

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry AMELIAN  
***Projektowanie i ocena jakości postaci leku rozpadających się w jamie ustnej  
z modelowymi substancjami przeciwhistaminowymi***

W ostatnich dziesięcioleciach prace rozwojowe prowadzone w działach R&D firm farmaceutycznych a także w laboratoriach jednostek naukowych nie ograniczają się jedynie do poszukiwania nowych substancji leczniczych i nowych zastosowań dla dotychczas znanych leków, ale coraz częściej dotyczą opracowania nowych form leków i sposobów ich aplikacji.

Spośród wielu możliwych dróg podania (FDA wyróżnia ich ok. 200), ciągle preferowaną przez pacjentów pozostaje droga doustna, a tabletki i kapsułki niezmiennie są postaciami leku najchętniej akceptowanymi przez pacjentów. Pomimo wielu zalet obu wymienionych form, ich połykanie może sprawiać trudność, szczególnie w przypadku pacjentów pediatrycznych i geriatrycznych, a także stanowić problem w leczeniu wielu schorzeń psychicznych. Stąd też niezwykle cenną alternatywą okazało się wprowadzenie na rynek farmaceutyczny nowych form doustnych leku, do których należą opisane w Farmakopei: tabletki ulegające rozpadowi w jamie ustnej (ODT), liofilizaty doustne oraz lamelki rozpadające się w jamie ustnej. Pomimo, że od zarejestrowania pierwszych tabletek ODT minęło przeszło dwadzieścia lat to opracowanie receptury i technologii wytwarzania zarówno nowych jak i generycznych produktów leczniczych charakteryzujących się czasem rozpadu nie przekraczającym 30s, odpowiednią wytrzymałością oraz akceptowanym przez pacjentów smakiem ciągle stanowi wyzwanie. Biorąc pod uwagę systematyczny wzrost: liczby pacjentów w wieku podeszłym, liczby przypadków alergii wśród dzieci i dorosłych a także liczby pacjentów, cierpiących na choroby przewlekłe rozwój badań prowadzących do wprowadzenia na rynek nowych szybko rozpadających się postaci wielu substancji aktywnych, jest nie tylko uzasadnione, ale wręcz konieczne. Stąd też podjęcie przez Doktorantkę ujętych w celu pracy badań nad opracowaniem i oceną jakości 3 typów stałych postaci leku szybko rozpadających się w jamie ustnej (tabletki, liofilizaty i lamelki), a także zastosowaniem mikrocząstek jako sposobu zamaskowania nieakceptowalnego smaku substancji leczniczej wydaje się być trafne i w pełni uzasadnione. Na uwagę zasługuje również wybór modelowych substancji leczniczych, tj. loratydyny i dichlorowodorku cetyryzyny. Obie substancje wykazują działanie przeciwhistaminowe, należą do II generacji selektywnych antagonistów receptora histaminowego H<sub>1</sub>, ale co jest bardzo istotne z technologicznego punktu widzenia różnią się rozpuszczalnością w wodzie oraz smakiem. Loratydyna, w przeciwieństwie do dichlorowodorku cetyryzyny jest praktycznie nierozpuszczalna w wodzie. Z kolei dichlorowodorek cetyryzyny charakteryzuje się gorzkim smakiem, co skutkuje koniecznością uwzględnienia jego maskowania podczas projektowania postaci szybko rozpadających się.

Przedstawiona do recenzji rozprawa jest owocem prac eksperymentalnych przeprowadzonych przez mgr Aleksandrę AMILIAN w Zakładzie Farmacji Stosowanej Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Wykonana została pod kierunkiem i opieką naukową dr hab. n. farm. Katarzyny WINNICKIEJ, cenionego specjalisty z zakresu technologii farmaceutycznej.

Z możliwości przewidzianych w art. 13 ust. 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (wraz z późniejszymi zmianami) jako formę rozprawy doktorskiej wybrano *spójny tematycznie zbiór artykułów opublikowanych lub przyjętych do druku w czasopismach naukowych, określonych przez ministra właściwego do spraw nauki*, czyli znajdujących się na liście A Wykazu czasopism naukowych Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 9 grudnia 2016.

