Gdańsk, 14. 09. 2018

Prof. dr hab. inż. Helena Janik, prof. zw. PG
Wydział Chemiczny
Katedra Technologii Polimerów
Politechnika Gdańska
helena.janik@pg.edu.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr farm. Barbary Mikolaszek pt.:
„Rozwój technologii i metod analizy plastrów przezskórnych z niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi"

Promotor: Prof. dr hab. n. farm. Małgorzata Sznitowska
Recenzja wykonana w oparciu o uchwałę Rady Wydziału Farmaceutycznego z OML GUMed. z dnia 17.07.2018 r.

Charakterystyka ogólna pracy

Plastry przezskórne z niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi od wielu lat są w kręgu zainteresowań naukowców, środowiska farmaceutycznego oraz pacjentów. Zainteresowania te obecnie skierowane są na stronę technologiczną formowania tych plastrów oraz dobór substancji leczniczej. Uważa się, że plastry te mogą być konkurencyjne do maści, żeli czy kremów oraz, że ich zastosowanie wyeliminuje wiele wad mających miejsce przy podawaniu leków drogą konwencjonalną. W nurt tej tematyki wpisuje się praca doktorska, przedstawiona mi do recenzji a pochodząca z Zespołu prof. Sznitowskiej, uznanej w kraju i na świecie specjalistki z zakresu nauk farmaceutycznych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr farm. Barbary Mikolaszek zawiera łącznie 175 stron tekstu w tym 84 ryciny i 37 tabel oraz 125 poz. bibliograficznych. Zredagowana jest w sposób klasyczny. Składa się ze wstępu (na 24 str., rozdział 1) poprzedzonego spisem treści, streszczeniami w języku polskim i angielskim oraz symboli, celu i założenia pracy (rozdział 2), metodyki badań (na 49 str., Rozdział 3), wyników (na 50 str., rozdział 4), dyskusji (na 15 str., rozdział 5), wniosków (rozdział 6), załączników (rozdział 7), spisu literatury, tabel, rycin i spisu publikacji własnych. Proporcje opracowanych rozdziałów są w miarę zrównoważone.

We wstępie pracy zapoznajemy się krótko z zaletami plastrów, ilością zarejestrowanych plastrów z niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi (NLPZ), opisem możliwych technologii w przypadku otrzymywania plastrów polimerowych oraz metodami analizy plastrów. Opis zagadnień we wstępie można uznać za genezę podjęcia się tematyki plastrów polimerowych z NLPZ.

Celem pracy była optymalizacja metody otrzymywania postaci plastra przezskórnego z niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi o działaniu miejscowym, z wykorzystaniem matryc silikonowych i poliakrylanowych.

W ramach **metodyki badań** opisano bardzo obszernie zastosowane procedury i metody badawcze. Opisano standardowo typ aparatury, odczynniki, materiały. Ponadto przedstawiono metodykę otrzymywania proszków NLPZ o odpowiednim rozdrobnieniu i sposób ich analizy, sposób formowania filmów polimerowych i ich analizy, sposób otrzymywania plastrów przezskórnych typu DiM (substancja aktywna w matrycy) i DiA (substancja aktywna w warstwie adhezyjnej), rodzaje analiz właściwości fizycznych matryc i plastrów przezskórnych, procedury badań właściwości dyfuzyjnych oraz metodykę analizy statystycznej wyników.

Wyniki badań dotyczą kilku zagadnień i są to;

- właściwości substancji czynnych, które poddano procesom mielenia w młynie strumieniowym
- optymalizacja warunków otrzymywania filmów polimerowych uwzględniająca takie parametry jak: typ mieszalnika, czas i obroty elementu mieszającego podczas komponowania składników matryc
- badania zgodności pomiędzy składnikami wybranych formulacji matryc i plastrów przezskórnych na podstawie analizy twardości, kohezji, obserwacji mikroskopowych (analiza rekrystalizacji substancji czynnych), właściwości mechanicznych, przezierności
- właściwości otrzymanych plastrów przezskórnych (grubość, zawartość substancji czynnej, barwa, morfologia przekroju, adhezja (test statyczny i test dynamiczny), kinetyka przenikania wody i pęcznienia (matryce silikonowe), szybkość uwalniania leku (w temp. 32 i 37^{0}C), stabilność.

