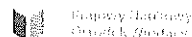




Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni  
im. Jerzego Habera  
Polskiej Akademii Nauk



Kraków 10.06.2021r.

Dr hab. Krzysztof Szczepanowicz, prof. IKiFP  
Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni  
im. Jerzego Habera  
Polskiej Akademii Nauk  
Niezapominajek 8  
30-239 Kraków, Polska

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Iwony Popiołek pt. „Kompleksy inkluzyjne  
diaminopochodnych cyklodekstryn z biologicznie aktywnymi związkami pochodzenia  
roślinnego i wybranymi lekami”**

Rozprawa doktorska Pani lek. med. **Iwony Popiołek**, zatytułowana „**Kompleksy inkluzyjne diaminopochodnych cyklodekstryn z biologicznie aktywnymi związkami pochodzenia roślinnego i wybranymi lekami**”, powstała w zakładzie Chemii Fizycznej i Elektrochemii, w zespole Nanotechnologii Polimerów i Biomateriałów, na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Promotorem pracy jest Pan prof. dr hab. Krzysztof Szczubiałka. Celem przedstawionej mi do recenzji pracy była synteza, charakterystyka fizykochemiczna oraz biologiczna kompleksów wybranych związków biologicznie czynnych z kationowymi pochodnymi cyklodekstryny. Otrzymane wyniki porównano z hydroksypropyloowo modyfikowaną cyklodekstryną, szeroko stosowaną w badaniach biochemicznych. Dla jednej, wybranej, nowej formułacji przeprowadzono także badania farmakokinetyczne.

Cyklodekstryny należą do grupy cyklicznych oligosacharydów złożonych z kilku podjednostek  $\alpha$ -glukopiranozy. Ważną cechą cyklodekstryn jest ich zdolność do tworzenia kompleksów inkluzyjnych z substancjami aktywnymi np. lekami. Tworzenie takiego kompleksu odbywa się

ul. Niezapominajek 8, 30-239 Kraków, Polska  
tel. +48 12 639 51 01, +48 12 425 19 23  
fax +48 12 425 19 23

Nr konta: Bank Gospodarstwa Krajowego  
PL 36 1130 1150 0012 1186 5820 0004  
NIP: 6750001805, REGON: P-000326351



poprzez włączanie cząsteczki substancji aktywnej do luki cyklodekstryny. Dzięki utworzeniu kompleksu substancja lecznicza/cyklodekstryna, zmianie ulegać mogą właściwości fizyczne i chemiczne substancji aktywnej. Do głównych zmian należą: wzrost rozpuszczalności substancji aktywnej, zwiększenie stabilności oraz zmniejszenie toksyczności substancji aktywnej, czy modyfikacja jej reaktywności. Cyklodekstryny, jak każde inne nośniki leków, posiadają też swoje ograniczenia, a jednym z nich jest ich słaba rozpuszczalność. Jednakże struktura chemiczna cyklodekstryny umożliwia jej łatwą modyfikację przez podstawienie części grup hydroksylowych. Modyfikowane cyklodekstryny, najczęściej pochodne hydroksypropylowe, znacznie poprawiają rozpuszczalność tworzonego kompleksu inkluzyjnego w środowisku wodnym. Duże zainteresowanie przemysłu farmaceutycznego cyklodekstrynami wynika z łatwości ich pozyskiwania i modyfikacji, z drugiej zaś strony, z korzyści jakie niesie wykorzystanie zdolności tworzenia kompleksów inkluzyjnych z substancjami leczniczymi oraz ich właściwości.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani lek. med. Iwony Popiołek liczy 169 stron, 87 rysunków, 21 równań oraz 196 pozycji literaturowych. Rozprawa ta ma raczej tradycyjny charakter. Praca zaczyna się Spisem treści oraz Wykazem stosowanych skrótów, części te ułatwiają czytelnikowi jej dalsze studiowanie. Następnie jest „Abstract” w języku angielskim oraz streszczenie w języku polskim. Główna część pracy podzielona jest na 9 rozdziałów: Wstęp, Cel pracy, Część eksperymentalna, Podsumowania i wnioski, następnie są Materiały i metody, Supplement, Literatura, Spis rysunków oraz Spis równań.

We Wstępie, będącym właściwą częścią literaturową tej pracy, stanowiącym ok. 30 stron. Doktorantka dokonała zwięzłego podsumowania aktualnego stanu wiedzy dotyczącego cyklodekstryn, m.in.: charakterystyki układu, podstaw fizykochemicznych tworzenia kompleksów inkluzyjnych oraz ich zastosowania, jako nośników substancji aktywnych. Doktorantka przedstawiła także opis wybranych czynników aktywnych pochodzenia roślinnego oraz dwóch wybranych leków uwzględniając ich charakterystykę, zastosowanie oraz problemy związane z ich wykorzystaniem w leczeniu. Pani Iwona przybliżyła też czytelnikowi tematykę związaną z badaniami nad substancjami o działaniu



przeciwcukrzycowym, rolą stresu oksydacyjnego oraz przedstawiła system i etapy badań farmaceutycznych ADME oraz badań farmakokinetycznych z udziałem zwierząt.

Reasumując, część literaturowa stanowi bardzo ciekawą lekturę, jej treść jest dobrze dobrana do zakresu pracy doktorskiej, oraz ułatwia jej pełne zrozumienie i zasługuje na wysoką ocenę.