Tak więc opiniowana rozprawa ma formę spójnego tematycznie zbioru czterech artykułów oryginalnych i jednego przeglądowego, opublikowanych (4) lub przyjętych do druku (1). Jak można wnioskować z informacji zawartych w rozprawie, przeprowadzone badania były finansowane w zdecydowanej większości ze środków Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku w ramach projektów badawczych statutowych, których głównym wykonawcą była Doktorantka.

Wszystkie prace stanowiące trzon rozprawy zostały opublikowane w czasopismach o cyrkulacji międzynarodowej, tj. w *Acta Poloniae Pharmaceutica* (2 publikacje zawarte w rozdz. 3.1 i 3.2), *Acta Pharmaceutica* (publikacja 1 zawarta w rozdz. 3.3), *Saudi Pharmaceutical Journal* (publikacja 2 zawarta w rozdz. 3.3) oraz *Polimery* (1 publikacja przeglądowa zawarta w rozdz. 3.4). Łączny IF publikacji oryginalnych wynosi 5,080, a publikacja przeglądowa posiada IF równy 0,778.

Publikacje firmowane są przez dwóch (1 publikacja przeglądowa, rozdz. 3.4), trzech (1 publikacja oryginalna, rozdz. 3.2) oraz pięciu współautorów (3 publikacje oryginalne, zawarte w rozdz. 3.1 i 3.3). Pierwszym współautorem każdej z prac jest Doktorantka, a w pracy przeglądowej występuje ona również w roli autora korespondencyjnego. Świadczy to z pewnością o Jej wiodącej roli w powstaniu każdej z przedstawionych publikacji. W przypadku prac doświadczalnych jako autor korespondencyjny wskazana jest Promotor rozprawy. Należy zatem sądzić, że w tworzeniu prac oryginalnych rola Promotora polegała na zagwarantowaniu odpowiedniego poziomu naukowego, zarówno zrealizowanych badań jak i manuskryptów prac wysłanych do redakcji czasopism. Z oświadczeń współautorów, jednoznacznie wynika, że w wymiarze matematycznym, wszyscy oni uznali, iż indywidualny udział mgr Aleksandry AMELIAN w powstaniu każdej z publikacji wyniósł 60%. Niestety, z treści oświadczeń Promotor pracy, w odniesieniu do prac oryginalnych zamieszczonych w rozdz. 3.1-3.3 nie wynika jednoznacznie, czy Jej udział w przygotowaniu każdej z publikacji polegał m.in. na *pomocy w planowaniu eksperymentów*, *pomocy w interpretacji wyników badań* oraz *pomocy w wyciąganiu wniosków*, czy też pomoc ograniczała się jedynie do etapu planowania eksperymentów, natomiast interpretacja wyników oraz wyciąganie wniosków było jedynie udziałem Promotora. Niezależnie od tego, które ze stwierdzeń jest prawdziwe to i tak z wnikliwej analizy treści oświadczeń i publikacji oraz pozostałych części dysertacji

jednoznacznie wynika, że zakres prac eksperymentalnych wykonanych przez Doktorantkę jak i Jej udział w redagowaniu manuskryptów był dominujący.

Dyskusyjna wydaje się być treść oświadczenia współautorki publikacji przedstawionej w rozdziale 3.4. Wynika z niego, że pomagała ona w planowaniu eksperymentów, brała udział w interpretacji wyników oraz wyciągnięciu wniosków. Moim zdaniem jest to z pewnością przeoczenie lub chochlik drukarski, gdyż jak wskazuje treść samej publikacji i informacja zawarta w streszczeniu *W niniejszym artykule dokonano przeglądu polimerów oraz ich gotowych mieszanek, powszechnie używanych w celu zamaskowania smaku leku*, czyli rzeczona publikacja ma charakter przeglądowy. Autorki, opisując w publikacji wyniki badań własnych (z wyjątkiem, niepublikowanych zdjęć SEM przedstawionych na ryc. 1,2 i 6) powołują się na swoje już opublikowane prace doświadczalne i w związku z tym trudno jest mówić w przypadku tej publikacji o planowaniu eksperymentów czy interpretacji wyników.

