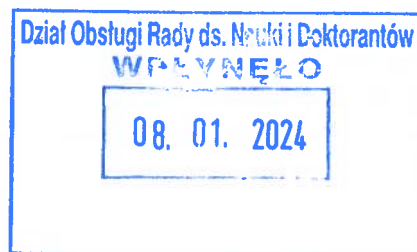




UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Chemii



UCZELNIA
BADAWCZA
WĄCJAJTYWA DOSKONALOŚCI



dr hab. Justyna Kozłowska, prof. UMK
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Wydział Chemii
Katedra Chemii Biomateriałów i Kosmetyków
Zespół Funkcjonalnych Materiałów Polimerowych
justynak@umk.pl

Toruń, 5 stycznia 2024 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr **Marii Bialik**

pt. „**Innowacyjne systemy polimerowe w terapii nadciśnienia tętniczego –
otrzymywanie, badania strukturalne, fizykochemiczne i biologiczne**”

zrealizowanej pod kierunkiem **dr hab. inż. Ewy Olędzkiej**

oraz **dr Marzeny Kuras** jako promotora pomocniczego

w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej i Biomateriałów

na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Jedną z najczęściej występujących współcześnie chorób cywilizacyjnych jest nadciśnienie tętnicze (NT), które charakteryzuje się stale podwyższonym ciśnieniem tętniczym krwi. Nadciśnienie tętnicze nawet przez kilka lat może mieć utajony, bezobjawowy przebieg, z kolei nieleczone prowadzi do poważnych powikłań, jak zawał serca, udar mózgu, czy też choroba niedokrwienna tętnic kończyn dolnych. Według WHO nadciśnienie tętnicze jest jedną z najczęstszych przyczyn zgonów w skali globalnej. Mimo bardzo zaawansowanego stanu wiedzy dotyczącego profilaktyki tej choroby oraz metod diagnostyki, a także dostępności leków hipotensyjnych, szacuje się, że co siódmy zgon jest wynikiem powikłań tego schorzenia. Zatem poszukiwanie nowych rozwiązań mających na celu poprawę skuteczności leczenia NT to wciąż aktualny temat i wyzwanie dla naukowców. Rozwój farmacji i medycyny sprawił, że opracowywane są nowe systemy dostarczania leków o modyfikowanym uwalnianiu,



które są bardzo obiecujące w przypadku substancji trudno rozpuszczalnych, nietrwałych czy też wymagających częstego dawkowania.

Pani mgr Maria Bialik w swojej pracy doktorskiej podjęła się otrzymania nowego i innowacyjnego systemu do kontrolowanego i przedłużonego uwalniania substancji hipotensyjnych. Na ten proces składały się następujące etapy: 1) opracowanie i zoptymalizowanie metod syntezy biodegradowalnych matryc polimerowych; 2) otrzymanie polimerowych systemów terapeutycznych (wielkocząsteczkowych koniugatów i nanocząstek) z substancjami przeciwnadciśnieniowymi; 3) opracowanie innowacyjnej, doodbytniczej i żelowej postaci leku – termowrażliwego płynnego czopka. Opracowane przez Doktorantkę rozwiązanie ma z jednej strony prowadzić do otrzymania innowacyjnej postaci leku dla winianu metoprololu (MT), który enkapsulowany w biodegradowalnych nanocząstkach polimerowych będzie składnikiem termowrażliwego płynnego czopka, z drugiej zaś strony ma skutkować otrzymaniem złożonych dwuwarstwowych polimerowych nanosystemów do jednoczesnego dostarczania dwóch substancji o działaniu hipotensyjnym: atenololu (ATN) i furosemidu (FUR). Tematyka przedstawionej do recenzji rozprawy jest z całą pewnością ważna i aktualna, a także wpisuje się we współczesny nurt badań realizowanych w wiodących jednostkach naukowych. O rzeczywistej potrzebie prowadzenia badań w tym obszarze świadczy fakt uzyskania przez Doktorantkę Grantu Młodego Badacza Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Dysertacja doktorska to cykl czterech powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w latach 2019-2023. Dwa z nich to prace przeglądowe opublikowane w *Expert Opinion on Drug Delivery* (IF₂₀₁₉ = 4,838; pkt MEiN = 140) oraz *International Journal of Molecular Sciences* (IF₂₀₂₁ = 6,208; pkt MEiN = 140), a kolejne dwa to oryginalne prace badawcze opublikowane w *International Journal of Molecular Sciences* (IF₂₀₂₂ = 5,600; pkt MEiN = 140) oraz w *Journal of Drug Delivery Science and Technology*



