

**Recenzja****rozprawy doktorskiej mgr farm. Katarzyny Olechno**

pt. *„Ocena możliwości sporządzania orodispersyjnych postaci leku z fumaranem rupertadyny jako modelową substancją gorzką”*

wykonanej w Zakładzie Farmacji Stosowanej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierunkiem promotora prof. dr hab. n. farm. Katarzyny Winnickiej

Znaczenie problematyki podjętej w rozprawie

Pani mgr Katarzyna Olechno poświęciła swoją pracę doktorską opracowaniu nowoczesnych postaci leku rozpadających się w jamie ustnej, które nie wymagają umiejętności połykania w formie stałej, ponieważ ze śliną szybko tworzą roztwór lub zawiesinę i w tej formie bezproblemowo są połykane przez pacjenta. Stanowi to alternatywę dla form płynnych i znajduje zastosowanie w pediatrii, a także u osób dorosłych. Takie formy są aktualnie szeroko rozwijane, głównie w formie tabletek rozpadających się w jamie ustnej. Pani mgr K. Olechno wybrała jako formy rozpadające się w jamie ustnej minitabletki (tabletki o średnicy 3 mm) oraz lamelki (filmy polimerowe). Niewątpliwie obie te formy stanowią przedmiot zainteresowania przemysłu farmaceutycznego, chociaż tylko nieliczne firmy wytwarzają produkty lecznicze w postaci lamelki, a według zebranych przez Doktorantkę informacji i mojej wiedzy nie ma jeszcze wprowadzonego do obrotu leku w formie minitabletek rozpadających się w jamie ustnej, a technologia minitabletek dopiero rozwija się.

Formy rozpadające się w jamie ustnej tworzone są w celu zwiększenia akceptacji leku przez pacjenta. Nie będzie to jednak możliwe, jeżeli nie będzie spełniony warunek akceptowalności smaku. Niestety w tych formach, w odróżnieniu do tabletek lub kapsułek, maskowanie nieprzyjemnego smaku substancji czynnej to podstawowy problem w ich rozwoju. Z dużym uznaniem przyjmuję więc postawiony główny cel pracy: otrzymanie form rozpadających się w jamie ustnej z fumaranem rupertadyny, substancją leczniczą o gorzkim smaku, który jest maskowany poprzez inkorporowanie leku w mikrocząstkach polimerowych. Nierozpuszczalna w wodzie etyloceluloza użyta w celu tworzenia takich mikrocząstek jest materiałem stosunkowo oczywistym, lecz Doktorantka wykazała, że proces otrzymywania mikrocząstek metodą suszenia rozpyłowego wymaga pracochłonnych badań rozwojowych, a także wybór rodzaju surowca, handlowego materiału etylocelulozy, jest nieoczywisty.

Na podkreślenie zasługuje też wybór do badań fumaranu rupertadyny – nowoczesnego leku przeciwhistaminowego. Nie zawsze w naukowych badaniach technologicznych sięgamy do nowych substancji czynnych, co wynika z ich małej dostępności. Ponieważ jest celowe zastosowanie tej substancji leczniczej w proponowanych formach, w szczególności w pediatrii, nie było potrzeby zaznaczenia w tytule pracy, że jest to substancja modelowa, co sugeruje, że praca ma raczej charakter „proof of concept” a nie dotyczy badań nad rozwojem nowego produktu, co moim zdaniem jest uzasadnione zakresem pracy i właśnie wyborem substancji czynnej.

