



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Kraków, 30.06 2022 r.

Ocena

rozprawy doktorskiej mgr farm. **Marty Czapiewskiej**
pt. „Opracowanie i ocena jakościowa lamelek doustnych z substancjami
przeciwhistaminowymi otrzymanych metodą druku przestrzennego”,
wykonanej w Katedrze Technologii Postaci Leku, Wydziału Farmaceutycznego
Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w
Bydgoszczy
pod kierunkiem i opieką naukową **prof. dr hab. Jerzego Krysińskiego** oraz
promotora pomocniczego **dr Piotra Biłskiego**

Wydział

Farmaceutyczny

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska, zgodnie z wytycznymi
przewidzianymi w art.187. ust.3. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie
wyższym i nauce*, została przygotowana w formie zwartej opracowania, monografii o
klasycznym układzie stron.

Katedra

Technologii

Postaci Leku

i Biofarmacji

Uzasadnienie problematyki badawczej

Projektowanie leków skoncentrowane na pacjencie (*patient-centric pharmaceutical product design*) to jeden z istotnych kierunków badawczych nowoczesnej technologii farmaceutycznej. Permanentny wzrost zainteresowania zwłaszcza problematyką leków pediatrycznych wynika z braku preparatów w odpowiedniej dawce i formie dostosowanej do drogi podania. Konieczność stosowania produktów leczniczych poza wskazaniami sprawia wiele trudności. Szczególną więc uwagę przypisuje się preparatom zapewniającym jak najmniej kłopotliwą aplikację, o zamaskowanym nieprzyjemnym smaku, w formie niesprawiającej trudności w polykaniu, w dawce dostosowanej do wieku pacjenta. Przykładem takiej postaci leku są filmy ulegające rozpadowi w jamie ustnej, przyjmowane bez konieczności popijania, w formie jedno- lub wielowarstwowego cienkiego płątka. Stosowanie tej postaci leku ma tę jeszcze zaletę, że eliminuje ryzyko wyplucia, ze względu na przywieranie do błony śluzowej jamy ustnej. Ostatnio obserwuje się intensywny rozwój tej postaci leku. Dostępne są w lecznictwie preparaty przeznaczone w terapii chorób OUN, sercowo-naczyniowego, pokarmowego, oddechowego. Sporządzane są przy użyciu różnych metod, m.in. wylewania z odparowaniem rozpuszczalnika, ekstruzji topliwej, przedzenia elektrostatycznego, druku 2D i 3D. Wybór metody zależy przede wszystkim od właściwości fizykochemicznych substancji leczniczej, proponowanej dawki oraz

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48(12) 62 05 600

fax: +48(12) 62 05 619

tpl@farmacja.cm-uj.krakow



PJ

właściwości polimeru stanowiącego matrycę. Jednym z kierunków kształtujących obecnie prace badawczo-rozwojowe jest projektowanie postaci leku z zastosowaniem metody druku przestrzennego. Zatwierdzony przez FDA i zarejestrowany w Stanach Zjednoczonych Ameryki pierwszy preparat Spritam® spowodował szczególny wzrost zainteresowania. Druk przestrzenny uznawany jest za nowatorską metodę sporządzania m.in.: tabletek, kapsulek, filmów ODF, implantów. Jest najdynamiczniej rozwijającym się kierunkiem badań. Formowanie przestrzenne postaci leku dla indywidualnego pacjenta następuje po uwzględnieniu podstawowych jego cech. Zaletą jest skalowalność projektowanych form, co umożliwia regulację zawartości substancji leczniczej w oparciu o ilość zużytego materiału już we wczesnym etapie, tj. projektowania leku. Metoda ta stanowi cenne uzupełnienie procesów technologicznych i stwarza perspektywę wytwarzania leków zarówno w skali przemysłowej, jak i w warunkach aptecznych, zwłaszcza w aptekach szpitalnych.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr farm. Marty Czapiewskiej uwzględnia naświetlone powyżej aspekty nowoczesnych kierunków badań. Przedstawioną więc w rozprawie tematykę badawczą uznaję za w pełni uzasadnioną oraz interesującą pod względem poznawczym. W recenzji pozwolę sobie zwrócić uwagę przede wszystkim na te elementy rozprawy doktorskiej, które dają podstawę do wnioskowania o nadanie mgr Marcie Czapiewskiej stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych.

