakterystyka wyciągu ze świeżych liści aloesu drzewiastego oraz opracowanie odpowiedniej półstałej postaci do stosowania zewnętrznego na jego bazie**” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Judyty Cieleckiej-Piontek w Katedrze i Zakładzie Farmakognozji Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Podstawą rozprawy doktorskiej jest cykl trzech spójnych tematycznie prac naukowych opublikowanych w latach 2021-2022 w uznanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, o łącznym współczynniku IF równym **16,376**, co stanowi 380 punktów ministerialnych. Prace opublikowane są w latach 2021-2022 i każdorazowo Doktorant jest pierwszym autorem.

P1. Kamil Pawłowicz, Dominika Ludowicz, Marta Karaźniewicz-Łada, Kamil Wdowiak, Judyta Cielecka-Piontek “Analysis of the Composition of Lyophilisates Obtained from *Aloe arborescens* Gel of Leaves of Different Ages from Controlled Crops” (Molecules 2021, 26(11), 3204; IF=4.927, MEiN 140)

P2. Kamil Pawłowicz, Szymon Sip, Tomasz Plech, Barbara Kaproń, Joanna Kobus-Cisowska, Judyta Cielecka-Piontek „*Aloe arborescens*: In Vitro Screening of Genotoxicity, Effective Inhibition of Enzyme Characteristics for Disease Etiology, and Microbiological Activity” (Molecules 2022, 27, 2323; IF=4.927, MEiN 140)

P3. Kamil Pawłowicz, Magdalena Paczkowska-Walendowska, Tomasz Osmałek, Judyta Cielecka-Piontek “Towards the preparation of a hydrogel from lyophilisates of the *Aloe arborescens* aqueous extract” (Pharmaceutics 2022, 14 (7), 1489, IF= 6.525, MEiN 100)

Badania będące podstawą niniejszej rozprawy doktorskiej były finansowane w ramach projektu MNiSW „Doktorat wdrożeniowy” grant nr 0052/DW/2018/2.

Dysertacja przygotowana została w formie komentarza do opublikowanych prac oryginalnych. Na 6 stronach Wstępu mgr. Kamil Pawłowicz charakteryzuje aloes pod względem botanicznym, ale też w interesujący sposób nakreśla jego zastosowanie tradycyjne, sięgające prawie 3000 lat wstecz. Znajdujemy więc informacje dotyczące pojawienia się aloesu w systemach leczniczych starożytnych Greków, Rzymian, ale też Bliskiego czy Dalekiego Wschodu, upraw klasztornych, aż po pierwsze badania prowadzone na początku XX wieku. Dokładnie przedstawiono, co należy podkreślić, prace krajowe zapoczątkowane przez wybitnego farmakognostę Profesora Muszyńskiego, który to prowadził badania mające na

celu otrzymanie płynnego preparatu do wstrzyknięć o dużej trwałości i aktywności immunostymulującej, wprowadzonego do lecznictwa jako Biostymina. Od tamtego czasu produkt pozostaje w obrocie, teraz już jako płyn doustny, a substancja czynna pozyskiwana jest niezmiennie z własnych, kontrolowanych upraw szklarniowych Phytopharm Klęka SA. Brakuje mi we wstępie nieco więcej informacji na temat składu chemicznego, wyszczególnienia substancji aktywnych wraz z opisem, aczkolwiek informacje te dostępne są w załączonych publikacjach.

Celem pracy doktorskiej była ocena potencjału rozwojowego nowego produktu z wykorzystaniem przeciwzapalnego i immunostymulującego działania liści aloesu, w odniesieniu do miejscowej aktywności w obrębie skóry zmienionej chorobowo. Autor, w oparciu o liczne badania naukowe, postawił hipotezę, iż wyciąg ten powinien charakteryzować się skutecznym przeciwzapalnym działaniem miejscowym, co wykorzystane być może w chorobach z towarzyszącymi zmianami zapalnymi skóry (np. tzw. stopa cukrzycowa, odleżyny, trudno gojące się rany).

