



Kierownik - prof. dr hab. n. farm. Wiesław Sawicki

Gdańsk, 27. 05. 2022

**Ocena pracy doktorskiej mgr farm. Edyty Banaczkowskiej – Dudy pt.: „Kapsułki genowe –  
uzyskiwanie, badania farmakopealne i aplikacje terapeutyczne” z Zakładu Farmacji  
Stosowanej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.**

Promotor : prof. dr hab. n. farm. Maciej Małecki

W ostatnim czasie na forum Rady Doskonałości Naukowej oraz w kilku artykułach poruszono zagadnienie dotyczące kryzysu recenzji również prac doktorskich. Kryzys ten ma przejawiać schematycznością, szerokim opisywaniem i streszczaniem treści dysertacji, unikaniem krytyczności. Zaleca się, aby rzetelna opinia (recenzja) zawsze zawierała ocenę i uzasadnienie, aby pokazywała nowość w danej dyscyplinie nauki i określała wkład doktoranta w rozwój tej dyscypliny. Dlatego też pisząc tę recenzję starałem się do tych uwag dostosować.

Wprowadzony do farmacji i medycyny przez prof. Wacława Szybalskiego - doktora *honoris causa* Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, (GUMed) z 2000 r. inicjatora utworzenia Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i GUMed, termin terapia genowa dotyczy wiedzy w zakresie innowacyjnych metod leczenia polegającego na bezpośrednim oddziaływaniu na materiał genetyczny chorego. Geny uszkodzone mogą zostać zastąpione przez prawidłowo działające.

Dlatego też dla recenzenta – technologa formy leku postawiony w doktoracie cel pracy dotyczący opracowania metody otrzymywania i oceny kapsułek żelatynowych twardych zawierających sekwencje kodujące DNA a także kapsułek z wektorem wirusowym, uważam za nowoczesny naukowo, trafny i wartościowy, łączący metody inżynierii genowej i badań preformulacyjnych – nad otrzymywaniem postaci leku.

Doktorat to 110 stronicowa klasyczna monografia, gdzie ok. 50 stron stanowi część teoretyczna. Napisany jest zwięźle, konkretnie i co istotne nie jest zbyt obszerny. Nowością dla mnie jest – Streszczenie graficzne, str. 108.

Część teoretyczna to ciekawe wprowadzenie do terapii genowej oraz najbardziej aktualna podstawowa wiedza dotycząca postaci leku – kapsułek a zwłaszcza kapsułek żelatynowych twardych. Bardzo spodobało mi się szczególnie to, że Doktorantka podaje wiele konkretnych przykładów (ze składem substancji pomocniczych) z zestawieniami tabelarycznymi, stosowanych w lecznictwie postaci leków terapii genowej.

W tym miejscu pragnę zaznaczyć, iż nie zgadzam się ze stwierdzeniem na str. 26, „Kapsułka jest najpopularniejszą formą dawkowania leków”. W mojej opinii a potwierdza to od lat wiele pozycji piśmiennictwa to forma tabletki jest najbardziej rozpowszechnioną postacią leku doustnego. Wg Pharma Manufacturing z 2019 r. na podstawie danych uzyskanych z FDA udział procentowy wśród wszystkich leków innowacyjnych na przestrzeni lat 2013-2018 stanowią preparaty doustne z dodatkowym podziałem na tabletki i kapsułki. Z danych tych wynika, że w każdym roku na pierwszym miejscu są tabletki.

Podobnie polemizowałbym z poglądem na str. 52, że „Kapsułki w porównaniu do tabletek mogą zawierać mniej substancji pomocniczych niezbędnych do przygotowania właściwej postaci leku”. W przypadku prostej formulacji recepturowej to pewnie tak jest, natomiast jeżeli rozpatrywać kapsułki np. o modyfikowanym uwalnianiu to ich wypełnienie składające się przykładowo z powleczonych peletek zbudowanych z wielu różnych substancji pomocniczych w składzie rdzeni i otoczek.

Cel pracy na stronie 53 jest sformułowany konkretnie. Napisano tam, że badania stanowią część prac badawczych prowadzonych w Zakładzie Farmacji Stosowanej, które dotyczą eksperymentalnych formulacji genowych. Uważam, że w tego właśnie względu w spisie piśmiennictwa powinno się znaleźć więcej niż jedna znacząca publikacja ( Mosaic Recombinant Adeno-associated Virus Vector rAAV/DJ/CAG for Targeted Gene Delivery to Melanoma Cells Metastasized to the Lung <https://ar.iijournals.org/content/40/8/4425.long> Zespołu naukowego tej Katedry. Katedra ma się przecież czym pochwalić.

Koncepcja, opracowanie receptury wypełnienia kapsułek – rozmiar 3 na bazie laktozy jednowodnej i łączenia z plazmidowym DNA jest prawidłowa i wykonana- *lege artis*. Dobrze,

że Doktorantka w swoich eksperymentach umiejętnie posługuje się Farmakopeą Polską XI także w zakresie oceny jednolitości masy i badania czasu rozpadu kapsułek. Prosiłbym jednak o szersze wyjaśnienie, jaki cel miało w badaniach rozpadu kapsułek obniżenie temperatury cieczy do 35 °C ?

