

Prof. dr hab. n. farm. Elżbieta Budzisz
Wydział Farmaceutyczny
Zakład Chemii Surowców Kosmetycznych

Łódź, 24.06.2022

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr Marty Biernackiej

zatytułowanej:

„Badania powstawania kompleksów inkluzyjnych cyklodekstryn z wybranymi związkami biologicznie aktywnymi”

złożonej do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego w celu uzyskania stopnia naukowego doktora nauk chemicznych.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pani mgr chemii Marty Biernackiej została wykonana pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Bartłomieja Pałecza i promotora pomocniczego dr Artura Stępniaaka w Zakładzie Chemii Biofizycznej, Katedry Chemii Fizycznej, Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego, którzy od wielu lat zajmują się kompleksami inkluzyjnymi.

Zgodnie z ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U z 2003 r. Nr 65, poz. 595) *”Rozprawa doktorska, przygotowywana pod opieką promotora, powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego lub artystycznego oraz wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej lub artystycznej, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej”*, dlatego zgodnie z uchwałą Komisji Uniwersytetu Łódzkiego o powołaniu mnie na Recenzenta wyżej wymienionej rozprawy mam zaszczyt przedstawić poniżej swoją opinię dotyczącą tych właśnie aspektów dysertacji.

Badania przeprowadzone w ramach rozprawy doktorskiej miały na celu syntezę kompleksów inkluzyjnych oraz analizę oddziaływań pomiędzy wybranymi ligandami a substancjami nośnikowymi. Do badań Doktorantka wybrała cyklodekstryny jako nośniki substancji aktywnych zaś jako substancje biologicznie aktywne wybrała ezetymib, cilostazol oraz pochodne flawanonów. Flawonoidy należą do naturalnych związków organicznych zawierających układ benzo- γ -pironu, będących wtórnymi metabolitami w roślinach, owocach, warzywach zarówno w liściach i korzeniach. W medycynie surowce zawierające flawonoidy znane i wykorzystywane były od niepamiętnych czasów i wykazują ponad 30 różnych typów aktywności biologicznych takich jak: aktywność przeciwbakteryjną, przeciwnowotworową, przeciwgrzybową oraz właściwości uszczelniające naczynia wieńcowe czy krwionośne. Większość naturalnych flawonoidów z uwagi na podstawniki hydroksylowe należy do polifenoli i wykazuje właściwości antyoksydacyjne, które mogą znaleźć zastosowanie w prewencji nowotworów i wymienionych wcześniej chorób. Doktorantka zaproponowała różne podstawniki w pochodnych flawanonów, aby móc określić wpływ poszczególnych podstawników na proces inkluzji w cyklodekstrynie. Drugim komponentem pracy Doktorantki były cyklodekstryny. W przemyśle farmaceutycznym cyklodekstryny stosuje się przede wszystkim w celu zwiększenia rozpuszczalności w wodzie substancji lipofilnych, modyfikacji leków, co skutkuje zwiększeniem biodostępności, zwiększeniem stabilności w fazie stałej, zwiększeniem absorpcji po podaniu doustnym, doodbytniczym czy transdermalnym. W przypadku leków dermatologicznych zastosowanie cyklodekstryn redukuje lokalne podrażnienia dermalne.

Zaproponowane przez Doktorantkę zarówno substancje nośnikowe z ich modyfikacjami jak również ligandy o zróżnicowanych wielkościach cząsteczek i różnych właściwościach biologicznych, wskazują na rozsądne podejście do tematu rozprawy.

Zgodnie z ustawą z 2003 praca doktorska „powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego” dlatego wybór zarówno ligandów jak również wybranych cyklodekstryn świadczy o dobrej znajomości tematyki prowadzonej przez panią Magister.

Częstym problemem, z którym borykają się osoby opracowujące recepturę postaci leku, jest słaba rozpuszczalność w wodzie związku biologicznie aktywnego. Najlepszym

rozpuszczalnikiem jest woda, choć dopuszczalny jest również DMSO, ale tylko w odpowiednim stężeniu w końcowym produkcie. Dlatego w niniejszej pracy Doktorantka wybrała kilka substancji nośnikowych: α -cyklodekstrynę, β -cyklodekstrynę, hydroksypropylo- β -cyklodekstrynę oraz sól sodową eteru sulfobutylowego- β -cyklodekstryny. Dla większości cząsteczek organicznych optymalna pod względem wielkości jest β -cyklodekstryna. Jednakże jak wskazują liczne badania, jej wadą jest najslabsza rozpuszczalność w wodzie, co ogranicza jej wykorzystanie w wielu dziedzinach. Dlatego zastosowanie przez Doktorantkę modyfikacji zwracając uwagę na ich toksyczność wskazuje na dogłębną znajomość tematyki i przemyślane wybory.