Struktura rozprawy

Na rozprawę doktorską Pani mgr K. Olechno składa się 6 opublikowanych prac anglojęzycznych. 3 prace oryginalne opublikowane zostały w czasopismach „open access”: Polymers (w roku 2019) oraz Materials (2020, 2022). Prace obejmują praktycznie całość materiału eksperymentalnego i zostały omówione w autoreferacie zawartym w 3 rozdziale (*Cel pracy z uzasadnieniem podjętej tematyki badawczej będący odniesieniem do publikacji stanowiących rozprawę doktorską – 3 strony*), 4 rozdziale (*Opis zrealizowanych celów naukowych – 12 stron*) i 5 rozdziale (*Wnioski*) rozprawy. Opublikowane prace przeglądowe są powiązane tematycznie – dotyczą metod badania jakości lamelek (Acta Pharmaceutica, 2019), polimerów stosowanych w matrycach lamelek (Materials, 2021) oraz etylocelulozy jako substancji pomocniczej (Materials, 2019). Ponadto Doktorantka ten ostatni temat opisała również w polskiej pracy (Farmacja Polska, 2022). We wszystkich powyższych publikacjach Pani K. Olechno (panieńskie nazwisko K. Wasilewska) jest pierwszym autorem i oświadczenia współautorów potwierdzają jej co najmniej 65% wkład w przygotowanie publikacji. Tematycznie powiązany jest jeszcze rozdział w wydawnictwie zwanym pt. Nauka i przemysł pod red. Z. Hubickiego (Uniwersytet M. Curie-Skłodowskiej w Lublinie, 2020), dotyczący przygotowania matrycy potencjometrycznej do badania smaku rupaładyny in vitro.

Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) powyższych publikacji wynosi 18,7 (700 pkt. MEiN). Prace przeglądowe były już kilkadziesiąt razy cytowane.

Dobór metod badawczych

Przeprowadzone doświadczenia zostały zaplanowane prawidłowo i zastosowane zostały właściwe metody badawcze. O dobrym przygotowaniu Doktorantki do realizacji części doświadczalnej pracy świadczą prace przeglądowe jej autorstwa poświęcone zarówno technologii opracowanej postaci leku (lamelki) jak i stosowanym surowcom (etyloceluloza i hypromeloza) oraz metodom (badania jakości lamelek). Część doświadczeń była realizowana we współpracy międzyuczelnianej i międzynarodowej, co zasługuje na wysoką ocenę. Wspólne badania zostały wykonane z naukowcami z Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, z Politechniki Warszawskiej, Uniwersytetu im. M. Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Uniwersytetu w Białymstoku oraz Uniwersytetu w Ljublanie. Doktorantka odbyła staże naukowe w tych placówkach.

Procesy technologiczne wykorzystane w pracy to wespółsumienie rozpyłowe substancji czynnej z dyspersjami lub roztworami etylocelulozy, tabletkowanie mikrocząstek z substancjami pomocniczymi oraz wytwarzanie lamelek z zawiesiny mikrocząstek w roztworach hypromelozy (metoda odparowywania rozpuszczalnika). Powiązane z tymi metodami testy obejmowały ocenę jakości mikrocząstek, mas tabletkowych, minitabletek, mas do tworzenia lamelek i wytworzonych lamelek. Użyto metod analizy fizykochemicznej zalecanych do takiej oceny. Prowadzone były m.in. badania mikroskopowe (mikroskop elektronowy), analizy HPLC i spektrofotometryczne, pomiary lepkości i właściwości mechanicznych, analizy DSC.

Jako badania niezbędne i charakterystyczne dla opracowanych form rozpadających się w jamie ustnej wykonane zostały badania czasu rozpadu minitabletek i lamelek oraz badania skuteczności maskowania smaku. Oba typy badań nie są proste, lecz Doktorantka wykonała je prawidłowo. Badanie czasu rozpadu nie jest badaniem farmakopealnym, ale wybrane zostały prawidłowe modele doświadczalne, opisane już w literaturze. Badanie smaku zostało wykonane zarówno w modelu in vitro jak i na ludziach (po uzyskaniu zgody właściwej Komisji Bioetycznej). Badanie smaku in vitro możliwe było dzięki współpracy z doświadczonymi naukowcami z Politechniki Warszawskiej, specjalizującymi się w konstruowaniu odpowiednich elektrod pomiarowych.

W części opisowej rozprawy dodano fragment na temat pierwszych prób sporządzania lametek z użyciem metody elektroprzędzenia. Przedstawione wyniki nie są jednoznaczne i nie jest jasne, czy wykorzystywano w tych badaniach mikrocząstki (przędzeniu poddawano roztwór a nie zawiesinę). W odniesieniu do tematu pracy nie widzę uzasadnienia wprowadzenia tych informacji, jeżeli dotyczą tylko otrzymania lametek bez mikrocząstek z rupaładyną.