Struktura rozprawy doktorskiej

Recenzowana rozprawa doktorska wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Jerzego Krysińskiego i dr Piotra Bilskiego jako promotora pomocniczego jest dokumentem zawierającym charakterystykę przeprowadzonych badań w formie manuskryptu w języku polskim, liczącym 179 stron. Zawiera wszystkie wymagane rozdziały: wstęp, cel i założenia prac eksperymentalnych, część doświadczalną uwzględniającą przedstawienie metod badawczych, a także omówienie wyników badań, wnioski, zestawienie piśmiennictwa, streszczenia w języku polskim i angielskim, spis skrótów, krótką charakterystykę aktywności naukowej Doktorantki. Część teoretyczna i doświadczalna udokumentowana jest odpowiednio 3 i 32 tabelami oraz 9 i 36 rycinami. Rozdział „Piśmiennictwo” obejmuje 231 pozycji, w tym 9 odnośników do baz internetowych. W mojej, subiektywnej zapewne, ocenie formy edytorskiej pragnę zwrócić uwagę na niepotrzebne zwiększenie objętości pracy poprzez m.in. zwiększony rozmiar interlinii, zwłaszcza w tabelach, także w rozdziale Piśmiennictwo, niewykorzystanie znacznej części stron do kontynuacji prowadzonego opisu.

Ocena wiedzy Doktorantki w zakresie założonych celów badawczych

W obejmującej 58 stron wstępnej części rozprawy doktorskiej Doktorantka przedstawiła aktualny stan wiedzy ściśle powiązany z badaniami własnymi, co uznaję za godne podkreślenia. Problematyka

ta dotyczyła zagadnień związanych z zastosowaniem metod druku przestrzennego w technologii farmaceutycznej pod kątem indywidualizacji terapii, charakterystyki możliwości maskowania smaku stałych postaci leku i metod badania. Uzupełnienie informacji w części wstępnej stanowiła charakterystyka substancji leczniczych tj. dichlorowodoru lewocetyryzyny i loratadyny, będących przedmiotem badań z uwzględnieniem wskazania dostępnych w Polsce doustnych preparatów w formie płynnej i stałej. Opisany materiał stanowi interesujące źródło informacji, udokumentowane poszczególnymi danymi z piśmiennictwa. Przegląd wiedzy w omawianym zakresie jest logiczny i usystematyzowany, co w kontekście celu badawczego jest bardzo istotne. Na tej podstawie stwierdzam, że Doktorantka posiada szeroką wiedzę w obszarze dotyczącym istotnych elementów rozprawy doktorskiej.

Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Zadania badawcze są zdefiniowane w części II rozprawy doktorskiej „Cel pracy”. Doktorantka określiła 11 celów cząstkowych i założeń „pośrednich”, które składały się na opracowanie doustnych lametek metodą druku 3D. Realizacja celu naukowego rozprawy doktorskiej wymagała opracowania procesu technologicznego oraz oznaczania właściwości postaci leku.

Spośród wymienionych 11 celi cząstkowych można wyróżnić dwa podstawowe wątki badawcze:

- opracowanie dwóch formułacji lametek, czyli filmów ulegających rozpadowi w jamie ustnej zawierających 2 substancje lecznicze o działaniu przeciwhistaminowym: tj. dichlorowodorek lewocetyryzyny lub loratadynę, metodą druku przestrzennego;
- ocenę właściwości opracowanych postaci leku w oparciu o badania charakteryzujące jakość postaci leku, uzupełnione analizą wyników badań rentgenograficznych, różnicowej kalorymetrii skaningowej, spektroskopii ramanowskiej.

Koncepcja założeń badawczych ma cechy innowacyjności i wpisuje się w najnowsze trendy rozwoju technologii farmaceutycznych.

Dobór metodyki badań i rozwiązanie problemu naukowego

W sposób prawidłowy została przedstawiona metodyka badań, we właściwy również sposób dokonano wyboru metod pozwalających na rozwiązywanie kolejnych problemów badawczych, wynikających z przeprowadzonych doświadczeń.

Część doświadczalna obejmuje:

- o w etapie technologicznym:
 - opracowanie składu żeli oraz ich sporządzenie, jako bazy do drugiego etapu procesu technologicznego;
 - sporządzenie filmów ODF metodą wytłaczania półpłynnej masy;

- o w etapie analitycznym:
 - ocenę morfologiczną filmów ODF, ich właściwości mechanicznych, adhezyjnych, zdolności maskowania smaku, szybkości uwalniania substancji leczniczej;
 - ocenę właściwości substancji leczniczych tj. struktury krystalicznej, rozkładu termicznego w filmach ODF;

Warunkiem podejmowania prac badawczych o charakterze technologicznym jest dostępność koniecznej aparatury doświadczalnej. Taką możliwość miała Doktorantka w swojej macierzystej Jednostce, a także dzięki współpracy z działem badawczo-rozwojowym firmy Adamed oraz z Katedrą Biotechnologii Medycznej Politechniki Warszawskiej.