W pracy obecne są dwa zasadnicze wątki – część syntetyczna i fizykochemiczna. Trzeba docenić, że w obu tych wątkach Doktorantka wykonała ogromną pracę i chociaż w pracy nie ma badań biologicznych, to wyniki zebrane dla nowych dotychczas nieopisanych w literaturze związków stanowią interesujące studium poprawiające rozpuszczalność związków biologicznie czynnych. Badania fizykochemiczne (spektroskopia UV i VIS, FT-IR, Metoda Rozpuszczalności Fazowej, Izotermiczna Kalorymetria Miareczkowa oraz Różnicowa Kalorymetria Skaningowa) pozwoliły Doktorantce na analizę struktury i trwałość tworzonych kompleksów

Rozprawa doktorska przygotowana jest w sposób standardowy, co oznacza, że część wyników badań zawiera dane już opublikowane, ale również, te które dopiero mogą być przedmiotem publikacji. Obecnie często spotyka się rozprawy doktorskie tylko na podstawie publikacji. Każdy z tych sposobów ma oczywiście swoje plusy i minusy. Należy podkreślić, że dorobek naukowy pani mgr chemii Marty Biernackiej jest bardzo dobry choć przedmiot doktoratu znalazł się tylko w jednej publikacji, dlatego Doktorantka w rozprawie szeroko omówiła swoje dokonania, które nie zostały dotychczas opublikowane, zamieszczając na końcu pracy załącznik ze wszystkimi danymi przeprowadzonymi w trakcie badań. Łączny dorobek naukowy Doktorantki to IF= 8,745 (JCR) i 280 punktów ministerialnych. Najwyżej ocenioną pracą jest ta, która stanowi podstawę rozprawy doktorskiej. Jej IF wynosi 5,923 i 140 punktów ministerialnych. Należy również zaznaczyć udział pani mgr Marty Biernackiej w 14 konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych, gdzie często prezentowała kilka

wystąpień. Świadczy to o ogromnej aktywności naukowej i chęci zgłębienia interesujących ją tematów.

Dysertacja napisana na 150 stronach maszynopisu i zawiera typowe rozdziały takie jak: **Wprowadzenie** (str.7), **Wstęp teoretyczny** (str.9-26), **Część eksperymentalną** (str.29-44), **Omówienie wyników** (str.45-87), **Podsumowanie** (str.94-102). Każda z tych części zawiera podrozdziały, w których Doktorantka twórczo rozwinęła poruszane zagadnienia. W **Podsumowaniu** znajdują się dodatkowo **Streszczenie** (str.103-104), **Abstract** (str.105-106) w języku angielskim, **Załączniki** (str.107-147) i informacje o **Dorobku naukowym** (str.148-150). Całość poprzedza obszerny wykaz skrótów, który ułatwia czytanie pracy. Należy zauważyć, że Autorka zachowała właściwe proporcje między poszczególnymi rozdziałami a praca napisana jest z dużą starannością jeśli chodzi o styl i formę pracy.

Przegląd literatury doktorantka nazwała **Wstęp teoretyczny**. Zawarła w nim informacje dotyczące roli cyklodestryn ich syntezy i właściwości biologicznych, właściwości leków ezetymibu i cilostazolu, oraz flawanonów oraz ich właściwości biologicznych. Kolejne podrozdziały zawierają skondensowane informacje o rozpuszczalnikach istotnych w przygotowaniu leków. Autorka cytuje dużo najnowszej literatury wskazując na profesjonalne poruszanie się w wybranej przez siebie tematyce badawczej.

Moje uznanie budzi rozdział zatytułowany **Część eksperymentalna** zawierający szczegółowy wykaz stosowanych badań analitycznych i szczegółowy opis metod badawczych. Osoby, które zajmują się analizą metod spektroskopowych czy kalorymetrycznych wiedzą ile pracy i wysiłku należy włożyć, żeby prawidłowo ocenić wyniki eksperymentalne i wyciągnąć prawidłowe wnioski. Ta część pracy budzi mój podziw i szacunek.

Mocną stroną pracy jest obszerny i bardzo dobrze napisany rozdział **Omówienie Wyników**, w którym Doktorantka podjęła próbę przedyskutowania wyników badań. Struktury otrzymanych związków zostały ustalone w oparciu o metody spektroskopowe UV i Vis oraz FT IR oraz techniki kalorymetryczne. Dla większości kompleksów stwierdzono stechiometrię 1:1 cyklodekstryna : ligand, niezależnie czy stosowano α -cyklodekstrynę,

β -cyklodekstrynę, hydroksypropylo- β -cyklodekstrynę czy sól sodową eteru sulfobutylowego- β -cyklodekstryny. Odmienne wyniki otrzymano dla cilostazolu 2:1. Metody spektroskopowe pozwoliły na wyznaczenie rozpuszczalności badanych połączeń w wodzie wskazując, że zamknięcie ligandów w nośnikach modyfikowanych cyklodekstrynowych powodował wzrost tego parametru. Uzupełnieniem tej części badań są badania kalorymetryczne potwierdzające trwałość otrzymanych połączeń. Z dużą starannością Doktorantka przedstawiła wszystkie badania, które zostały dobrze zaplanowane i z konsekwencją wykonane. Na uwagę zasługuje fakt, że w tym rozdziale Doktorantka krytycznie i wnikliwie dyskutuje własne wyniki, odnosząc się do wyników reprezentowanych w literaturze.