Literatura tematu

Prace przeglądowe zostały przygotowane przez Doktorantkę na podstawie bogatej literatury tematu. Nawet prace eksperymentalne przywołują wiele pozycji literaturowych w odniesieniach. Doktorantka zapoznała się dokładnie z licznymi publikacjami i dobrze je wykorzystwała w projektowaniu eksperymentów oraz w dyskusji. Pomimo że doceniam ten etap pracy, i zauważam duże cytowanie tych publikacji, to jednak przy tej okazji chciałabym zwrócić uwagę na fakt, że przygotowane prace przeglądowe nie są dostatecznie syntetyczne i przejrzyste. Stanowią streszczenia publikacji, lecz nie mają cech pracy pogładowej, co powinno być możliwe, szczególnie w przypadku publikacji tworzonych we współpracy Doktorantki z bardziej doświadczonymi naukowcami. Wiele przekazywanych treści jest bardzo szczegółowych, ale nie dających właściwego obrazu problemów i wniosków służących technologom. Czytelnik tych prac musi dodatkowo wykonać samodzielnie zestawienie przekazywanych istotnych treści. Jako przykład podam pracę przeglądową pt. *Success depends on your backbone*, dotyczącą materiałów stosowanych przy wytwarzaniu lametek. Tabele z właściwościami różnych pochodnych celulozy albo ze składami ODF nie przedstawiają analizy porównawczej ich właściwości, a tylko charakteryzują każdą z tych pochodnych/każdy z ODF oddzielnie, podając losowo informacje. Nie wiadomo jaki jest cel przedstawiania obrazów mikroskopowych surowców, jeżeli polimery do tworzenia lametek stosowane są w formie roztworu, a niejasne podpisy pod rycinami nie pozwalają właściwie identyfikować obrazów i substancji czynnej w prezentowanym ODF. Nie jest też skomentowane użycie omawianych polimerów w przedstawionych tabelarycznie produktach leczniczych w postaci lametek. Błędem jest faktycznie klasyfikacja polimeru Eudragit L jako polimeru hydrofobowego. Ma on zastosowanie w lamelkach z tego powodu, że w obojętnym pH (>5,5) jamy ustnej ulega rozpuszczeniu, a więc w tym środowisku ma charakter hydrofilowy. Ostatecznie więc cała publikacja dotyczy polimerów hydrofilowych i nie powinna wprowadzać czytelnika w błąd, że jako matryce lametek rozpadających się w jamie ustnej stosowane są polimery hydrofobowe.

Osiągnięcia w temacie badawczym

W rozdziale 5 rozprawy Doktorantka przedstawia z przeprowadzonych badań 5 wniosków, które są wyciągnięte prawidłowo, chociaż moim zdaniem nie wyczerpują dostatecznie osiągnięć badawczych. Uważam, że przeprowadzone badania, oprócz potwierdzenia łatwiejszych do przewidzenia skutków i zależności dostarczają kilku bardzo istotnych wyników:

- Przy odpowiednio dobranych parametrach procesowych, w oparciu o założenia modelu DoE (Design of experiments), oraz z użyciem handlowej dyspersji etylocelulozy wytworzone zostały metodą suszenia rozpyłowego mikrocząstki o średniej wielkości 1-5 μm skutecznie maskujące gorzki smak fumaranu rupaładyny. Wskazane zostały różnice pomiędzy użytymi w procesie dyspersjami wodnymi etylocelulozy i nieprzydatność roztworu polimeru w rozpuszczalniku organicznym.
- Należy podkreślić, że mikrocząstki o zadowalających właściwościach maskowania smaku zawierały niestety dużą frakcję polimeru – 2 razy większą masowo niż ilość substancji leczniczej, a użycie etylocelulozy w proporcji masowej z lekiem 1:1 nie dawało pożądanego efektu.