Do sporządzania filmów ODF z ww. substancjami leczniczymi użyto PVA, alginian sodu, glicerol i wodę, natomiast w przypadku filmów z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny dodatkowo β -cyklodekstrynę i neotam. Nasuwa mi się pytanie, dlaczego w przypadku loratadyny nie zastosowano żadnego z tych składników? Przy określaniu składu recepturowego nie wskazano funkcji poszczególnych substancji pomocniczych, natomiast część informacji znajduje się w rozdz. IV. „Omówienie i dyskusja wyników”. Użycie neotamu jako substancji słodzącej uznaję za ciekawe i uzasadnione, gdyż nie ma wielu badań w tym zakresie. Substancja ta została dopuszczona do stosowania w UE w 2010 r. i tak jak podkreśla Doktorantka, European Food Safety Authority (EFSA) określa 2 mg/kg m.c. jako dzienną dopuszczalną ilość. FDA dla noworodków zaleca 0,1 mg/ kg m.c./24 h oraz 0,17 mg/kg m.c./24h dla dzieci w wieku 2-5 lat. Podaję tę informację jako dodatkową, gdyż Doktorantka opracowywała filmy ODF z myślą o zastosowaniu w terapii pediatrycznej.

Do osiągnięcia założonego technologicznego celu badawczego Doktorantka zastosowała technikę druku przestrzennego. Ani w opisie sporządzania, ani w spisie aparatury nie znajdują informacji o modelu drukarki. Zaskoczeniem jest tytuł rozdziału III.5. „Parametry wydruku lamelek doustnych”, w którym brak jest jakichkolwiek parametrów procesu, poza wartością promienia okręgu, istotną do projektowania powierzchni filmu. Odnośnik do opisu metody w części wstępnej (rozdz. I.1.2.6) jest niewystarczający, brak też danych dotyczących procesu suszenia jednej warstwy filmu przed nałożeniem kolejnej.

W projektowaniu i późniejszym opracowaniu postaci leku istotne jest założenie zakresu badań, które posłużą do oceny finalnej formy leku. Oprócz badań związanych z jakością postaci leku na różnych etapach jej wytwarzania, ważną grupę stanowią badania analityczne. Raz jeszcze podkreślam, że Doktorantka w prawidłowy sposób dobrała metody badawcze. W charakterystyce filmów ODF uwzględniła ich kształt, rozmiar, wytrzymałość na rozciąganie oraz wielkość siły adhezji do powierzchni próbnika (oba badania przy użyciu analizatora tekstury), morfologię powierzchni oraz w przypadku ODF z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny maskowanie gorzkiego smaku. W tym celu badania przeprowadzono z zastosowaniem elektronicznego detektora smaku, czyli tzw. elektronicznego języka wyposażonego w jonoselektywne elektrody. Wyniki tych badań potwierdziły

skuteczność maskowania gorzkiego smaku substancji leczniczej. Ponadto zbadano sorpcję pary wodnej w ODF w różnych warunkach wilgotności względnej oraz przeprowadzono badania uwalniania substancji leczniczej z lametek przy użyciu aparatu łopatkowego Erweka typ 600, jakkolwiek nie mogę się zgodzić, że badanie to zostało przeprowadzone zgodnie z FPXII (str. 105). zaś na rycinach 23 i 24 przedstawiających profile uwalniania substancji leczniczych z lametek nie zaznaczono odchyień od średnich wartości. Dowodem na utworzenie kompleksu dichlorowodorek lewocetyryzyny- β -cyklodekstryna stanowią wyniki badań XRD i DSC. Z kolei o jednolitości rozproszenia loratadyny w matrycy polimerowej świadczą badania mikroskopowe oraz przy użyciu spektroskopii ramanowskiej. Pomimo, że Doktorantka w rozdz. „Omówienie wyników” wyjaśniła, że „funkcja PVA polegała na uzyskaniu odpowiedniej masy”, to w wynikach badań brak odpowiednich danych dotyczących masy poszczególnych serii filmów. Na podkreślenie zasługuje staranne opracowanie analizy ilościowego oznaczania obu substancji leczniczych metodą HPLC, co ma kluczowe znaczenie przy określaniu zawartości substancji leczniczej w sporządzonych formulacjach. W tekście pracy nie znalazłam danych dotyczących jednolitości zawartości substancji leczniczej w lamelkach lub jednolitości pola powierzchni, skoro badano zależność wielkości dawki od promienia lamelki.

