



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM

Kraków, 23 kwiecień 2020

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pani mgr farm. Karoliny Kilińskiej

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

wykonanej pod kierunkiem dr hab. Przemysława Zalewskiego
w Katedrze i Zakładzie Farmakognozji Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Rozwój przemysłu farmaceutycznego związany jest z wprowadzaniem nowych substancji leczniczych, a także z doskonaleniem jakości uzyskiwanych produktów. Bezpieczeństwo stosowania substancji leczniczej ściśle koreluje z odpowiednią czystością mikrobiologiczną, która osiągnana jest przez właściwy sposób sterylizacji. Wybór metody sterylizacji wymaga przeprowadzenia szeregu badań określających jej potencjalny wpływ zarówno na trwałość produktu leczniczego, jak i właściwości fizykochemiczne i farmakologiczne substancji aktywnej. Jedną z niskotemperaturowych metod sterylizacji labilnych substancji leczniczych jest sterylizacja radiacyjna. Istotnym wymaganiam stawianym substancjom leczniczym po poddaniu ich procesowi sterylizacji radiacyjnej, jest odpowiednia zawartość substancji czynnej oraz brak szkodliwych produktów radiolizy. Rozpad radiolityczny może zachodzić z różną intensywnością, zależną od rodzaju substancji, warunków procesu czy zastosowanego źródła promieniowania. Badania radiolityczne odgrywają niezmiernie istotną rolę w poszukiwaniu alternatywnych metod sterylizacji, zwłaszcza w przypadku substancji leczniczych wrażliwych na działanie podwyższonej temperatury czy wilgoci, w przypadku których nie jest możliwe przeprowadzenie sterylizacji termicznej.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr farm. Karoliny Kilińskiej wpisuje się w aktualny trend badań nad koniecznością zapewnienia bezwzględnej jałowości preparatów farmaceutycznych w celu uzyskania odpowiedniej jakości, skuteczności i bezpieczeństwa farmakoterapii. Doktorantka koncentruje się nad analizą indywidualnej reakcji cząsteczki



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM

substancji poddawanej procesowi sterylizacji promieniowaniem jonizującym, identyfikuje poziom radiostabilności do sterylizacji form stałych wybranych analogów karbapenemu oraz inhibitorów dehydropeptydazy, analizuje ich właściwości fizykochemiczne, a także potencjalne zmiany aktywności mikrobiologicznej.

Recenzowana dysertacja liczy łącznie 130 stron i stanowi spójny tematycznie cykl publikacji. Zawiera wykaz skrótów, spis treści, informacje na temat sylwetki naukowej Doktorantki, wykaz publikacji oraz właściwe publikacje wchodzące w skład dysertacji. W części teoretycznej Doktorantka zawarła wprowadzenie do podjętej tematyki badań, przybliżyła problem sterylności produktów farmaceutycznych, dostępne metody sterylizacji, w tym sterylizację radiacyjną, zwracając uwagę na jej potencjalne zalety i wady oraz przywołując obowiązujące normy. Przeprowadziła również krytyczną analizę dostępnej literatury w prezentowanej tematyce oraz omówiła grupę związków objętych planem badań. W kolejnej części wskazała cel pracy, opisała przedmiot badań i zastosowaną metodykę, zamieściła także komentarze do poszczególnych publikacji, wnioski oraz streszczenie w języku polskim i angielskim, spis literatury i oświadczenia współautorów odnośnie ich wkładu w powstanie poszczególnych publikacji, wymagane w przypadku rozpraw doktorskich przygotowanych w takiej formie.