Doktorant przeprowadził konsekwentnie zaplanowane badania, które w efekcie składają się w jedną, spójną całość. Warto podkreślić, iż wykorzystany materiał był bardzo dobry jakościowo, pochodził z kontrolowanych upraw (zgodnie z Dobrą Praktyką Upraw i Zbioru Surowców Roślinnych - Good agricultural and collection practice -GACP) firmy Phytopharm Klęka S.A. W pierwszym etapie badań, celem standaryzacji otrzymanych etanolowych ekstraktów otrzymanych z liści aloesu (1-, 2-, 3- i 4-letniego) na zawartość substancji markerowych aloeniny A i aloiny A, jak również celem poznania dokładnego ich profilu chemicznego, opracowano metodę HPLC oraz LCMS. Przydatność i powtarzalność opracowanych procedur badawczych została potwierdzona w odniesieniu do badań kolejnych partii surowca roślinnego.

Oceniono też całkowitą zawartość polifenoli i kwasów fenolowych oraz przeanalizowano potencjał przeciwutleniający stosując technikę CUPRAC, DPPH i ABTS (*publikacja P1*). Oceniona została genotoksyczność badanych ekstraktów (badanie uszkodzenia DNA ludzkich fibroblastów Hs27 w teście kometowym). Liofilizaty poddane zostały także badaniom pod kątem ich działania przeciwzapalnego (ocena możliwości hamowania hialuronidazy), przeciwcukrzycowego (ocena inhibicji α -glukozydazy) oraz działania przeciwneurodegeneracyjnego (hamowanie enzymów acetylo- i butyrylocholinesterazy). Testem rysy sprawdzono potencjał do stosowania surowca w leczeniu zmian zapalnych destrukcyjnych w obrębie fibroblastów. Dodatkowo wykonano badania w kierunku aktywności mikrobiologicznej (*publikacja P2*).

Oceniając wyniki przeprowadzonych badań Doktorant wykazał różnice ilościowe dla substancji markerowych oraz innych metabolitów, co przełożyło się na różnice w aktywności przetworów otrzymanych z liści jedno-, dwu- i trzyletnich i jako ten najbardziej interesujący mgr. Kamil Pawłowicz wytypował liofilizaty otrzymane z wyciągów wodnych liści trzyletniego aloesu. Dla nich Autor przeprowadził badania mające na celu ocenę potencjału przeciwutleniającego oraz wpływu na enzymy istotne z punktu widzenia zmian skórnych (hialuronidaza, tyrozynaza). Przeprowadzone zostały także badania pre- i formulacyjne celem rozwoju półstałej postaci hydrożelowej do aplikacji na skórę. W efekcie Doktorant zaproponował półstałą postać farmaceutyczną – hydrożel z udziałem wodnych wyciągów trzyletnich liści z roślin *Aloe arborescens* na bazie alginianu sodu oraz hydroksypropylometylocelulozy. Dla formulacji tych przeprowadził badania uwalniania

w komorze dyfuzji Franza oraz przenikania przez układy sztucznych błon, z zastosowaniem modelu PAMPA SKIN, dwóch związków markerowych - aloiny A i aloeniny A (*publikacja P3*).

Opracowanie prototypu półstałej postaci farmaceutycznej w formie hydrożelu na bazie liofilizatu z wodnego ekstraktu z liści *Aloe arborescens* Mill. jako układu czynnych substancji API (*ang. Active pharmaceutical ingredient*) pochodzenia roślinnego, jest niezaprzeczalnie najważniejszym osiągnięciem jakie powinno być w tym miejscu wskazane, zwłaszcza w kontekście oceny doktoratu wdrożeniowego. Badania prowadzone były zgodnie z wytycznymi charakteryzującymi rozwój postaci farmaceutycznej w oparciu o zasadę 3 x R (Reduce, Reuse, Recycle). Doktorant wykazał także brak zmian w profilu najważniejszych metabolitów wtórnych w efekcie prowadzenia procesu liofilizacji miąższu pochodzącego z liści *Aloe arborescens* Mill. zarówno 1,2,3 i 4-letnich roślin, jak również możliwości zamiennego stosowania wodnych i etanolowych ekstraktów bez strat znaczących dla definiowanych profili działania biologicznego, co ma bardzo duże znaczenie z praktycznego punktu widzenia.

