



Dr hab. Beata Podkościelna prof. UMCS
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów
ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin
tel: +48 81 524 22 51 w. 131
email: beata.podkoscielna@mail.umcs.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr farm. Karoliny Mulas

pt.

**„Polimerowe nośniki fluorochinolonów - synteza, badania strukturalne,
fizykochemiczne i biologiczne”**

Podstawa: uchwała Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych WUM prof. dr hab. n. farm. Grzegorza Nałęcz-Jaweckiego z dnia 10 lipca 2023 r.

Podstawa prawna: art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami).

Cel i zakres pracy

Rozprawa doktorska mgr farm. Karoliny Mulas wykonana została w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej i Biomateriałów, Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego pod opieką naukową prof. dr hab. inż. Marcina Sobczaka. Głównym celem naukowym przedstawionej do recenzji dysertacji była synteza nowych polimerowych nośników fluorochinolonów oraz ocena ich właściwości fizykochemicznych, potwierdzenie budowy chemicznej oraz badania aktywności biologicznej nowo otrzymanych układów polimerowych.

W celu realizacji pracy Autorka wyznaczyła sobie kilka szczegółowych celów badawczych, wśród których należy wymienić przede wszystkim:



- Syntezę i charakterystykę biodegradowalnych matryc poliestrowych z wykorzystaniem innowacyjnego i nietoksycznego układu katalitycznego.
- Otrzymanie poliuretanowych i poliestrowych koniugatów z wybranym fluorochinolonem (FQ).
- Otrzymanie hydrożelowych materiałów z dodatkiem wybranego fluorochinolonu (FQ).
- Badania kinetyki i mechanizmu uwalniania substancji leczniczej z otrzymanych układów polimerowych w warunkach *in vitro* oraz ich wstępna ocena biologiczna.

Tematyka rozprawy doktorskiej mgr farm. Karoliny Mulas dotyczy dosyć istotnego zagadnienia naukowego i jest jak najbardziej aktualna z naukowego punktu widzenia. Polimery oraz ich pochodne zajmują niezwykle ważną pozycję jako materiały stosowane we współczesnej medycynie i farmacji. Możemy je znaleźć w takich wydaje się prostych zastosowaniach jak łopatki, wzierniki czy strzykawki poprzez protezy kończyn, protezy dentystryczne, soczewki kontaktowe po środki farmakologiczne wprowadzające substancje lecznicze oraz środki krwiozastępcze do organizmu. Spektrum zastosowania materiałów polimerowych stale się zwiększa, projektowane są coraz lepsze, nowocześniejsze układy polimerowe które spełniają wysokie kryteria biogodności i braku toksyczności. Dlatego też poszukiwania nowych układów polimerowych zawierających aktywne biologicznie dodatki mieści się w aktualnym nurcie badań naukowych i w pełni uzasadnia celowość rozważań zaproponowanych przez Doktorantkę w ramach przedłożonej do recenzji dysertacji.

Ocena układu rozprawy

Rozprawa doktorska mgr farm. Karoliny Mulas została napisana w języku polskim i przygotowana w układzie typowym dla prac eksperymentalnych, obejmującym: *Wprowadzenie i cel pracy* (2 strony), *Przegląd literaturowy* (55 stron) obejmujący opis literatury ilustrującej podstawy i aktualny stan wiedzy w temacie polilaktydu, fluorochinolonów i ich właściwości wraz z krótkim podsumowaniem i założeniami pracy; *Badania własne z dyskusją wyników* (71 stron) zawierające syntezę układu katalitycznego, homopolimeru ϵ -kaprolaktonu, polilaktydu, koniugatów czy hydrożeli wraz z *Wnioskami*



końcowymi; kolejny rozdział (V) to *Część eksperymentalna* (14 stron) ze spisem odczynników, opisem metod badawczych i metodyki przeprowadzonych syntez i badań. Następnie, załączony jest *Spis Rysunków i Tabel* oraz wykaz cytowanych odnośników literaturowych (122 pozycje, 12 stron). Całość pracy kończy *Streszczenie* w j. polskim i angielskim.

Tytuł rozprawy został sformułowany poprawnie i odpowiada zaprezentowanym w ramach pracy rezultatom badań. Całość dysertacji obejmuje 171 stron maszynopisu i zawiera 41 tabel, 63 rysunki oraz spis używanych w pracy skrótów (5 stron). Praca napisana jest dosyć starannie, poprawnym językiem i zredagowana w estetyczny sposób. Układ pracy jest dosyć czytelny aczkolwiek umieszczenie opisu syntez na końcu pracy zaburza trochę lekturę pracy, czyli kolejność w jakiej Autorka dochodziła do wniosków: najpierw synteza, analiza wyników i wnioski. Rozumiem, że jest to układ zwyczajowo przyjęty na wydziale i spotykany w niektórych czasopismach. To czego zabrakło mi w pracy, to dorobku naukowego Autorki, który oczywiście nie jest obowiązkowy ale bardzo często umieszczany obecnie w rozprawach doktorskich.