W badaniach uwalniania ( dostępności farmaceutycznej) DNA z kapsułek opracowano autorską metodę badania. Należy to docenić. Nurtuje mnie jednak pytanie dlaczego nie można było zastosować metody według FP XI z użyciem aparatu łopatkowego czy koszyczkowego ? Czy kapsułki tak, jak zasugerowano na ryc. 9 flotowały przez jakiś czas tego badania dostępności farmaceutycznej ? Z Farmakopei Amerykańskiej wiadomo bowiem, że postać leku ma najpierw opaść centralnie na dno zlewki i wówczas należy rozpocząć mieszanie a w przypadku kapsułek flotujących - można zastosować obciążnik (sinker).

Nie dyskutuję w treściach doktoratu dotyczącego inżynierii genowej np. w kwestii oceny w warunkach „in vitro” aktywności transdukcyjnej opracowanych kapsułek. Doktorat powstał bowiem warszawskiej Katedrze Farmacji Stosowanej, która jest wiodącą w kraju i znaną z realizacji na światowym poziomie nauki w zakresie związanym z terapią genową. Przeprowadzone analizy aktywności na liniach komórkowych czerniaka mysiego i innych wraz oceną wydajności transdukcji wydają się być przeprowadzone bardzo poprawnie, rzetelnie i na wysokim poziomie naukowości. Mam jedynie pytanie dotyczące opisu na str. 61 hodowli komórkowej. Co oznacza, że wszystkie procedury związane z hodowlą komórkową prowadzono w warunkach sterylnych ? To znaczy jakich i jak to było wykonywane ?

Przekonujące są również badania stabilności opracowanych formułacji kapsułek w których wykazano wysoką trwałość plazmidowego DNA.

Doktorantka wraz ze swoim Promotorem poruszyła i w sposób oryginalny, odważny rozwiązała cel badawczy łączący dwie ścieżki naukowej wiedzy farmaceutycznej, medycznej. Badań nad nowoczesną terapią będącą wielką nadzieją dla chorego – inżynierii genowej i tradycyjnej od zarania dziejów uznanej receptury aptecznej. Bardzo to doceniam, uważam jednak, że zdecydowanie w tym doktoracie lepszym określeniem, aniżeli receptura apteczna byłyby sformułowania typu badania nad otrzymywaniem kapsułek wypełnionych np. kodującym DNA, czy badania preformulacyjne nad .... , badania nad metodą sporządzania kapsułek z..... . Chciałbym bardzo, ale trudno mi w to uwierzyć, aby rozwój terapii

personalizowanej, celowanej był tak dynamiczny, żeby aptekarz w niedalekiej przyszłości za „drugim stołem” w najnowocześniejszej aptece przygotowywał dla indywidulanego chorego kapsułki żelatynowe twarde np. z sekwencyjnie kodującym DNA. Pragnę tu wyraźnie podkreślić w aptece – to wizja przyszłości, ale w nowoczesnym zakładzie farmaceutycznym, wytwórni z warunkami aseptyki i technologii, pod nadzorem naukowych fachowców – farmaceutów to przyszłość niedaleka.

Jest to naprawdę dobry doktorat, z ciekawością się go czyta, jest konkretny, dobrze zestawiony, ale nie mogę się przekonać do określenia- kapsułki genowe. Jest to dla mnie zbyt duży skrót myślowy. Nie ma przecież określenia kapsułek proszkowych, czy kapsułek peletkowych, czy kapsułek diklofenakowych. Proponowałbym bym tu użyć określenia np. kapsułki wypełnione np. plazmidowym DNA.

W zestawieniu poniżej zamieściłem moje uwagi, korekty, sprostowania dotyczące strony redakcyjnej doktoratu. Proszę to traktować raczej jako dowód starań w zakresie rzetelnego podejścia i przeanalizowania treści doktoratu.

Str. 19, wiersz 15 jest - ( do wyrównania pH. Powinno być - (do wyrównania pH ).

Str. 22, wiersz 5 jest - stosowana. Powinno być - stosowaną.

Str. 26, wiersz 15 jest – w postaci proszku, granulatu, niewodnych cieczy lub substancji półstałych. Powinno być – w postaci proszku, granulatu, niewodnych cieczy lub substancji półstałych. W nowoczesnej technologii postaci leku w kapsułkach żelatynowych twardej umieszcza się też kryształy, tabletki i minitabletki (układ polypill) a także mniejsze kapsułki twarde dwuczęściowe .

Str. 29, wiersz 18 jest – spersonalizowanej. Powinno być – personalizowanej.

Str. 29, wiersz 19 jest – znakomicie łatwiejsza. Powinno być – np. zdecydowanie łatwiejsza.

Str. 31, wiersz 2 jest – PEG. Powinno być – Macrogol

Str. 34, wiersz 15 jest - też. Powinno być - też.