(IF₂₀₂₃ = 5,000; pkt MEiN = 70). Przedstawiony cykl prac został stosownie zatytułowany „Innowacyjne systemy polimerowe w terapii nadciśnienia tętniczego – otrzymywanie, badania strukturalne, fizykochemiczne i biologiczne”. Wszystkie prace są wieloautorskie (od 4 do 10 współautorów), w każdej z nich Doktorantka jest pierwszym autorem. Załączone oświadczenia współautorów potwierdzają dominującą rolę mgr Marii Bialik, gdyż Jej wkład w powyższych czterech pracach kształtował się na poziomie 45-55% i obejmował udział w opracowaniu koncepcji pracy, przegląd literaturowy, analizę i interpretację zebranych danych, napisanie oryginalnego tekstu publikacji oraz dyskusję z recenzentami.

Z formalnego punktu widzenia przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została zredagowana w prawidłowy i spójny sposób, w formie opracowania, którego integralną część stanowią załączone publikacje wraz z oświadczeniami wszystkich współautorów. Praca doktorska stanowi swojego rodzaju przewodnik do zagadnień i badań opublikowanych w omawianych czterech artykułach naukowych. Kompilację prac poprzedza *Wykaz skrótów*, *Streszczenie* w j. polskim i j. angielskim oraz *Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej*. W kolejnych rozdziałach scharakteryzowano sylwetkę Doktorantki z uwzględnieniem Jej udziału w konferencjach naukowych oraz realizowanych projektów naukowych. Przewodnik obejmuje także starannie opracowane *Wprowadzenie* w tematykę rozprawy, gdzie został nakreślony problem nadciśnienia tętniczego w kontekście ograniczeń związanych z klasycznym leczeniem farmakologicznym. Doktorantka dokonała również przeglądu aktualnego stanu wiedzy dotyczącego nowych rozwiązań terapeutycznych dla chorych na NT. Scharakteryzowała innowacyjne nośniki leków oparte na biodegradowalnych polimerach, jak koniugaty polimer-lek, mikro- i nanocząstki oraz wielowarstwowe nano- i mikrosystemy polimerowe. Następnie płynnie przeszła do omówienia innowacyjnej postaci leku, czyli termowrażliwych płynnych czopków, wskazując na zalety podania leków *per rectum* oraz wymagane parametry aplikacyjne stawiane tej grupie leków. W kolejnych rozdziałach Doktorantka przedstawia zwięźle sformułowane



założenia i cel badań oraz wypunktowuje najistotniejsze etapy realizacji pracy. Natomiast w części *Opis przeprowadzonych badań* znajdują się streszczenia każdej z czterech publikacji. Całość przewodnika uzupełniają *Podsumowanie i wnioski* oraz licząca 27 pozycji *Bibliografia*, na podstawie której Doktorantka nakreśliła istotność podjętej tematyki badawczej. Ostatni z rozdziałów to wspomniane wcześniej załączone publikacje wraz z oświadczeniami współautorów.

Zasadnicza część dysertacji oparta jest na czterech artykułach naukowych. Dwa z nich (P1 i P2) należy zaliczyć do części teoretycznej rozprawy, gdyż są to artykuły przeglądowe. W pracy P1 Doktorantka przedstawia aktualny stan wiedzy na temat biodegradowalnych, syntetycznych poliestrów wykorzystywanych w technologii systemów o kontrolowanym uwalnianiu substancji o działaniu hipotensyjnym. Na wstępie zwraca uwagę na problemy dotyczące terapii nadciśnienia tętniczego, w tym niską biodostępność konwencjonalnych substancji leczniczych. Następnie skupia się na przeglądzie opublikowanych wyników badań naukowych związanych z synteżowaniem nowoczesnych nośników leków przeciwnadciśnieniowych na bazie poli(ϵ -kapolaktonu) (PCL), polilaktydu (PLA) oraz poli(laktydo-*ko*- ϵ -kapolaktonu) (PLACL) i poli(laktydo-*ko*-glikolidu) (PLAGA). Przegląd literatury potwierdził zasadność stosowania matryc polimerowych jako nowoczesnych nośników leków hipotensyjnych i konieczność ich dalszych modyfikacji w celu poprawy parametrów farmakokinetycznych.