Ocena merytoryczna rozprawy

Dysertację mgr farm. Karoliny Mulas rozpoczyna wprowadzenie w zagadnienia dotyczące rodzajów i właściwości polimerów do zastosowań biomedycznych. Materiały wykonane ze związków wielkocząsteczkowych aby mogły być stosowane muszą spełniać bardzo wysokie standardy, które są im stawiane przez przemysł medyczny czy farmaceutyczny. Bardzo wiele uwagi poświęca się badaniom toksyczności i wiele grup polimerów jest eliminowanych z tego powodu pomimo bardzo dobrych parametrów fizykochemicznych. Do polimerów szeroko stosowanych w medycynie zaliczamy poliestry alifatyczne m.in. pochodne ϵ -kaprolaktonu czy laktydu. Doktorantka zwróciła uwagę na problematykę degradacji hydrolitycznej lub enzymatycznej poliestrów alifatycznych. Kolejny podrozdział opisuje szczegółowo syntezę i właściwości wybranych poliestrów otrzymywanych z monomerów cyklicznych tj. wspomniany wcześniej poli(ϵ -kaprolakton) i polilaktyd. Następnie poruszane jest zagadnienie polimeryzacji z otwarciem pierścienia wraz z wyjaśnieniem możliwych mechanizmów reakcji. W kolejnym rozdziale omawiana jest grupa syntetycznych substancji przeciwdrobnoustrojowych o działaniu bakteriobójczym pod ogólną nazwą chinolony (Qs). Autorka wyjaśnia zależności pomiędzy



budowa a aktywnością tych związków ze szczególnym naciskiem na fluorochinolony. Następnie Autorka opisuje kolejne generacje fluorochinolonów, ich charakterystykę oraz przykładowe substancje lecznicze wraz z mechanizmem działania. W kolejnym rozdziale Doktorantka prezentuje rodzaje polimerowych nośników fluorochinolonów, do których zalicza m.in. hydrożele i opisuje ich zastosowanie w charakterze nośników substancji leczniczych.

Ostatnie podrozdziały dotyczą polimerowych koniugatów fluorochinolonów na bazie poliuretanów, syntetycznych poliestrów czy innych polimerów np. hydroksypropylometakryloamidu.

Podsumowując przegląd literatury Autorka wskazuje, że fluorochinolony to bardzo interesująca grupa chemioterapeutyków, o szerokim spektrum działania przeciwbakteryjnego i pożądanym właściwościach farmakokinetycznych, ale wykazująca także niepożądane skutki uboczne, ograniczające ich zastosowanie. Autorka podkreśla, że w dostępnej literaturze brak jest kompleksowych badań szczególnie w warunkach *in vivo* co było motywacją do badań realizowanych w ramach przedłożonej rozprawy doktorskiej.

Głównym założeniem pracy (hipoteza badawcza) było otrzymanie różnych nośników (w tym koniugatów) ciprofloksacyny wykorzystując biodegradowalne lub/i bioresorbowalne polimery syntetyczne. Otrzymane biomateriały, różniące się szybkością biodegradacji i uwalniania substancji czynnej mogą mieć potencjalne zastosowanie jako materiały powlekające powierzchnie wyrobów medycznych, zabezpieczające je przed rozwojem drobnoustrojów chorobotwórczych.

Autorka udowadnia, że podjęty przez nią problem badawczy jest aktualny i ma aplikacyjny charakter. Na wyróżnienie zasługuje szczegółowy opis teoretyczny dotyczący koniugatów fluorochinolonów co wskazuje to na Jej dobre rozeznanie w literaturze w ramach poruszanej tematyki badawczej.

Kolejną trzecią część dysertacji Pani mgr farm. K. Mulas stanowią badania własne i dyskusja wyników. Opis rozpoczęto od przedstawienia nowego układu katalitycznego dietylocynk/3,4-dihydroksybenzoesan etylu, dzięki któremu otrzymano z dobrą wydajnością poli(ϵ -kaprolakton) i polilaktyd. Syntezę polimerów prowadzono w różnych warunkach zmieniając m.in.: stosunek molowy katalizatora, środowisko reakcji, temperaturę oraz czas. Autorka przy metodzie polimeryzacji w masie cały czas podaje ją w nawiasach („w masie”) czym jest to spowodowane? Dla otrzymanych polimerów



wyznaczono średnią masę molową przy użyciu chromatografii żelowej oraz metodą wiskozymetryczną. Budowę chemiczną potwierdzono metodami spektroskopowymi (m.in. ATR/FTIR i NMR). W celu wstępnej oceny toksykologicznej otrzymanych PCLs wykonano badania toksyczności ostrej, a dla wybranych próbek badania cytotoksyczności. Wszystkie otrzymane PCLs nie wykazywała toksyczności ostrej w testach Microtox® i Spirotox® jak również większość polilaktydów.