Str. 34. Autorka wymieniając wypełnienia kapsułek o przedłużonym uwalnianiu wskazuje na peletki, granulaty lub minitabletki. Należy pamiętać, że peletki to też granulaty ale kuliste oraz trzeba by też dodać kryształy. Dlatego też zrzęczniejszym zapisem byłby „- kuliste granulaty – peletki, granulaty, minitabletki lub kryształy, które .....

Polemizowałbym ze stwierdzeniem na str. 35, że mikrokapsułki znajdują ogromne zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym. Raczej istotne i ważne, ale nie ogromne.

Str. 48 w tabeli jest o zmodyfikowanym uwalnianiu a np. na stronie 26 wiersz 17 jest o modyfikowanym uwalnianiu. Prawidłowo powinno być – o modyfikowanym uwalnianiu.

Str. 55. Brak konsekwencji w zapisach. Na stronie są  $\text{dm}^3$  a na innych stronach ml i l.

Str. 55. Podając – Mieszanicę antybiotyków ( AAS) należałoby podać numery serii.

Str. 55. Jest – Woda destylowana. W farmacji, naukach farmaceutycznych powinno się używać określenia – woda oczyszczona.

Str. 56. Brak konsekwentnego zapisu w spisie aparatury p. 4.1.6. str. 56 np. BIO- RAD i Bio-RAD.

Str. 58. Napisano – w warunkach komory hodowlanej Biohazard II. W spisie 4.1.6. Aparatura, nie ma takiej komory.

Str. 58. Rycina 8. Jest napisane – pod lożą laminarną. Powinno być – w warunkach łoża laminarnej.

Str. 60, wiersz 7. Jest napisane - Kapsułki zostały sporządzone tak jak opisano w podrozdziale: „Opracowanie receptury kapsułek żelatynowych genowych”. Nie ma podrozdziału o takim tytule. Powinno być napisane: Kapsułki zostały sporządzone tak jak opisano w podrozdziale 4.2.1 - „Opracowanie receptury i uzyskanie recepturowej formułacji genowej w postaci kapsułek żelatynowych”.

Str. 61, wiersz 18. Jest napisane - Opis powyższych metod znajduje się w podrozdziale: „Badanie uwalniania kapsułek genowych”. Nie ma takiego podrozdziału. Powinno być napisane: Opis powyższych metod znajduje się w podrozdziale 4.2.4. Opracowanie warunków badania uwalniania DNA z kapsułek genowych.

Str. 61, wiersz 22. Jest napisane - „Opracowanie receptury i uzyskanie recepturowej formułacji genowej w postaci kapsułek żelatynowych genowych” metodą ręczną. Powinno być: Opracowanie receptury i uzyskanie recepturowej formułacji genowej w postaci kapsułek żelatynowych.

Str. 62. Jest napisane: W przypadku kapsułek placebo wprowadzano czystą wodę do iniekcji objętości 10  $\mu\text{l}$ . Powinno być: W przypadku kapsułek placebo wprowadzano wodę do iniekcji w objętości 10  $\mu\text{l}$ .

Str. 64. Jest napisane: Wyniki pokazują, że zarówno kapsułki placebo jak i kapsułki genowe spełniają wymagania FP XI. Powinno być: Z przedstawionych wyników wynika, że zarówno kapsułki placebo jak i kapsułki genowe spełniają wymagania FP XI.

Str.70, wiersz 8. Jest napisane: Następnie próbki poddano rozdzielaniu elektroforetycznemu w 1,5% żelu agarozowym..... . Powinno być napisane: Następnie próbki poddano rozdzielaniu elektroforetycznemu w 1,5% żelu agarozowym. Podobnie określenia – rozdział – użyto w podpisach pod ryc. 14 - 17.

Str. 90, wiersz 16. Jest napisane: Jak pokazuje Rycina 13. Powinno być napisane np. Z danych przedstawionych na Rycinie 13 wynika, że .... .

Str. 91, wiersz 5. Jest napisane: Otrzymane wyniki dają możliwość przygotowania kapsułek..... Powinno być napisane: Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że istnieje możliwość przygotowania kapsułek ..... .

Str. 94. W spisie piśmiennictwa w pozycji 8 i 55 zamieszczono tę samą pozycję- Farmakopeę Polską XI.

**Konkluzja:** Całościowo pracę doktorską oceniam bardzo dobrze. Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie postawionego przez Doktorantkę problemu naukowego. Tematyka jest nowoczesna i zrealizowana na wysokim poziomie wiedzy i naukowości. Stąd też przedkładam Radzie Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wnioski o dopuszczenie Pani mgr farm. Edyty Banaczkowskiej - Duda do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych.

**K I E R O W N I K**  
Katedry i Zakładu Chemii Fizycznej  
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego  
*W. Sawicki*  
prof. dr hab. n. farm. Wiesław Sawicki  
tel. 58 349 12 79, faks 58 349 16 52  
wsawicki@umed.edu.pl