W rozdziale 5, zatytułowanym „Dyskusja" podsumowano wyniki dotyczące kilku zagadnień poruszanych w pracy, a mianowicie:

- wytypowania do badań szczegółowych substancji czynnych spośród 7 z grupy NLPZ: to potraktowano bardzo skrótowo w rozdziale 5
- wytypowania polimerów filmotwórczych
- oceny interakcji substancji czynnej w trakcie sporządzania formulacji in situ
- wyboru substancji dodatkowych i ich zgodności z podstawowym komponentem formulacji
- możliwości uzyskania równomiernego rozmieszczenia substancji czynnych i pomocniczych w podstawowym polimerze filmotwórczym
- metody otrzymywania plastrów dwuwarstwowych typu DiA (ang. Drug in Adhesive) i DiM (ang. Drug in Matrix)
- oceny testowania adhezyjności formulacji plastrów różnymi metodami, w tym *in vivo*
- oceny uwalniania substancji czynnej wg zastosowanych dwóch strategii

Praca jest bardzo obszerna, ale czyta się ją w miarę dobrze, po opanowaniu wszystkich skrótów, niezbędnych do oznaczania substancji, formulacji itp. W cytowanych 125 pozycjach bibliograficznych (z lat 1937-2017) większość to oryginalne publikacje naukowe z czasopism o tzw. szerokim obiegu. Nie zauważono pozycji dot. patentów. Literatura cytowana jest jednolicie i poprawnie. Dołączony jest również wykaz dorobku naukowego Doktorantki (2 prace w recenzowanych czasopismach naukowych zagranicznych, 4 prace jako prezentacje ustne (uwaga: brak podkreślenia osoby prezentującej), 11 prac w postaci plakatów na konferencjach krajowych i zagranicznych (uwaga: brak podkreślenia osoby prezentującej). Od strony edytorskiej praca jest zredagowana starannie, aczkolwiek nie ustrzeżono się od pewnych drobnych błędów typu „literówki". W niektórych przypadkach czytelność opisu na osiach w opracowanych wynikach pomiarowych jest bardzo utrudniona przez zbyt małe litery.

Ocena merytoryczna pracy

Praca jest interdyscyplinarna. Zawiera elementy związane z naukami farmaceutycznymi oraz elementy dotyczące inżynierii i technologii polimerów.

Cel pracy został zrealizowany. Zoptymalizowano metody otrzymywania postaci plastra przezskórnego z niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi o działaniu miejscowym, wykorzystując głównie nowoczesne matryce silikonowe pozwalające na formowanie plastrów bez użycia rozpuszczalników lub w mniejszym stopniu matryce poliakrylowe z użyciem roztworów tych polimerów w acetonie. Otrzymano plastry dwuwarstwowe typu DiA i DiM z matrycą silikonową oraz poliakrylową a także plastry jednowarstwowe typu DiA poliakrylowe zawierające różne rodzaje substancji czynnych, oceniono adhezyjność otrzymanych plastrów z NLPZ, przeprowadzono obszerne badania nad porównaniem strategii

wprowadzania substancji czynnej (indometacyna, diklofenak sodu) a szybkością jej uwalniania dla obu typów plastrów (DiA i DiM), dla wybranych formulacji określano stabilność plastrów. Zaproponowano nowy plaster silikonowy z NLPZ jako plaster korzystniejszy pod względem aplikacyjnym oraz od strony rozwoju tej postaci leku jako nośnika substancji czynnych w przypadku podania na skórę i szerokiej możliwości oceny jakości tego typu plastrów.