Następnie Autorka omówiła syntezę i charakterystykę koniugatów. Dla wybranych matryc PCL otrzymano poliuretanowe i poliestrowe koniugaty z ciprofloksacyną (CIP). Kolejnym etapem pracy było badanie kinetyki uwalniania substancji leczniczej z otrzymanego koniugatu K-2. Analiza chromatograficzna wykazała, że z koniugatu K-2 substancja lecznicza praktycznie się nie uwalnia. Proszę wyjaśnić co może być tego przyczyną? Podjęto badania dekompozycji produktów uwolnionych z koniugatu K-2, w tym celu poddano je m.in. procesowi hydrolizy kwasowej i zasadowej. Czy zastosowanie tak wysokiej temperatury 90 °C nie prowadzi do degradacji komponentów, szczególnie pochodzenia biologicznego? W kolejnych badaniach podjęto próby uzyskania wydajnych koniugatów stosując zmienne warunki reakcji bądź użyte reagenty i oceniono ich wpływ na proces degradacji otrzymanych PUs i uwolnienie z nich CIP. Ciprofloksacyna uwalniała się z koniugatów poliuretanowych bardzo powoli i w niewielkiej ilości, co powoduje, że też zastosowanie wspomnianych układów w technologii systemów terapeutycznych wymaga dalszych badań optymalizacyjnych. Bardziej obiecujące badania otrzymano stosując koniugaty poliestrowe. CIP uwalniała się z koniugatów poliestrowych stopniowo, i w stosunkowo długim czasie, co umożliwia zastosowanie tego typu nośników w technologii średnioterminowych systemów terapeutycznych. Z kolei nośniki hydrożelowe CIP uwalniały całkowitą ilość substancji czynnej w stosunkowo krótkim czasie (od kilku do kilkudziesięciu godzin), co potencjalnie umożliwia ich stosowanie w technologii krótkoterminowych systemów terapeutycznych. Dodatkowo koniugaty poliestrowe i hydrożele inkorporowane ciprofloksacyną wykazywały aktywność przeciwbakteryjną wobec testowych szczepów bakterii, co stwarza możliwość stosowania tych układów w technologii biomateriałów o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych. Czy podjęte były próby opatentowania otrzymanych materiałów?

Część eksperymentalną pracy, Autorka rozpoczęła od przedstawienia spisu odczynników oraz prezentacji metod analitycznych. Następnie Autorka przedstawia



metodykę przeprowadzonych syntez i badań czyli m.in. syntezę układu katalitycznego, matryc poliestrowych, metodykę badań toksykologicznych, syntezę i charakterystyka koniugatów typu: poliuretan-ciprofloksacyna, poliester-ciprofloksacyna oraz na końcu badania biologiczne. Nie odnalazłam w tej części pracy informacji na temat otrzymywania hydrożeli, dla zachowania porządku taka informacja powinna również tutaj być umieszczona.

Podsumowując część eksperymentalną dysertacji mgr farm. Karoliny Mulas mogę stwierdzić, że została poprawnie zaplanowana i w pełni zrealizowana. Wyciągnięte przez Autorkę wnioski są adekwatne do otrzymanych wyników. Widać, że Doktorantka miała okazję do zdobycia dużego doświadczenia laboratoryjnego podczas syntezy materiałów poprzez interpretację i potwierdzenie budowy chemicznej nowych układów po badania biologiczne.

W trakcie czytania rozprawy doktorskiej nasunęło mi się kilka uwag, pytań i wątpliwości, które wymieniłam powyżej w tekście. Dodatkowo chciałam zapytać czy polimery badane były metodą DSC lub czy takie badania są planowane? Analiza DSC jest pomocna przy ocenie zmian zachodzących w próbkach polimerów pod wpływem temperatury. Czy opracowane przez Doktorantkę materiały mają szansę na zastosowanie w praktyce? Jaki jest plan dalszych badań?

Chciałabym jednak wyraźnie podkreślić, że żadna z wymienionych powyżej uwag oraz sugestii nie umniejsza wartości merytorycznej prezentowanych wyników, jest tylko polem do dyskusji. Moja ocena recenzowanej dysertacji jest bardzo pozytywna. Nakreślone przez Autorkę cele badawcze zostały w pełni wykonane, a uzyskane wyniki zawierają elementy nowości naukowej. Autorka otrzymała, potwierdziła budowę i dokładnie przebadła nowe układy polimerowe które posiadają duży potencjał aplikacyjny.

Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę powyższe fakty stwierdzam jednoznacznie, że przygotowana przez Panią mgr farm. Karolinę Mulas dysertacja pt: „*Polimerowe nośniki fluorochinolonów - synteza, badania strukturalne, fizykochemiczne i biologiczne*” spełnia wszystkie kryteria stawiane pracom doktorskim, ujęte w art. 13 pkt. 1 ustawy o stopniach naukowych i tytule



naukowym z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789) w związku z art. 179 ust. 1 i ust. 2 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.), dlatego też kieruję do *Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego* wniosek **o dopuszczenie Autorki do kolejnych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.**

Ponadto, mając na uwadze duży nakład wykonanej pracy eksperymentalnej, a przede wszystkim znaczny potencjał aplikacyjny uzyskanych wyników wnoszę do *Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego* o wyróżnienie ocenianej dysertacji.

Lublin, 3.09.2023

Beata Podkościelna