Rozdział zatytułowany **Podsumowanie** wskazuje na logiczny tok myślenia i potwierdza dojrzałość naukową Autorki, jej dużą wiedzę w zakresie prowadzonych badań i dobre przygotowanie merytoryczne. Doktorantka wykazała duże umiejętności eksperymentalne (syntetyczne i analityczne), zdolność właściwego planowania eksperymentów i krytyczne podejście w ich interpretacji.

Piśmiennictwo zawiera 98 aktualnych pozycji literaturowych, z których około 30 tytułów ma nie więcej niż 10 lat i są one dobrze dobrane jak również cytowane zgodnie z pojawianiem się w tekście pracy. Część piśmiennictwa jest zdecydowanie starsza. Znajduje się również praca z XIX wieku.

Szerokie badania fizykochemiczne pozwoliły ustalić stechiometrię kompleksów i ich trwałość. Uważam za niezwykle istotny wybór tematyki badań ze względu na ogromny problem jaki we współczesnym świecie odgrywa walka z chorobami cywilizacyjnymi i możliwość wprowadzenia leków w różnych formach. Wybrane do badań i zsyntezowane przez Doktorantkę związki dają szerokie możliwości wykorzystania ich w wielu dziedzinach.

Według mojej oceny pani mgr Marta Biernacka spełniła kryterium wynikające z Ustawy z 2003 roku sformułowała streszczenie podsumowujące wyniki z przeprowadzonych eksperymentów. Autorka krytycznie, wnikliwie i w sposób zwięzły przedstawia najważniejsze osiągnięcia wynikające z przeprowadzonych badań. Logiczny tok myślenia potwierdza dojrzałość naukową Autorki, jej dużą wiedzę w zakresie prowadzonych

badania i dobre przygotowanie merytoryczne. Doktorantka wykazała duże umiejętności eksperymentalne (syntetyczne i analityczne), zdolność właściwego planowania eksperymentów i krytyczne podejście w ich interpretacji.

Z racji pełnionej funkcji zebrałam najważniejsze osiągnięcia pani mgr chemii Marty Biernackiej:

Mocne strony dysertacji to:

1. Dobrze, logicznie napisana część teoretyczna pracy zawierająca najważniejsze dotychczasowe informacje związane z tematyką pracy.
2. Dobrze zaplanowane i udokumentowane eksperymenty
3. Dobrze przygotowane streszczenie pracy podsumowujące przeprowadzone eksperymenty.
4. Na uwagę zasługuje zacytowanie w niniejszej dysertacji 98 pozycji literaturowych piśmiennictwa naukowego, cytowanego w sposób przyjęty najczęściej w publikacjach z dziedziny chemii, która jest precyzyjnie dobrana i obejmuje najnowsze prace dotyczące tematyki badań.
5. Stosowana przez mgr chemii Martę Biernacką nomenklatura chemiczna jest poprawna.

Jednakże ze względu na swoją rolę jako Recenzenta pozwolę sobie na uwagi krytyczne, które oczywiście nie umniejszają osiągnięć i wartości merytorycznej pracy.

Słabe strony dysertacji to:

1. Brak mi jest krótkiego rozdziału dotyczącego celów pracy. Trzeba wyszukiwać go w tekście, chociażby dlaczego wybór padł na takie a nie inne flawonoidy czy leki ezetymib lub cilostazol. Często w Rozprawach doktorskich poświęca się temu oddzielny rozdział.
2. Brak mi również wniosków z przeprowadzonych przez Panią eksperymentów



Jeszcze jedno pytanie jakie się nasuwa w związku z prowadzonymi badaniami są dalsze perspektywy, czy planuje Pani badania biologiczne. Niestety często „od pomysłu do przemysłu” droga daleka, ale powinno to stanowić wyzwanie dla Doktorantki.

Uwzględniając w ocenie merytoryczną i poznawczą wartość pracy w wymiarze naukowym oraz staranne przygotowanie jej pod względem redakcyjnym uważam, że całkowicie spełnia ona wymagania określone w art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 r. (Dz.U. 2003 r. numer 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) o Tytułach Naukowym i Stopniach Naukowych. Na tej podstawie zwracam się do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego w Łodzi z wnioskiem o dopuszczenie **mgr chem. Marty Biernackiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. farm. Elżbieta Budzisz