Na podstawie przeglądu literatury, przedstawionego w pierwszej części pracy, Pani Iwona Popiołek postanowiła wnieść swój wkład w rozwój nowych nośników substancji aktywnych bazujących na kationowo modyfikowanych cyklodekstrynach. Należy tu podkreślić nowatorski charakter zaplanowanych badań, gdyż najczęściej badanymi układami są hydroksylowe bądź anionowe pochodne cyklodekstryn. **Część eksperymentalna** liczy ponad 100 stron i składa się z 15 rozdziałów. Doktorantka kolejno przedstawia etapy swojej pracy rozpoczynając od syntezy kationowo modyfikowanych cyklodekstryn, otrzymanych poprzez nukleofilową substytucję wybranych diamin (etylenodiaminę, 1,3-propylenodiaminę oraz 1,4-butylenodiaminę). Otrzymane kationowe pochodne cyklodekstryn charakteryzuje metodami fizykochemicznymi, wyznacza stopień podstawienia cyklodekstryn przeprowadzając analizę elementarną, FTIR, czy NMR. Po analizie fizykochemicznej przeprowadza pierwsze testy biologiczne w tym testy mukoadhezywności, odporności na działanie enzymu  $\alpha$ -amylazy, oraz testy cytotoksyczności. Pani Iwona Popiołek wykazała, że kationowe pochodne cyklodekstryn są bezpieczne dla żywych komórek, mukoadhezywne oraz odporne na  $\alpha$ -amylazę.

**Do tej części pracy mam jedno pytanie, a właściwie prośbę o próbę wyjaśnienia różnicy odporności cyklodekstryn przed i po modyfikacji na trawienie  $\alpha$ -amylazą.**

Bazując na zdobytej wiedzy, w kolejnych rozdziałach, Pani Iwona przedstawia wyniki badań kompleksów cyklodekstryn z wybranymi czynnikami aktywnymi. W obszarze badań znalazły się Daidzeina, Genisteina, Kwercetyna, Berberyina, Molizyna oraz dwa komercyjne leki: Aripiprazol i Bikalutamid. Doktorantka wykazała, że kompleksy wybranych substancji aktywnych (Daidzeina, Genisteina, Kwercetyna, Berberyina) były lepiej rozpuszczalne w wodzie niż wolne formy leków, poprawiła się również penetracja przez sztuczne błony lipidowe. Badane flawonoidy w formie skompleksowanej z kationowo modyfikowanymi



cyklodekstrynami w odniesieniu do form wolnych ich odpowiedników wykazywały lepsze działanie antyproliferacyjne czy ochronne przed promieniowaniem UV (Daidzeina i Berberyna), podobne działanie przeciwuczkrycowe (Berberyna), czy też słabsze działanie przeciw wolnym rodnikom tlenowym (Berberyna). Najwięcej uwagi Pani Iwona poświęciła kompleksowi Daidzeiny z cyklodekstryną podstawioną etylenodiaminą. Dla tego układu przeprowadziła bardzo ciekawe badania farmakokinetyczne (in vivo), a otrzymane wyniki porównała z wolną formą Daidzeiny. Substancje: Molizyna, Aripiprazol i Bicalutamid nie tworzyły kompleksów inkluzyjnych z kationowo modyfikowanymi cyklodekstrynami. Lektura tej części pracy nasunęła mi następujące pytanie:

**- dlaczego nie zaobserwowano różnicy w absorpcji wolnej oraz skompleksowanej Diadzeiny przez komórki nowotworowe, mimo że różnica taka była widoczna w teście PAMPA?**

Kolejny rozdział zatytułowany jest Podsumowanie i wnioski. W rozdziale tym Pani Iwona Popiołek zebrała i podsumowała wszystkie otrzymane wyniki, przeprowadziła również ich dyskusję. Bazując na swojej pracy Pani Iwona Popiołek wykazała, że kationowo modyfikowane cyklodekstryny (głównie poprzez podstawienie etylenodiaminy) mogą być alternatywnymi nośnikami wybranych substancji aktywnych.

Dopiero po podsumowaniu i wnioskach znajduje się rozdział zawierający opis stosowanych metod oraz wykaz użytych materiałów. W opinii recenzenta ten rozdział lepiej umieścić na początku części doświadczalnej, gdyż znajomość przedstawionych w nim technik czy metod jest niezbędna do analizy i pełnego zrozumienia przedstawianych wyników. Jest to oczywiście uwaga, która w żadnym stopniu nie obniża bardzo wysokiej oceny recenzowanej pracy.

Podsumowując, Doktorantka w swojej pracy dokonała analizy obecnego stanu wiedzy, postawiła sobie ambitne cele naukowe, a uzyskane wyniki pozwoliły na ich zrealizowanie. Praca Pani mgr Iwony Popiołek została zaplanowana i zrealizowana w sposób profesjonalny, a drobne uwagi nie mają wpływu na jej bardzo wysoką wartość naukową. Należy tutaj podkreślić, że jest to praca interdyscyplinarna, łącząca w sobie chemię, fizykę, biologię czy farmakologię, a taka praca wymagała od Doktorantki umiejętności poruszania się na pograniczu kilku



Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni  
im. Jerzego Habera  
Polskiej Akademii Nauk



dyscyplin, z czym Pani Iwona doskonale sobie poradziła. Uważam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim, w związku z czym wnoszę o dopuszczenie Pani Iwony Popiołek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Niniejszym stwierdzam, że praca stanowi kompendium wiedzy o wysokich walorach poznawczych i praktycznych, dlatego wnoszę, by uznać pracę doktorską p. lek. med. Iwony Popiołek za wyróżniającą, jeżeli wymagania Jednostki na to zezwalają.

Dr hab. Krzysztof Szczepanowicz, prof. IKiFP