Wnioski w liczbie 7 (str. 154). informują nas, że:

- indometacyna i diklofenak sodu są zgodne z badanymi polimerami testowanymi jako matryce i z ich udziałem możliwe jest sporządzanie plastrów typu DiA i DiM w odróżnieniu od pozostałych substancji aktywnych (ibuprofenu, lizynianu ibuprofenu, naproksenu sodu czy ketoprofenu), które są niezgodne
- w przypadku polimeru akrylanowego otrzymano plastry DiA o grubości rzędu 300 mikrometrów, dobrej przyczepności i zawartości indometacyny w warstwie adhezyjnej w ilości 1-5% (metoda sporządzania plastrów z roztworu polimeru w acetonie)
- zaproponowano jako najkorzystniejszą kompozycję dla plastrów DiA i DiM taką, która zawiera dwa rodzaje elastomerów silikonowych (SSA i Gumosil AD-1) i indometacynę lub diklofenak sodu
- substancje pomocnicze, takie jak olej silikonowy, mirystynian izopropylu, glikol polietylenowy w bardzo istotny sposób wpływają na właściwości mechaniczne matrycy oraz właściwości dyfuzyjne dla wody
- w zależności od typu otrzymanych plastrów zaobserwowano odmienną kinetykę uwalniania substancji czynnej
- uwalnianie substancji czynnej z plastrów DiM było wolniejsze niż z DiA
- w ocenie adhezyjności plastrów bardzo przydatna jest metoda z zastosowaniem sondy sferycznej oraz metoda odrywania (model ze stalową siatką i folią polietylenową)
- otrzymane plastry mają zadowalającą aplikacyjność w oparciu o badania właściwości adhezyjnych w/w metodami

Pracę charakteryzuje duża ilość otrzymanych nowych kompozycji do sporządzania plastrów przezskórnych z niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi i szeroki zakres metod badawczych.

Praca ma charakter badań stosowanych i innowacyjnych. Autorka wykazała się dużą praktyczną znajomością zarówno technologii sporządzania plastrów z odpowiednich

substratów polimerowych jak i badań z zakresu nauk farmaceutycznych oraz umiejętnością analizy wyników wielu metod badawczych takich jak mikroskopia optyczna, fluoroscencyjna, Ramana, skaningowa mikroskopia elektronowa, mikroskopia sił atomowych, różnicowa skaningowa kalorymetria, metod określających właściwości fizyczne, mechaniczne i morfologiczne polimerów, adhezyjność, przylepność, właściwości dyfuzyjne, przenikanie wody, pęcznienie i inne.

W ten sposób doktorantka wykazała się bardzo dobrym warsztatem badawczym i umiejętnością rozwiązywania problemów naukowych i technologicznych.

Zagadnienia do ewentualnej dyskusji, uzupełnienia lub korekty podczas prezentacji wyników na obronie:

- polimeryzacja a sieciowanie a wulkanizacja w nawiązaniu do tabeli 2 i innych miejsc
- odporność na niszczenie radiacyjne substancji aktywnych badanych w SEM
- termogramy i ich interpretacja (np. jaka to przemiana na ryc. 7?)
- dlaczego analiza r-rów diklofenaku sodu wymaga dodatkowego przygotowania próbek?
- niejasno wytłumaczony związek między zmianą lepkości a przedwczesnym sieciowaniem (str. 41)
- niefortunne użycie „ całkowita polimeryzacja" w podpisie ryc. 11a
- na str. 22 podano twardość w jednostkach w skali Shore'a, co jest powszechnie stosowane w polimerach a w pracy w g masy, poproszę o komentarz
- str. 31: chyba pominięto katalizator (bardzo istotne)
- str. 49-51; nieścisłości nomenklaturowe typu łamano zamiast zrywano (tab. 17), dystans zamiast odkształcenie (podpis ryc. 15), brak opisu co oznacza linia czerwona i czarna, powinno być współczynnik sprężystości podłużnej E (wtedy obowiązuje prawo Hooke'a) zamiast współczynnik elastyczności a w konsekwencji nie może być podane, że obliczano parametry elastyczności tylko parametry właściwości mechanicznych (generowano zależności naprężenie-odkształcenie i w odcinku liniowym wyznaczano E)
- str. 52: dyskusyjne jest stwierdzenie, że użyto oleju silikonowego jako zamiennika usieciowanego polimeru silikonowego do oceniania wstępnej rozpuszczalności substancji czynnych
- str. 65: warto w przyszłości skanować jeszcze mniejszy obszar w analizie AFM
- siły powinny być wyrażane w jednostkach duże G na ryc. 21, 24 i innych
- czasami zbyt małe litery opisu osi lub brak słownego opisu oprócz symbolu analizowanego parametru