W oparciu o wyniki przeprowadzonych badań sformułowano 10 wniosków. W drugim wniosku Doktorantka wskazała, że filmy ulegające rozpadowi w jamie ustnej z loratadyną o promieniu 14,1 mm mogą być stosowane od 6 m.ż., a z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny o promieniu 14,0 mm od 2 r.ż. Moje pytanie dotyczy wyjaśnienia, czy lamelka o średnicy 2,82 cm jest odpowiednia dla dziecka 6 miesięcznego?

Doceniając szeroki zakres przeprowadzonych badań, po zapoznaniu się z tekstem pracy doktorskiej prosiłabym Doktorantkę o zaspokojenie mojej ciekawości i odpowiedź podczas obrony na pytania, które nasunęły mi się po jej lekturze.

1. Dlaczego zastosowano 2 substancje pomocnicze tj. β -cyklodekstrynę i neotam do receptury filmów ODF z dichlorowodorkiem lewocetyryzyny, skoro przytoczyła Doktorantka wyniki badań zawarte w publikacji Mahesh A. et al., w której wykazano skuteczność maskowania gorzkiego smaku ww. substancji leczniczej z 2-HP-CD w badaniach na ludziach?
2. W rozdziale III.6.1.1 podano skład 4 żeli *placebo* do badań przy użyciu elektronicznego języka, z których każdy zawierał tylko jedną substancję słodzącą. Czy był poddany badaniu żel zawierający obie substancje pomocnicze, analogicznie do składu żelu do sporządzania filmów ODF?
3. Jaki zakres badań wykonała Doktorantka we współpracy z działem badawczo-rozwojowym firmy Adamed?

4. Dlaczego istotne są wg Doktorantki właściwości przylegania lamelki do policzka, gdyż uzasadnienie na str.141 nie jest dla mnie przekonujące.

Bogaty materiał doświadczalny zawarty w rozprawie doktorskiej został dobrze zaplanowany, w prawidłowy sposób ułożony, tworząc logiczną całość. Praca napisana jest poprawnym językiem, jakkolwiek żałuję, że w przypadku niektórych sformułowań nie uwzględniono terminologii zgodnej z FP XII. Tytuł rozdz. 2.3.1 powinien brzmieć „Badanie uwalniania”, a nie „Test uwalniania”. W odniesieniu do kapsułek stosuje się pojęcie „osłonki”, a nie „powłoki” (str. 24) itd. Niektóre określenia są mało precyzyjne, np. „Badanie **dostępności** wykonano dla 6 lamelek... zgodnie z wymaganiami **FPXI**” (str.105), „..technologii drukowania stosowanych **w farmacji**” lub niezręczne jak np. „zastosowanie **metodologii** druku 3D...”, „sukcesem **wydaje się być** dopuszczenie do obrotu przez FDA tabletek z lewetyracetamem”, „**namaczanie** filamentu w nasyconym roztworze API”. W liczącym 179 stron tekście nie trudno o tego rodzaju potknięcia językowe, nie mniej jednak muszę się odnieść do zbyt powierzchownego potraktowania informacji z piśmiennictwa dotyczącego niektórych technik druku przestrzennego. W charakterystyce ogólnej druku przestrzennego Doktorantka zastosowała zbyt duży skrót myślowy, pisząc, że zaprogramowany kształt w formie elektronicznego pliku np. STL jest wysyłany do drukarki.... (str.14). Odnośnie stwierdzenia na str. 18 „Stereolitografia wyróżnia się możliwością wydrukowania...elementów rzędu kilkunastu-kilkudziesięciu nanometrów”. Prosiłabym Doktorantkę o dokładniejsze wyjaśnienie, na czym polegają modyfikacje tej metody prowadzące do uzyskania obiektów w skali nano. W klasycznej SLA plamka lasera ma bowiem 25 μm . Pragnę zwrócić uwagę, że twórcą stereolitografii był Charles Hull (zgłoszenie patentowe 1984 r, patent 1986 r.), a nie firma 3D Systems. Ponadto, w metodzie tej w zależności od właściwości żywicy stosowana jest wiązka światła w zakresie długości fali λ 325- 420 nm, a nie tylko 355 nm (str. 20). Nie zbyt trafne było stwierdzenie, że w metodzie SLS oszczędza się czas drukowania dzięki eliminacji stosowania rozpuszczalników (str. 21), gdyż czas potrzebny na nagrzanie komory i schłodzenie po wydruku wynosi łącznie ok. 4-6 godzin. Charakteryzując metodę sporządzania tabletek z paracetamolem techniką SLS Doktorantka nie uwzględniła zasadniczego składnika tj. barwnika, dzięki któremu możliwy jest w ogóle ten proces. Stosując wymienione na str. 22 składniki barwy białej, wydruk nie byłby możliwy. Na str. 25 Doktorantka pisze: „Obecnie nie istnieje procedura farmakopealna opisująca sposób badania materiałów wykorzystywanych w technice FDM”. Moje pytanie brzmi, czy któraś z opisanych wcześniej technik ma swoje usytuowanie w monografii farmakopealnej? Pragnę jeszcze dodać, że przedmiotem badań techniką FDM są nie tylko tabletki, jak podaje Doktorantka, ale także m.in. mikroigły, implanty, postaci leku ulegające rozpadowi w jamie ustnej, w tym również lamelki, będące celem badań niniejszej pracy doktorskiej. Pozwoliłam sobie na te uwagi, gdyż dokładność charakteryzowania poszczególnych technik druku przestrzennego jest rzeczą ważną, by zrozumieć zasady ich stosowania, zwłaszcza gdy ich ilość jest znacząca. Pragnę

