



UNIwersytet Medyczny w Lublinie

Wydział Farmaceutyczny

Katedra i Zakład Chemii Leków

Adres:

Collegium Anatomicum
ul. Jaczewskiego 4,
20-090 Lublin

tel. +48 81 448 7380
fax: +48 81 448 7381
e-mail: chemia.lekow@umlub.pl

Lublin, dnia 7 maja 2020 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Kilińskiej

na stopień doktora nauk farmaceutycznych

pt. „***Ocena trwałości wybranych analogów karbapenemu
oraz inhibitorów dehydropeptydazy poddanych sterylizacji
radiacyjnej***”

wykonanej pod kierunkiem Pana dr hab. Przemysława Zalewskiego

Ocenę przygotowano w związku z pismem nr DWF-571a-102/20 z dnia 13 marca 2020 roku Dziekana Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, prof. dr hab. Edmunda Grześkowiaka zgodnie z uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego UM w Poznaniu z dnia 11.03.2020

Informacje ogólne

Osiągnięciem zgłoszonym do postępowania w sprawie nadania stopnia doktora jest kontinuum 5-ciu jednotematycznych prac oryginalnych opublikowanych w latach 2018 -2019, w czasopismach naukowych *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research* i *Molecules* o łącznym współczynniku oddziaływania - IF 7,46 i liczbie punktów MNiSW 225,0. We wszystkich zgłoszonych pracach Doktorantka jest pierwszym autorem.

Przedmiotem zainteresowania Doktorantki były karbapenemy, z rodziny antybiotyków beta-laktamowych, o niezwykle szerokim spektrum działania przeciwbakteryjnego, wyjątkowych właściwościach farmakologicznych, aplikowanych w terapii skomplikowanych infekcji bakteryjnych (Petri Jr. WA. *Penicillins, Cephalosporins, and other β -Lactam Antibiotics*. In Brunton LL., Lazo JS., Parker KL., editors. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th ed. McGraw-Hill Education, 2006, s. 1127-1154).

Do badań Doktorantka wybrała 4 antybiotyki z grupy karbapenemów: imipenem, doripenem, ertapenem, meropenem i 2 inhibitory dehydropeptydazy: cilastatynę i betamipron (jako czynniki protekcyjne wymienionych antybiotyków) celem oszacowania ich stabilności radiochemicznej w trakcie procesu sterylizacji radiacyjnej w kontekście bezpiecznej farmakoterapii.

Ocena merytoryczna rozprawy

Za trafnością podjętej problematyki badawczej przemawia przede wszystkim intencja zapewnienia odpowiedniej jakości preparatu leczniczego będąca kluczowym kryterium bezpiecznej i skutecznej farmakoterapii.

Dodatkowo, wybór do badań ważnej grupy preparatów odgrywających niezwykle istotną rolę we współczesnej terapii zakażeń, będących często „antybiotykami ostatniej szansy” u pacjentów z poważnymi infekcjami lub podejrzeniami o nosicielstwo opornych bakterii. Należy zaznaczyć, że spośród obecnie dostępnych β -laktamów karbapenemy uważane są za unikatowe, ponieważ posiadają znaczną odporność na hydrolizę wobec większości β -laktamaz, która to właściwość stanowi główne uzasadnienie dynamicznej ekspansji tej klasy antybiotyków (Papp-Wallace KM et al. *Carbapenems: Past, Present, and Future*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011; 55(11): 4943–4960).

Ponadto, zainteresowanie się mikrobiologiczną dekontaminacją radiacyjną jako metodą szybką, czystą, wydajną, niezawodną i bezpieczną (w tym również dla środowiska naturalnego), znajdującą szerokie zastosowanie w wielu krajach świata do wyjaławiania wyrobów medycznych głównie z tworzyw sztucznych, jak również przeszczepów tkankowych, endoprotez, farmaceutyków i kosmetyków (Rafalski A. Sterylizacja radiacyjna na tle innych metod wyjaławiania. Materiały XIV Szkoły Sterylizacji i Mikrobiologicznej Dekontaminacji Radiacyjnej, Zakład Naukowy - Centrum Badań i Technologii Radiacyjnych, Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, Warszawa, 19-20.10.2017 r.)

Warto również wspomnieć, że tematyczne piśmiennictwo wskazuje na potrzebę badania efektów sterylizacji radiacyjnej w odniesieniu do środków leczniczych w aspekcie określania ich trwałości radiochemicznej, identyfikacji produktów radiolizy, wyjaśniania mechanizmów radiodegradacji (Marciniec B., Dettlaff K., Radiation sterilization of drugs, Eds.: Trends in radiation sterilization of health care products, str. 187-230, International Atomic Energy Agency, Wiedeń, Austria, 2008).