Przedmiotem drugiej pracy przeglądowej (P2) są termowrażliwe płynne czopki proponowane w terapii różnych schorzeń, jak nowotwory, choroby psychiczne, malaria, cukrzyca i inne, jako alternatywne rozwiązanie dla klasycznej drogi podania leku *per os*. Doktorantka wymienia zalety podawania leków doodbytniczo, ale jednocześnie poddaje tę metodę krytycznej ocenie. Niechęć pacjentów do stosowania klasycznych, twardych czopków mogą przełamać termowrażliwe czopki, płynne w momencie aplikacji,



zmieniając konsystencję dopiero po zastosowaniu, w temperaturze fizjologicznej. Pokazny zbiór danych literaturowych obejmujący 145 pozycji bibliograficznych pozwolił Autorce na gruntowne omówienie tematu, począwszy od przedstawienia substratów niezbędnych do formulacji tej postaci leków (polimerów termowrażliwych oraz polimerów o właściwościach mukoadhezyjnych), a skończywszy na przeglądzie osiągnięć innych grup badawczych w tej tematyce. Lektura artykułów przeglądowych P1 i P2 jednoznacznie wskazuje, że mgr Maria Bialik posiada odpowiednie przygotowanie merytoryczne do kontynuacji prac doświadczalnych związanych z tematem pracy doktorskiej.

Prace eksperymentalne są przedmiotem publikacji P3 i P4. W publikacji P3 Doktorantka postawiła sobie za cel zaprojektowanie i uzyskanie innowacyjnej postaci leku dla winianu metoprololu w postaci termowrażliwego płynnego czopka opartego na biodegradowalnych nanocząstkach na bazie PLAGA. Doktorantka, bazując na wybranych poloksamerach jako komponentach żelujących w temperaturze fizjologicznej oraz wybranych polimerach o właściwościach mukoadhezyjnych, otrzymała i scharakteryzowała szereg termowrażliwych płynnych czopków. W zależności od etapu procesu stosowała liczne techniki, jak NMR, FTIR, SEC-MALLS, DLS, TEM, badania cyto- i genotoksyczności, ocena profilu uwalniania MT z nanocząstek i finalnych produktów. Doktorantka wykonała imponującą ilość analiz, by osiągnąć założony cel badań. Uzyskała formułacje, z których zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu w sposób kontrolowany uwolniło się 80-88% MT.

W ostatnim artykule P4 przedstawione zostały wyniki kompleksowych badań związanych z otrzymywaniem i charakterystyką polimerowych nośników do jednoczesnego dostarczania dwóch substancji o działaniu hipotensyjnym: atenololu i furosemidu. Doktorantka ponownie skupiła się na syntezie matryc polimerowych, tym razem pod kątem formułacji dwuwarstwowych polimerowych nanosystemów



uwalniających leki przeciwnadciśnieniowe w sposób przedłużony i kontrolowany. Przedstawione wyniki pracy jednoznacznie wskazują, że Doktorantka osiągnęła założony cel pracy. Ciekawe są wyniki badań cytotoksyczności, które wskazały kolejną zaletę formulacji dwuwarstwowych nanosystemów – zmniejszenie toksyczności FUR związanego w rdzeniu takiego układu. Uzyskane wyniki stanowią istotny wkład w rozwój nauk farmaceutycznych i posiadają ważne znaczenie dla ewentualnej praktyki klinicznej.