Poza publikacjami, do których odniosę się w dalszej części recenzji, w skład rozprawy wchodzi również *Wstęp, Cel pracy, Opis przeprowadzonych badań, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie, Abstract, Bibliografia, Lista publikacji, Curriculum Vitae* oraz wspomniane wcześniej *Oświadczenia współautorów opublikowanych prac*. W rozdziale *Lista publikacji* znajduje się wykaz wszystkich publikacji i doniesień zjazdowych współautorstwa Doktorantki, w tym osobno lista publikacji stanowiących trzon rozprawy. Szkoda, że Autorka nie umieściła ponumerowanego spisu tych publikacji na początku dysertacji, gdyż ułatwiłoby to zarówno lekturę jak i odniesienie się do poszczególnych prac w niniejszej recenzji.

Rozdział zatytułowany *Wstęp* (3 strony maszynopisu) oraz krótkie (ok. dwustronicowe) wprowadzenia do publikacji stanowiących wspomniany trzon rozprawy, zawarte w rozdziale *Opis przeprowadzonych badań*, a także informacje przekazane w pracy przeglądowej (rozdz. 3.4) moim zdaniem, można uznać za części pracy odpowiadające tzw. Części teoretycznej w klasycznych dysertacjach. Stanowią one niezwykle zwarte i interesujące kompendium na temat receptury i technologii postaci leków szybko rozpadających się, aplikowanych *per os*, będące wynikiem analizy piśmiennictwa, w zdecydowanej większości pochodzącego z ostatnich dziesięciu lat. Na szczególną uwagę zasługuje artykuł *Polymers in pharmaceutical taste masking applications*, przedstawiony w rozdz. 3.4 rozprawy. Jego czytelnik może pozyskać lub pogłębić wiedzę m.in. na temat kryteriów wyboru metody maskowania smaku w zależności od właściwości fizykochemicznych substancji leczniczej a także na temat polimerów i ich gotowych mieszanin powszechnie stosowanych do maskowania nieakceptowalnego smaku.

Ostatnie, istotne rozdziały rozprawy stanowią *Dyskusja* i *Wnioski*. Autorka rozprawy w *Dyskusji* skupia się głównie na omówieniu przeprowadzonych badań własnych, a jedynie w przypadku badań dotyczących maskowania smaku z użyciem mikrocząstek odwołuje się do prac innych autorów. Moim zdaniem interesującym byłoby poszerzenie dyskusji o inne równie istotne fragmenty badań, np. dotyczące wyników doboru substancji rozsadzających (np. Kollidonu® CL-SF) w procesie otrzymywania tabletek rozpadających się w jamie ustnej z wybranymi mieszaninami wielofunkcjonalnymi - Ludiflash® i Parteck®.

Jak wcześniej wspomniano, obowiązująca Ustawa o stopniach i tytule naukowym dopuszcza przedstawienie spójnego tematycznie cyklu publikacji jako jednej z form pracy doktorskiej. Mając na uwadze, że poprawność merytoryczna eksperymentów, uzyskanych wyników i ich

interpretacji, przedstawionych w każdej z publikacji zawartych w rozdz. 3.1-3.3, została zweryfikowana przez niezależnych recenzentów w procesie *peer review*, w mojej ocenie dokonam jedynie analizy zawartości poszczególnych publikacji pod kątem ich spójności tematycznej.

Wnikliwa lektura prowadzi do wniosku, że cykl przedstawionych prac stanowi spójną całość zarówno w obszarze wyboru modelowych substancji aktywnych, tj. loratydyny i dichlorowodorku cetyryzyny (działanie przeciwhistaminowe obu substancji, różna rozpuszczalność i smak a także zasadność opracowania i być może docelowo wprowadzenia na rynek nowych postaci szybko rozpadających się w jamie ustnej) jak i zaprojektowanych postaci farmaceutycznych- tabletek ODT, liofilizatów i lamelek (postaci o czasie rozpadu nie przekraczającym 40s, kwalifikowane jako stałe postaci leku szybko rozpadające się w jamie ustnej). Każda kolejna publikacja zawarta w dysertacji (z wyjątkiem omówionej publikacji przeglądowej) stanowi logiczną kontynuację poprzedniej i dostarcza nowych informacji zarówno w kontekście technologicznym jak i w zakresie charakterystyki otrzymanych formulacji (tabletek ODT, liofilizatów i lamelek) obu substancji modelowych a także w przypadku dichlorowodorku cetyryzyny dodatkowo niezwykle cennych danych na temat możliwości wykorzystania polimerowych mikrocząstek jako skutecznego sposobu maskowania nieakceptowalnego smaku tej substancji leczniczej. W publikacji I (rozdz. 3.1) i w publikacji II (rozdz. 3.2) Doktorantka wraz ze współautorami przedstawiła wyniki badań nad opracowaniem składów oraz technologii wytwarzania trzech orodyspersyjnych postaci loratydyny. Stwierdzono, że:

- zastosowanie wielofunkcyjnych mieszanin (Parteck® i Ludiflash®) z 3% dodatkiem substancji rozsadzającej Kollidonu ®CL-SF lub Kollidonu ®CL-S prowadzi do uzyskania tabletek spełniających wymagania farmakopealne i charakteryzujących się czasem rozpadu nie przekraczającym 18s.,
- liofilizaty z loratydyną zawierające 0,5 i 1,0% żelatyny oraz 5 i 10% mannitolu charakteryzują się b. krótkim czasem rozpadu (<6s.) i spełniają wymagania odnośnie jednolitości zawartości substancji leczniczej oraz właściwości mechanicznych,
- lamelki zawierające w swym składzie hypromelozę (Pharmacoat®606) oraz glicerol posiadają akceptowalny smak i wykazują czas rozpadu <30s.

W kolejnych 2 publikacjach (rozdz. 3.3) autorzy przedstawili wyniki badań nad próbą opracowania skutecznej technologii maskowania smaku dichlorowodorku cetyryzyny poprzez wytworzenie (metodą suszenia rozpyłowego) mikrocząstek leku powlekanych Eudragitem ® E PO. Skuteczne zamaskowanie nieakceptowanego smaku wykazane w badaniach za pomocą wielokanałowego detektora smaku oraz w badaniach *in vivo* na zdrowych ochotnikach zaowocowało wytworzeniem tabletek ODT zawierających poza mikrocząsteczkami z lekiem, również w/w mieszaniny- Parteck® i Ludiflash® z 3% dodatkiem Kollicoat ®CL-SF oraz liofilizatów doustnych z mikrocząstkami oraz z żelatyną, mannitolem i wodorowęglanem sodu. Obie formulacje charakteryzowały się akceptowalnym smakiem. Niestety, w ramach prowadzonych badań nie udało się jedynie uzyskać oczekiwanej postaci lamelek z mikrocząstkami.

**Reasumując,** mogę z całym przekonaniem stwierdzić, że Doktorantka w zaprezentowanych publikacjach potwierdziła swoją znajomość zagadnień związanych z

przedmiotem badań oraz umiejętność prawidłowej interpretacji wyników, będących efektem przeprowadzonych eksperymentów. Na podkreślenie zasługuje fakt, że uzyskanie wielokierunkowych, wiarygodnych informacji na temat składu jakościowego i ilościowego oraz charakterystyki fizykochemicznej i mechanicznej opracowywanych postaci leku i mikrocząstek maskujących smak wymagało od Doktorantki m.in. pogłębienia wiedzy i umiejętności w zakresie wykorzystanych w pracy metod: wytwarzania tabletek ODT (tabletkowanie bezpośrednie), liofilizatów (suszenie sublimacyjne) oraz lamelek (metoda wylewania) a także mikrocząstek (suszenie rozpyłowe). Dodatkowo musiała Ona również opanować od podstaw lub pogłębić wiedzę i umiejętności w obszarze takich technik analitycznych takich jak: HPLC, różnicowa analiza termiczna (DSC), analiza porozymetryczna czy skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM). Dodatkowo, musiała również w praktyce zastosować wiele metod farmakopealnych wykorzystywanych w ocenie jakości rozwijanych formuacji a także zaznajomić się z metodami oceny skuteczności maskowania smaku w warunkach *in vivo* (z udziałem ochotników) i *in vitro* (z wykorzystaniem m.in. zaawansowanego sensora smaku, zwanego sztucznym językiem).

Do największych osiągnięć Doktorantki, przedstawionych w omawianych publikacjach moim zdaniem zaliczyć należy m.in.:

- uzyskanie wyników kompleksowych badań nad rozwojem nowych formuacji szybko rozpadających się w jamie ustnej, począwszy od zaprojektowania składu jakościowego i ilościowego opracowywanych tabletek, liofilizatów, lamelek oraz mikrocząstek maskujących smak a skończywszy na sensorycznych badaniach *in vivo* z udziałem ochotników oraz
- zaproponowanie skutecznej metody maskowania smaku trudno rozpuszczalnego dichlorowodoru cetyryzyny poprzez utworzenie powlekanych mikrocząstek na drodze suszenia rozpyłowego.