Tak więc problematyka badawcza niniejszej pracy ewidentnie przyczynia się do wyjaśnienia wspomnianych implikacji promieniowania jonizacyjnego.

Należy podkreślić, że Doktorantka podjęła problem oceny sterylizacji radiacyjnej jako niskotemperaturowej metody wyjąłwania produktów niestabilnych, alternatywnej w odniesieniu do sterylizacji reaktywnym tlenkiem etylenu, który jak dowiedziono może wykazywać działanie toksyczne, mutagenne i rakotwórcze.

Prace będące podstawą zgłoszonej do oceny rozprawy doktorskiej stanowią spójną, logiczną całość tematyczną i badawczą wyjaśniając „naszą niewiedzę” w zakresie sterylizacji radiacyjnej karbapenemów, zmian strukturalnych, po-radiacyjnych, i zmian aktywności mikrobiologicznej jako efektu radiodegradacji w tej grupie związków.

Doktorantka osiągnęła zasadniczy cel swoich badań wykazując możliwość stosowania sterylizacji radiacyjnej w przypadku 4 badanych antybiotyków: doripenemu, meropenemu, ertapenemu i betamipronu oraz dowodząc efekt radiodegradacyjny w przypadku 1 preparatu, tj. imipenemu z cilastatyną.

Opublikowane i zweryfikowane wyniki Doktorantki przyczyniają się również do promocji zastosowanej metody sterylizacji, której znaczenie w ostatnich latach dynamicznie wzrasta.

Oceniana praca posiada walory poznawcze i przede wszystkim aplikacyjne. Przeprowadzone eksperymenty są źródłem wartościowych danych ukierunkowanych na radiochemiczną stabilność stosowanych w lecznictwie karbapenemów z możliwością ich praktycznego wykorzystania celem przygotowania skutecznych i jakościowo pewnych preparatów leczniczych w perspektywie bezpieczeństwa pacjenta. Poznawczy charakter pracy przejawia się w eksplikacji zmian strukturalnych badanych związków poddanych radio-stresogennemu działaniu.

Problematyka pracy jest również interesująca z analitycznego punktu widzenia, gdyż weryfikacja potencjalnej degradacji leków wymagała zastosowania przez Doktorantkę nieszablonowych metod oceny, których ilość i jakość jest imponująca.

Ocena metodologiczna pracy

Praca doktorska mgr Karoliny Kilińskiej stanowi wartościowe opracowanie, które liczy 130 stron, ma układ charakterystyczny dla prac badawczych i składa się z rozdziałów, które przedstawiają kolejno sylwetkę naukową Doktorantki, profil pracy i reprodukcje artykułów naukowych zgłoszonych do oceny, następnie część teoretyczną, cel pracy, metodykę badań, komentarz do opublikowanych prac, wyniki i piśmiennictwo oraz elementy informacyjno-pomocnicze czyli stronę tytułową, spis treści, wykaz skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim i stosowne oświadczenia współautorów.

Rozprawa jest skonstruowana w sposób przejrzysty. Nie znaleziono błędów stylistycznych, ortograficznych czy gramatycznych z wyjątkiem drobnych literówek (np. str. 88, pkt 4), braku spacji, czy zmian szyku wyrazów np. „przy fali długości” zamiast „przy długości fali” (str. 81).

Tytuł rozprawy jest zwięzły, informacyjnie nośny, trafnie określa tematykę pracy.

W części teoretycznej Doktorantka odniosła się przekrojowo do podziału antybiotyków z dokładnym przeanalizowaniem karbapenemów oraz uwarunkowań skutecznej farmakoterapii, następnie do ogólnych normatyw sterylności, metod sterylizacji ze szczególnym omówieniem sterylizacji radiacyjnej oraz przeglądu literatury w temacie radiosterylizacji antybiotyków. Autorka wykazała się znajomością przedmiotowej literatury i umiejętnością trafnego selekcjonowania w poszukiwaniu właściwych źródeł.

Założone cele pracy mieszczą się w nurcie badań z obszaru bezpiecznej farmakoterapii i integrują się z problemem badawczym. Doktorantka sformułowała cel ogólny pracy i następnie określiła cele szczegółowe definiując logicznie następujące po sobie zadania badawcze.