- czy zaobserwowano korelację wyników badań rozmieszczenia indometaycyny wyznaczaną za pomocą AFM i konfokalnej mikroskopii Ramana?
- czy w związku ze zmianą kształtu cząstek substancji czynnej po zmieleniu może ona zmienić swą aktywność?
- str. 79, tab. 26: już w podpisie tabeli lepiej podać, że są to temp. topnienia, aby nie szukać tego w tekście
- w przypadku diklofenaku sodu zaobserwowano po mieleniu w młynie strumieniowym znaczne obniżenie entalpii topnienia w odróżnieniu od indometacyny – poproszę o komentarz tych zmian i ewentualne skutki na aktywność i inne aspekty formowania plastrów
- str. 80, ryc. 30: niefortunny podpis, gdyż nie badano procesu polimeryzacji (zastosowano skrót myślowy), ponadto niezbyt jasno opisano na jakiej podstawie zastosowano określone kolory, czy mierzono temp. podczas procesu mieszania?
- zaobserwowano, ze obecność warstwy adhezyjnej powoduje znaczne obniżenie szybkości uwalniania substancji czynnych, był on różny dla różnych substancji pomocniczych- poproszę o komentarz
- str. 130: dobrze by było pokazać tu EDX do ryc. 76
- str. 138: czy schemat na ryc. 84 to propozycja własna, czy też znana formuła literaturowa?

<u>Uwagi drobne, szczegółowe</u> – nie umniejszające wartości pracy, jako całości (nie oczekuję tu odpowiedzi a jedynie są to uwagi, do wykorzystania w przyszłych pracach)
- niewłaściwa kolejność słów lub skróty myślowe (str. 7, str. 21 pod ryciną 5:)
- przy rycinach brak informacji czy to jest rycina z lit. sporządzona przez Autorkę (np. rycina 2, 3)
- w tabeli 1: ten sam skrót do poliakrylanu i gumy→ PSA
- tab. 2: polimeryzacja nie jest operacją jednostkową to proces chemiczny, a i wulkanizacja tu nie bardzo pasuje
- używanie czasami zwrotów, które nie są stosowane w nomenklaturze polskiej: np. str. 17 i inne: ekstruzja zamiast wytłaczanie, wiskoelastyczne zamiast lepkosprężyste, jest akceleracja a powinno być napięcie przyspieszające (str. 34), unguator: może lepiej mikser recepturowy typu.., zamiast dystrybucja proponuję rozmieszczenie,
- tab. 3: raz nazwa handlowa a raz chemiczna (np. powidon to skrót handlowy polimeru odpowiedniego)
- tab.4: brak pełnych nazw dla niektórych parametrów
- str. 28: po słowie technologicznych brak słowa „wpływających" na szybkość dyfuzji

- str. 45: literówka: zamiast mieszaniny jest mieszany
- str. 69: co „in vitro?" Oderwany od treści podtytuł
- str. 85: zbyt daleko wysunięto wniosek, że określono wpływ substancji czynnych na proces sieciowania – można użyć na zmianę parametrów fizykomechanicznych zachodzących podczas sieciowania
- str. 85: proces sieciowania może w ogóle nie rozpoczął się gdy obecny był ibuprofen i ketoprofen?

Wniosek końcowy

Praca doktorska przedstawiona przez mgr farmacji Barbarę Mikolaszek reprezentuje dobry poziom naukowy. Autorka umiejętnie wykorzystała wiedzę teoretyczną i umiejętności praktyczne do otrzymania nowych plastrów przezskórnych zawierających niesteroidowe leki przeciwzapalne. Praca zredagowana jest w sposób staranny i zrozumiały. Autorka dobrze opanowała technikę pracy badawczej przy wykorzystaniu różnorodnych metod oraz dysponuje zdolnościami interpretacji uzyskanych wyników. Przedstawione rezultaty zawierają elementy nowości w sensie poznawczym, technologicznym i aplikacyjnym.

Pracę oceniam pozytywnie, pomimo wcześniejszych uwag, które nie wpływają na ogólną ocenę pracy. Stwierdzam, że Praca doktorska przedłożona mi do oceny spełnia wszystkie wymagania dotyczące rozpraw doktorskich i wnioskuję o dopuszczenie jej do publicznej obrony na Wydziale Farmaceutycznym GUMed.

Helena Janik