Nie mam żadnych uwag merytorycznych do wyżej wymienionych prac, ponieważ zaprezentowane wyniki zostały już wcześniej poddane krytycznej ocenie i omówione z recenzentami z danej dziedziny. Publikacje Doktorantki zawierają niezbędne informacje dotyczące zakresu i przebiegu realizowanych badań, łącznie z opisem metodyki, dyskusją wyników oraz płynących z realizacji założeń pracy słusznych wniosków. Cele prac eksperymentalnych postawione przez Doktorantkę wymagały szerokich badań łączących metody fizykochemiczne, farmaceutyczne i biologiczne. Ich wyniki mają znaczenie praktyczne, gdyż opracowane metody syntezy biodegradowalnych nośników leków hipotensyjnych o przedłużonym i kontrolowanym uwalnianiu mogą stanowić bazę dla rozwoju nowych terapii nadciśnienia tętniczego.

Należy podkreślić, że przewodnik został przygotowany z dużą starannością zarówno pod kątem edycyjnym, jak i graficznym. Pojawiają się jedynie nieliczne błędy i nieścisłości językowe, np. w zdaniach: „W tym celu wykorzystuje się nośniki biodegradowalne i/lub bioresorbowalne, takie jak: PCL, PLA, poli(laktyd-*ko*- ϵ -kaprolakton), (PLACL) i poli(laktyd-*ko*-glikolid) (PLAGA)” (str. 28); „Nanocząstki otrzymano metodą koacerwacji, stosując Tween 80 jako surfaktant oraz 3 różne stosunki masowe kopolimeru PLAGA i MT: 200/125 mg (O1), 200/150 mg (O2), 200/200 mg (O3)” (str. 33); czy też w określeniu „technika skaningowego mikroskopu elektronowego” (s. 36) zamiast skaningowej mikroskopii elektronowej. Pragnę podkreślić, że



wymienione wyżej uwagi mają drugorzędne znaczenie, nie obniżają wartości merytorycznej pracy i w żadnej mierze nie wpływają na moją wysoką ocenę rozprawy doktorskiej.

W trakcie lektury dysertacji nasunęło się kilka pytań i kwestii do przedyskutowania lub wyjaśnienia podczas obrony rozprawy pracy doktorskiej:

- w podsumowaniu pracy **P3** Doktorantka wysuwa wniosek, iż „opracowane termowrażliwe płynne czopki oparte na biodegradowalnych nanocząstkach polimerowych obciążone związkami przeciwnadciśnieniowymi, wydają się być obiecującą alternatywą dla leków doustnych, zawierających substancje hipotensyjne o ograniczonym zastosowaniu *per os* i stanowić mogą krótkoterminowy system dostarczania leku w terapii NT”. Proszę wskazać, który z opracowanych systemów wykazuje największy potencjał aplikacyjny;

- proszę scharakteryzować metodę pomiaru siły żelu zastosowaną w pracy **P3**. Czy ten parametr można oszacować innymi metodami?;

- jakie są kierunki dalszych badań stanowiących kontynuację prac badawczych ujętych w pracy doktorskiej?

Pragnę dodać, że te pytania wynikają jedynie z zaciekawienia tematem, a ich rozwinięcie i przedyskutowanie w trakcie obrony pozwoli na dokładniejsze zrozumienie podejmowanych badań.

Podsumowując, badania naukowe przeprowadzone przez Panią mgr Marię Bialik charakteryzuje duża wartość poznawcza. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wnosi istotny wkład w rozwój badań skoncentrowanych na opracowaniu nowych i skutecznych terapii choroby cywilizacyjnej, jaką jest nadciśnienie tętnicze. Potwierdza również doskonałą umiejętność analizy danych literaturowych i planowania oraz prowadzenia badań



naukowych przez Doktorantkę. Praca z całą pewnością spełnia wymagania stawiane w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce”, zatem zwracam się do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr Marii Bialik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę: 1) wysoką wartość merytoryczną rozprawy, 2) zaawansowanie metod badawczych, 3) imponującą ilość przedstawionych wyników, 4) duży potencjał aplikacyjny pracy oraz 5) dojrzałość naukową Doktorantki, wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o wyróżnienie.

Justyna Kozłowska