Podając przedmiot i metodykę badań Doktorantka opisała tok przeprowadzonych, interdyscyplinarnych eksperymentów dzieląc je na 4 etapy. W pierwszym etapie próbki badanych związków zostały poddane promieniowaniu radiacyjnemu w liniowym akceleratorze elektronów w rekomendowanej dawce wywołującej 25 kGy i dawkach stresogennych od 50 do 400 kGy. W kolejnych etapach zweryfikowano potencjalną radiodegradację próbek poprzez ocenę organoleptyczną w fazie stałej i w roztworze oraz stosując nowoczesne techniki analityczne, w tym techniki oceny bezpośredniej (spektrometrię elektronowego rezonansu magnetycznego (EPR), spektroskopię w podczerwieni (FTIR) i Ramana, skaningową kalorymetrię różnicową (DSC) i proszkową dyfraktometrię rentgenowską (XRPD)), jak również techniki oceny pośredniej (spektrofotometrię UV i

techniki chromatograficzne: HPLC-DAD i HPLC ze spektrometrią mas). W ostatnim etapie sprawdzono aktywność przeciwbakteryjną poddanych obróbce radiacyjnej próbek wobec szczepów bakterii referencyjnych i izolatów klinicznych.

W swoich badaniach Doktorantka stosuje metody badawcze, adekwatne do podjętej tematyki, takie jak eksperyment, obserwację, analizę i krytykę piśmiennictwa, i nadzwyczaj bogaty wachlarz technik instrumentalnych. W przypadku młodego badacza, imponujące wrażenie sprawia umiejętność posługiwania się wyrafinowaną metodyką analityczną.

Prezentowane wyniki korespondują z procedurami badań oraz ich dyskusją, zostały przedstawione w formie rycin i zbiorczo w tabelach. Na uwagę zasługuje ilustracja wyników oryginalnymi rejestracjami (widma: FT-IR, Ramana, UV, EPR, krzywe DSC, dyfraktogramy, chromatogramy).

Doktorantka szczegółowo omówiła uzyskane rezultaty, właściwie je zinterpretowała wyciągając trafne konkluzje. Jedynie brakuje mi przedyskutowania otrzymanych wyników z istniejącymi doniesieniami literaturowymi w przedmiocie radiosterylizacji innych leków.

Zwieńczeniem rozprawy są wnioski, gdzie Autorka w zwięzły i przejrzysty sposób przedstawiła swoje najważniejsze osiągnięcia.

Rozprawa doktorska jest udokumentowana 44 pozycjami piśmiennictwa, w tym prace w większości opublikowane w okresie ostatnich 15 lat (np. *Molecular Pharmaceutics*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *X-Ray Spectrometry*, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*), również pozycje książkowe oraz normy ICH, ISO.

Opisy bibliograficzne zawierają wymagane elementy i zostały uporządkowane według kolejności powołań w tekście (system Vancouverski).

Jednak cytując źródła Doktorantka nie ustrzegła się pewnych nieścisłości. Mianowicie, wymaga się, aby styl opisów bibliograficznych był dokładnie taki sam w każdej formie wydawniczej (publikacje książkowe, artykuły w czasopismach), np. rok wydania nie może w jednym opisie znajdować się w środku, w innym na końcu (np. str. 94, poz. piśmiennictwa 15, 16, 20 i 22, 23, 24), ponadto skróty: vol., no. piszemy we wszystkich opisach lub w żadnym (np. str. 8).

Ponadto proszę o wyjaśnienie nieprecyzyjności dotyczących treści publikacji z udziałem meropenemu:

- str. 25: trudno się zgodzić, aby pasmo drgań rozciągających ugrupowania C-C występowało przy 3000 cm^{-1} (raczej dotyczy pasm C-H),

str. 26 – rycina 12: jeśli produkt degradacji DP jest analogiem produktu hydrolizy kwasowo-zasadowej meropenemu, więc po degradacji pierścienia beta-laktamu powinien mieć grupę COOH (nie C=O), na co wskazuje różnica mas i kompozycji DP/MRP (tabela str. 26).

Ocena końcowa

Biorąc pod uwagę fakt, że w literaturze brak jest doniesień w zakresie radiosterylizacji analizowanych karbapenemów, uzyskane przez Doktorantkę wyniki należy uznać za znaczną nowość naukową i niewątpliwie jej osiągnięcie badawcze. Autorka wykazała umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, posługiwania się nowoczesną metodyką analityczną i przedstawiła dysertację prezentującą wysoki poziom merytoryczny.

Rozprawa doktorska mgr Karoliny Kilińskiej, przygotowana pod kierunkiem Pana dr hab. Przemysława Zalewskiego w Katedrze i Zakładzie Farmakognozji Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu stanowi oryginalne rozwiązanie problemu badawczego i w pełni spełnia wymagania ustawowe i zwyczajowe stawiane rozprawom doktorskim.

A zatem przedstawiam uprzejmie Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu wnioszek o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Kilińskiej do kolejnych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Równocześnie, ze względu na wysoki poziom rozprawy, oczywiste elementy nowości oraz opublikowanie wyników badań w uznanych czasopismach naukowych wnioskuję o jej wyróżnienie.

dr hab. n. farm. Dorota Kowalczyk