Mimo zdecydowanie pozytywnej oceny zarówno części publikacyjnej jak i „niepublikacyjnej” rozprawy, podczas lektury pracy nasunęły mi się pewne pytania i uwagi, na które z pewnością usłyszę odpowiedź podczas publicznej obrony, i tak:

- czy planując prace rozwojowe nie rozważano możliwości wykorzystania w badaniach coraz częściej stosowanej techniki DoE (*Design of Experiments*), tj. statystycznego projektowania doświadczeń zmierzających do wybrania składników opracowywanych formuacji?
- trudno zgodzić się ze stwierdzeniem ze str. 10, że w piśmiennictwie brak jest informacji na temat doboru substancji rozsadzających (np. Kollidonu® CL-SF) w procesie otrzymywania tabletek rozpadających się w jamie ustnej z wybranymi mieszaninami wielofunkcyjnymi - Ludiflash® i Parteck®.
- cytując źródła internetowe należy podać datę wejścia
- z informacji zawartej w *Acknowledgment* pracy opublikowanej w *Saudi Pharmaceutical Journal* wynika, że jedynym źródłem finansowania prezentowanych w niej badań był Diamentowy Grant D1 2012 0019 42. Czy to rzeczywiście prawda?
- moim zdaniem, podanie numerów/symboli w wykazie projektów badawczych realizowanych przez Doktorantkę (CV) ułatwiło by przyporządkowanie źródeł finansowania badań do treści poszczególnych publikacji.

Pragnę zwrócić uwagę, że pytania i wątpliwości przedstawione powyżej w żaden sposób nie umniejszają wysokiej wartości merytorycznej recenzowanej pracy. Uważam, że Doktorantka w pełni zrealizowała zaplanowany program badań a uzyskane przez nią wyniki zawierają elementy nowości, do których zaliczyć należy m.in. zaproponowanie składu i technologii oraz przedstawienie pełnej charakterystyki (wykraczającej poza wymagania farmakopealne) nowych szybko rozpadających się postaci doustnych, dwóch przeciwhistaminowych substancji leczniczych II generacji, oczekiwanych szczególnie przez pacjentów cierpiących na schorzenia alergiczne.

### **Podsumowanie**

W końcowej konkluzji pragnę wyrazić przekonanie, że wnikliwa analiza przedstawionej do oceny rozprawy wskazuje, iż stanowi ona samodzielne rozwiązanie problemu naukowego i świadczy o nabyciu przez Doktorantkę umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Tak więc rozprawa doktorska przygotowana przez mgr Aleksandrę AMELIAN spełnia warunki określone w artykule 13 obowiązującej Ustawy i może stanowić podstawę do ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora w *obszarze nauk farmaceutycznych*. W związku z tym wnoszę do Wysockiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Aleksandry AMELIAN do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie mając na uwadze fakt, że przedłożona do recenzji rozprawa moim zdaniem spełnia kryterium 1 oraz kryterium 2a *Regulaminu wyróżniania rozpraw doktorskich na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej* wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry AMELIAN.

### **Uzasadnienie propozycji wyróżnienia rozprawy**

1. Realizując założenia pracy mgr Aleksandra AMELIAN uzyskała szereg wyników istotnych nie tylko z poznawczego, ale przede wszystkim z praktycznego punktu widzenia. Określenie receptury oraz technologii wytwarzania nowoczesnych postaci leku, do których zaliczyć można zarówno tabletki ODT jak i liofilizaty i lamelki przeznaczone do podania drogą doustną a także opracowanie mikrocząstek maskujących skutecznie nieakceptowalny smak dichlorowodorku cetyryzyny oraz wszechstronna charakterystyka otrzymanych formułacji może otworzyć drogę do wejścia na rynek nowych lub generycznych szybko rozpadających się postaci loratydyny i dichlorowodorku cetyryzyny.
2. Godnym wyróżnienia jest również przygotowanie w ciągu zaledwie dwóch lat czterech prac oryginalnych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, o łącznym IF>5, szczególnie, że w każdej z prac mgr Aleksandra AMELIAN jest pierwszym współautorem.

  
Prof. dr hab. Janina LULEK