- Otrzymane mikrocząstki mogły być łatwo tabletkowane w skali laboratoryjnej w formie minitabletek, bez naruszania ich integralności, co udowodniono w badaniach smaku.
- Uzyskano wizualnie homogenne lamelki wprowadzając mikrocząstki do matrycy złożonej z hypromelozy z glicerolem (grubość 130 μm). Pomimo obecności mikrocząstek odczucia organoleptyczne ochotników w badaniu smaku nie wskazywały na nadmierną chropowatość powierzchni.
- Zaproponowano model *in vitro* do badania smaku rupatadyny z uwzględnieniem doboru elektrod i walidacją tego badania w obecności zastosowanych substancji pomocniczych.
- Ponieważ w przypadku zastosowanej substancji leczniczej poważny był problem maskowania smaku, uważam jego rozwiązanie za najistotniejsze osiągnięcie pracy. Niestety Doktorantka nie zbadała jak mikrocząstki sporządzone z etylocelulozy będą wpływać na ważny parametr postaci leku – szybkość uwalniania substancji czynnej. Brak jest w rozprawie całkowitego profilu uwalniania rupatadyny, a badanie uwalniania zostało przeprowadzone tylko w celu korelacji z wynikami badania odpowiedzi elektrod w teście potencjometrycznej oceny smaku.

Uwagi i pytania

Poza powyższą istotną uwagą chciałabym przedstawić Doktorantce dalsze pytania i uwagi, prosząc o ustosunkowanie się w trakcie obrony pracy doktorskiej:

- Autorka nie ustrzegła się nieprawidłowej terminologii. Za najbardziej rażące uważam słowotwórstwo obecne w tytule pracy doktorskiej. Zgodnie z nazewnictwem polskim obowiązującym w Farmakopei Polskiej i w oficjalnym europejskim dokumencie „Standard terms” właściwy jest termin „postać rozpadająca się w jamie ustnej” a nie „postać orodispersyjna”.
- Słowo „biokompatybilny” posiada lepszy odpowiednik w języku polskim, tzn. „biozgodny” i niewłaściwy jest termin „potencjalna możliwość”. Poza tym praca jest napisana z dużą dbałością o poprawność stylistyczną i praktycznie brak jest błędów literowych. W publikacjach angielskich zwracam uwagę na nieprawidłowe użycie słowa „durability” zamiast „stability”.
- Nie znalazłam w rozprawie wyczerpującej informacji na temat dawkowania rupatadyny i aktualnie dopuszczonych do obrotu w Polsce i w Europie produktów leczniczych z fumaranem rupatadyny. Tymczasem obok tabletek dostępny jest pediatryczny roztwór doustny Rupafin i Doktorantka powinna ustalić jak w tym produkcie został rozwiązany problem gorzkiego smaku.
- Jaka była zawartość % rupatadyny w mikrocząstkach? Czy stosunek 0,5:1 dotyczył etylocelulozy czy suchej masy dyspersji Aquacoat lub Surelease? Według tabeli 1 (praca nr 2) w minitabletce o masie 14 mg był 1 mg mikrocząstek, co przy stosunku polimeru i substancji leczniczej 2:1 nie oznacza dawki 0,5 mg.
- Jaki był rozrzut wielkości otrzymanych mikrocząstek – czy słusznie podejrzewam, że w tabeli 4 (praca nr 1) podano jedynie odchylenia dla średnich wielkości a nie rozrzuty w rozkładzie wielkości cząstek? Obrazy mikroskopowe raczej o tym świadczą.
- Jaka może być struktura mikrocząstek otrzymywanych z różnymi preparatami etylocelulozy? Dlaczego zastosowanie roztworu organicznego etylocelulozy skutkowało brakiem skutecznego maskowania smaku i bardzo szybkim uwalnianiem substancji czynnej? Czy nie warto było spróbować właśnie tej formułacji jako dającej możliwość maskowania smaku w minitabletce i w lamelce, bez spowalniania uwalniania substancji czynnej?
- Nie została oceniona jednolitość dawkowania w lamelkach, co jest wymagane przy tak małej dawce substancji czynnej i to wymaganie szczególnie może być trudne do spełnienia przy stosowaniu formy zawiesiny mikrocząstek (zawartość mikrocząstek 2,7%).
- Dlaczego najkorzystniejsze było użycie w minitabletkach preparatu Pearlitol Flesh, w którym nie została zidentyfikowana przez Doktorantkę substancja rozsadzająca (str. 25, rozdział 4)?
- Jak Doktorantka ocenia przydatność metody DSC do oceny preparatów farmaceutycznych z tak małą zawartością substancji czynnej (<5%)?