Dysertacja została napisana w postaci komentarza do monotematycznego cyklu 5 publikacji oryginalnych, opublikowanych w latach 2018-2019 o łącznym współczynniku oddziaływania $IF = 7.461$, co odpowiada 225 punktom MNiSW. Publikacje ukazały się w prestiżowych czasopismach naukowych o międzynarodowym zasięgu tj. *Molecules* (2 artykuły) i *Acta Poloniae Pharmaceutica* (3 artykuły). Uzyskane w ramach przeprowadzonych badań wyniki zostały również zaprezentowane podczas międzynarodowych konferencji, w formie wystąpienia ustnego i prezentacji posterowej. Fakt opublikowania w międzynarodowych czasopismach naukowych oznacza, że zostały one poddane rzetelnej ocenie merytorycznej i stanowią istotny wkład w rozwój dyscypliny naukowej. Prezentowane artykuły są pracami wieloautorskimi, co jest wynikiem szerokiego zakresu i metodologii prowadzonych badań. Badania realizowane były we współpracy z Instytutem Chemii Techniki Jądrowej w Warszawie, Katedrą i Zakładem Chemii Leków Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, Instytutem Inżynierii Materiałowej Politechniki Poznańskiej, Instytutem Fizyki Molekularnej



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM

Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu, Centrum Zaawansowanych Technologii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu oraz Katedrą Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Wielośrodkowy sposób prowadzenia badań umożliwia komplementarny i rzetelny opis badanych procesów. Współpraca z tak licznymi ośrodkami zaangażowanymi w realizację projektu wskazuje na umiejętność współpracy Doktorantki, a szeroki zakres badań wymagał Jej dużego zaangażowania, determinacji i znajomości różnych technik badawczych. Uzyskane wyniki wykazują duży potencjał aplikacyjny, dostarczają wskazówek dotyczących sposobu sterylizacji produktu leczniczego, wskazują czynniki, które należy uwzględnić w aspekcie zapewnienia trwałości i zachowania aktywności przeciwbakteryjnej.

Głównym celem pracy doktorskiej Pani mgr Karoliny Kilińskiej była kompleksowa ocena wpływu promieniowania jonizującego, wytwarzanego przez liniowy akcelerator wysokoenergetycznych elektronów, do uzyskania jałowych preparatów karbapenemów i inhibitorów dehydropeptydazy w fazie stałej wraz z oceną trwałości fizykochemicznej substancji objętych planem badań. Cel pracy został zarysowany bardzo ambitnie, a zaplanowane badania wymagały kompetencji Doktorantki, zaangażowania szerokiego spektrum metod badawczych i wsparcia specjalistów reprezentujących różne obszary nauki. Zarówno tak sformułowany cel, jak i zakres badań uważam za godny uznania. Problematyka podjętych badań wpisuje się w aktualne, światowe trendy badawcze. Plan pracy został skonstruowany poprawnie. Główna koncepcja badawcza obejmowała ocenę wpływu promieniowania jonizującego na stężenie powstających wolnych rodników, czasu ich życia oraz wygaszania w badanych substancjach. Ponadto analizowano wpływ sterylizacji radiacyjnej na stabilność substancji i powstawanie produktów rozkładu; badania obejmowały identyfikację i określenie mechanizmu zachodzących procesów, określenie zmian organoleptycznych w badanych preparatach po napromieniowaniu oraz ocenę wpływu promieniowania na aktywność przeciwbakteryjną wybranych karbapenemów.

Planem badań objęto antybiotyki β -laktamowe z grupy karbapenemów tj. imiprenem, doripenem, ertapenem, meropenem oraz inhibitory dehydropeptydazy tj. cilastatyna i betamipron, które w leczeniu klinicznym stosowane są jako składnik protekcyjny dla wymienionych antybiotyków.



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI COLLEGIUM MEDICUM

W pierwszym etapie badań wybrane substancje poddano promieniowaniu radiacyjnemu w liniowym akceleratorze elektronów, w różnych dawkach (w standardowej dawce wyjawiającej dla preparatów farmaceutycznych oraz wyższych dawkami w celu zintensyfikowania potencjalnych zmian). W kolejnym etapie przeprowadzono ocenę organoleptyczną (postać, zabarwienie, zapach). Do oceny procesu radiodegradacji wykorzystano metody bezpośrednie: spektrometrii elektronowego rezonansu magnetycznego (EPR), spektroskopii w podczerwieni (FT-IR), spektroskopii Ramana, skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) i proszkowej dyfraktometrii rentgenowskiej (XRPD) oraz pośrednie: spektrofotometrię w nadfiolecie i metody chromatograficzne (HPLC-MS/MS). Następnie, w celu określenia aktywności przeciwbakteryjnej ustalono wartości MIC dla każdego szczepu referencyjnego z American Type Culture Collection i izolatów klinicznych.