jednak podkreślić, że moje uwagi dotyczą aspektów teoretycznych i nie obniżają wysokiej wartości rozprawy doktorskiej.

Oryginalność dorobku naukowego

Rozprawa doktorska stanowi niewątpliwie oryginalne opracowanie naukowe z zastosowaniem druku przestrzennego jako procesu technologicznego, który jest obecnie przedmiotem szerokiego zainteresowania. Uważam, że Doktorantka zrealizowała zaplanowane etapy badań, a wyniki zawierają elementy nowości naukowej w zakresie opracowania filmów ulegających rozpadowi w jamie ustnej, zawierających 2 substancje lecznicze o działaniu przeciwhistaminowym: tj. dichlorowoderek lewocetyryzyny lub loratadynę. Uzyskane wyniki są obiecujące, gdyż poza charakterem poznawczym mogą mieć w dalszej przyszłości znaczenie aplikacyjne.

Poza ogólną wysoką oceną problematyki badawczej pragnę zwrócić uwagę na dwa ważne elementy rozprawy, tj.:

- aktualność i istotność problematyki badawczej,
- zastosowanie technologii druku przestrzennego w projektowaniu **pediatrycznej postaci leku** w formie lamelek.

Odnosząc się do wartości naukowo-badawczej ww. dysertacji stwierdzam, że Doktorantka potwierdziła praktyczną znajomość procesów technologicznych i umiejętność interpretacji wyników badań uzyskanych w wyniku przeprowadzonych prac doświadczalnych o zróżnicowanym charakterze. Pragnę raz jeszcze podkreślić fakt wielokierunkowego ujęcia badań, wiążącego się z koniecznością pogłębienia wiedzy także w obszarze technik analitycznych oraz oceny jakości postaci leku. Interesująca tematyka badawcza, odpowiedni warsztat badawczy, opracowanie metodyczne skutkuje zbiorem danych cechujących się oryginalnością naukową.

Podsumowanie

W końcowej konkluzji pragnę wyrazić przekonanie, że rozprawa doktorska mgr Marty Czapiewskiej pt. „Opracowanie i ocena jakościowa lamelek doustnych z substancjami przeciwhistaminowymi otrzymanych metodą druku przestrzennego” stanowi oryginalne, wartościowe opracowanie naukowe o wysokim potencjale informacyjnym. Doktorantka dzięki znacznemu poszerzeniu wiedzy teoretycznej i współpracy z Katedrą Biotechnologii Medycznej Politechniki Warszawskiej oraz z firmą Adamed zrealizowała założony cel badawczy. Przeprowadziła wiele badań oraz analiz, których nowatorskim osiągnięciem jest opracowanie filmów (ODF) ulegających rozpadowi w jamie ustnej, proponowanych jako pediatryczna postać leku umieszczana w saszetkach. Ustawowe wymogi *Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (tekst jedn. Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.) stawiane rozprawom doktorskim zostały osiągnięte. Na tej podstawie zwracam się do

Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy z wnioskiem o przyjęcie rozprawy doktorskiej pt. „Opracowanie i ocena jakościowa lametek doustnych z substancjami przeciwhistaminowymi otrzymanych metodą druku przestrzennego”, przygotowaną przez Panią mgr Martę Czapiewską do dalszych etapów postępowania w celu nadania stopnia doktora nauk farmaceutycznych.

Kierownik
Katedry i Zakładu Technologii
Postaci Leku i Biofarmacji CM UU
Renata Jachowicz
Prof. dr hab. Renata Jachowicz