Inne osiągnięcia Doktoranta

Szkoda, że dziekanaty z zasady nie przesyłają recenzentom życiorysu Kandydata do stopnia doktora, co mogłoby pomóc jeszcze lepiej ocenić sylwetkę zawodową. W przesłanej dokumentacji brakuje na przykład informacji o dacie rozpoczęcia pracy naukowej, o uczestnictwie w studiach doktoranckich, zaangażowaniu dydaktycznym lub o urlopach długoterminowych.

W rozdziale 14 rozprawy zawarty został spis aktywności naukowych Doktorantki, w tym aktywności publikacyjnej w zakresie prac popularno-naukowych.

Dodatkową aktywność naukową, polegającą na współpracy poza tematem doktoratu oceniam bardzo wysoko. Dotyczy to 3 publikacji anglojęzycznych współautorstwa Pani Magister, o tematyce technologicznej, które ukazały się w czasopismach o sumarycznym IF 10,5. Doktorantka jest pierwszym autorem 15 artykułów o tematyce zawodowej (cykl w czasopiśmie Recepta.PL). Wyniki prac badawczych prezentowała na konferencjach krajowych i 3 konferencjach zagranicznych.

Pani Magister zdobyła doświadczenie naukowe odbywając dwukrotnie staż naukowy w czasie 10-dniowych pobytów na Uniwersytecie Ljublanie na Słowenii oraz uczestniczyła w szkoleniu zagranicznym na temat powlekania. Zdobywała finansowanie na projekt badawczy w ramach konkursów wewnątrzuczelnianych. Była wykonawcą zadań w projektach finansowanych z programu Inkubator innowacyjności oraz ze środków Fundacji Technotalenty. Jest współtwórcą wniosku wynalazczego dotyczącego minitabletek z hydrokortyzonem rozpadających się w jamie ustnej.

Podsumowanie

Oceniając rozprawę Pani mgr farm. Katarzyny Olechno mam obowiązek odnieść się do spełniania warunków określonych w art. 13 obowiązującej *Ustawy o stopniach i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki*. Stwierdzam, że:

1. praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego – jest opracowaniem dotyczącym trudnego tematu maskowania smaku i tworzenia form ułatwiających przyjmowanie leku przez pacjentów pediatrycznych; cel pracy został osiągnięty i badania technologiczne zostały wsparte badaniami dającymi podstawy naukowe do interpretacji uzyskanych wyników i obserwowanych zjawisk

2. praca wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie: Doktorantka przyswoiła obszerną wiedzę z dziedziny nauk farmaceutycznych - z zakresu technologii stałych postaci leku, ich analizy fizykochemicznej, w tym analizy sensorycznej smaku; najlepiej o tym efekcie pracy świadczą przygotowane trzy obszerne prace przeglądowe opublikowane w czasopismach zagranicznych

3. rozprawa wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej – świadczy o tym zakres przeprowadzonych, uzupełniających się, badań: technologicznych i fizykochemicznych, oraz sposób przedstawienia wyników z ich prawidłową interpretacją.

W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z prośbą o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Olechno do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej, biorąc pod uwagę fakt, że wszystkie wyniki zostały upublicznione w postaci wyczerpujących wartościowych publikacji w czasopismach zagranicznych i zostały przygotowane trzy obszerne publikacje przeglądowe związane z tematem rozprawy, a Doktorantka była pierwszym autorem wszystkich tych publikacji,

Gdańsk 18.06.2022

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Farmacji Stosowanej
prof. dr hab. n. farm. Małgorzata Szmitowska