Najważniejsze osiągnięcia Doktorant streszcza w części IV pracy – w rozdziale Podsumowanie oraz perspektywy zastosowania. Podkreśla On, i słusznie, iż „Zaproponowane rozwiązania technologiczne oparte na ekologicznych rozwinięciach charakteryzują się potencjałem możliwości transferu do wytwarzania w skali przemysłowej”.

Całość wieńczy spis piśmiennictwa użytego do przygotowania wstępu, co stanowi 15 pozycji literaturowych oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Do pracy dołączone są oświadczenia współautorów, z których jednoznacznie wynika, iż udział Doktoranta w powstawaniu prac jest wiodący. Każdorazowo mgr. Kamil Pawłowicz był autorem koncepcji pracy, opracowywał metodykę, analizował uzyskane dane i wyciągał odpowiednie wnioski. Przygotowywał też ostateczne wersje publikacji.

Po przeczytaniu pracy nasuwa się kilka pytań:

- Jak na wstępie zaznacza sam Autor aloes jest rośliną stosowaną od tysięcy lat i istnieje wiele rzetelnych badań naukowych wskazujących, które z metabolitów odpowiedzialne są za określone aktywności. Wiadomym jest, iż działanie gojące na rany i immunostymulujące bezpośrednio związane jest z zawartością polisacharydów (glukomannany). Dlaczego Autor nie podjął się oceny jakości surowca i jego przetworów w oparciu o te składniki aktywne.

- Efektem prowadzonych badań jest opracowanie prototypu półstałej postaci farmaceutycznej w formie hydrożelu na bazie liofilizatu. Jak zaproponowana formuła ma się do tych preparatów obecnych na rynku zawierających wyciąg z aloesu?

Brakuje mi także życiorysu zawodowego Doktoranta, co pozwoliłoby na ocenę ogólnej aktywności naukowej.

Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na niektóre błędy edytorskie, co oczywiście jest nieuniknione i w żaden sposób nie wpływa na wartość pracy, np.:

- strona 8 (Wstęp) – kiedy po raz pierwszy pojawia się nazwa gatunkowa należałoby podać pełną charakterystykę botaniczną np. *Aloe vera* (L.) Burm.f.

- ta sama strona – kraje Bliskiego Wschodu, z dużych liter, podobnie Ajurweda (strona 9)

- strona 10 – nawy łacińskie roślin pisane powinny być kursywą.

Pragnę podkreślić, iż wartość merytoryczna niniejszej rozprawy doktorskiej jest wysoka. Pan mgr Kamil Pawłowicz skutecznie opanował umiejętność planowania, a następnie sukcesywnej realizacji badań naukowych. Podjęcie przez Doktoranta niniejszego tematu badawczego uważam za uzasadnione i niezwykle ważne z punktu widzenia aplikacyjnego. Podsumowując stwierdzam, że cele pracy zostały zrealizowane. O dużej wartości wykonanych badań świadczy opublikowanie wyników w postaci dobrej jakości artykułów w renomowanych czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania, o czym wspomniałam na wstępie recenzji.

Wnioski końcowe

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia wymogi formalne i merytoryczne stawiane w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Na tej podstawie wnioskuję do Wysokiej Rady Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o przyjęcie niniejszej rozprawy i dopuszczenie mgr. Kamila Pawłowicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Z uwagi na uzyskane interesujące wyniki i wysoką wartość wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Krzyszyna Skalicka-
-Woźniak

Prof. dr hab. Krystyna Skalicka-Woźniak