Na podstawie zrealizowanych badań przedstawionych w rozprawie doktorskiej Pani mgr Karolina Kilińska sformułowała sześć głównych wniosków, będących jednoznaczną odpowiedzią na postawione cele pracy, z których, w mojej opinii, najistotniejszymi są:

- „promieniowanie jonizujące w rekomendowanej standardowej dawce sterylizacyjnej 25K Gy, nie wpłynęło na właściwości fizykochemiczne i aktywność mikrobiologiczną karbapenemów, takich jak doripenem, meropenem i ertapenem”
- „z pięciu badanych substancji/preparatów tylko imipenem z cilastatyną nie może być wyjąławiany za pomocą sterylizacji radiacyjnej”
- „doripenem, meropenem, ertapenem i betamipron z uwagi na wykazaną radiostabilność mogą być skutecznie i bezpiecznie wyjąławiane za pomocą sterylizacji radiacyjnej z użyciem wiązki wysokoenergetycznych elektronów z akceleratora”.

Otrzymane w wyniku przeprowadzonych analiz nowe, istotne dane stanowią oryginalne osiągnięcie Doktorantki w prezentowanej tematyce badawczej. Jakość zaplanowanych i zrealizowanych prac koncepcyjnych i wykonanych eksperymentów zasługuje na szczególne wyróżnienie. Prace doświadczalne zostały przeprowadzone starannie i właściwie przedstawione.

Pragnę podkreślić, że przedstawiona do oceny praca jest przykładem dobrze zaplanowanych badań naukowych, których poziom oceniam bardzo wysoko. Podjęta tematyka jest niezwykle



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM

aktualna, bowiem pomimo dostępnych wyników dotyczących problematyki jałowości substancji farmaceutycznej, nadal brakuje danych literaturowych w tematyce oceny przydatności wiązki wysokoenergetycznych elektronów jako źródła promieniowania w procesie sterylizacji stałych form substancji leczniczej (antybiotyków z grupy karbapenemów i inhibitorów dehydropeptydazy). Przeprowadzona analiza uzyskanych danych analitycznych i mikrobiologicznych wraz z oceną właściwości fizykochemicznych substancji objętych planem badań w znaczący sposób poszerza dotychczasową wiedzę na temat zmian strukturalnych wybranych karbapenemów i inhibitorów dehydrogenazy zachodzących pod wpływem promieniowania radiacyjnego oraz skutków, jakie niosą one ze sobą w działaniu farmakologicznym. Uzyskana wiedza może zostać zastosowana w sposób aplikacyjny do wytwarzania suchych form jałowych produktów leczniczych w przemyśle farmaceutycznym, szczególnie w aspekcie jakości, bezpieczeństwa i skuteczności stosowania. Uważam, że przedstawiona do oceny praca odpowiada warunkom stawianym tego typu opracowaniom na stopień doktora nauk farmaceutycznych. Tym samym wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr farm. Karoliny Kilińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na aktualność tematyki badawczej, wysoki poziom prowadzonych badań, wartość uzyskanych wyników ze względów poznawczych i aplikacyjnych, znakomite opracowanie rozprawy doktorskiej oraz opublikowanie zawartych w niej wyników w uznanych czasopismach naukowych wnoszę o jej wyróżnienie.

Katedra Chemii Nieorganicznej
i Analitycznej CM
Monika Dąbrowska
dr hab. Monika Dąbrowska
adiunkt

Dr hab. n. farm. Monika Dąbrowska