



WARSZAWSKI  
UNIwersYTET  
MEDYCZNY

KATEDRA I ZAKŁAD CHEMII FARMACEUTYCZNEJ I BIOMATERIAŁÓW

Warszawa, 04.02.2026

**Recenzja rozprawy doktorskiej  
mgr Dariusza Boczara**

**pt. „Otrzymywanie formy leku o polepszonych właściwościach  
fizykochemicznych na przykładzie antybiotyku  
z grupy cefalosporyn V generacji”**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pana mgr Dariusza Boczara została wykonana pod kierunkiem dr hab. n. farm. Katarzyny Michalskiej, prof. NIL w Narodowym Instytucie Leków. Praca dotyczy opracowania nowego systemu dostarczania leku w postaci kompleksu aktywnej formy ceftobiproflu z cyklodekstrynami. Tematyka dysertacji mieści się w obrębie jednej z tematów badawczych realizowanych z sukcesem od wielu lat w macierzystym zespole. Badania opisane w tej pracy były realizowane w ramach tematów badawczych finansowanych z dotacji ministerialnych: DS1/2021, DS1/2022, DS1/2023, DS1/2024 oraz DS1/2025.

**Wybór tematyki i jej nowatorstwo.** Problematyka leków przeciwbakteryjnych pozostaje jednym z najważniejszych wyzwań współczesnej farmacji, przy jednoczesnym wyraźnym spowolnieniu rozwoju nowych antybiotyków. Wysokie koszty badań, ograniczona opłacalność terapii krótkotrwałych oraz narastająca oporność drobnoustrojów powodują, że liczba nowo wprowadzanych substancji przeciwbakteryjnych jest niewystarczająca w stosunku do potrzeb klinicznych. W tej sytuacji szczególnie uzasadnione stają się badania ukierunkowane na poprawę właściwości fizykochemicznych już zatwierdzonych substancji farmakologicznie czynnych (API), prowadzące do zwiększenia ich skuteczności terapeutycznej i bezpieczeństwa stosowania. Podjęta w rozprawie doktorskiej tematyka wpisuje się w aktualne kierunki badań farmaceutycznych i stanowi racjonalną odpowiedź na istotne potrzeby współczesnej terapii przeciwbakteryjnej. Wybór przez Doktoranta ceftobiproflu jako modelowej API do badań modyfikacyjnych jest w pełni uzasadniony. Jest to antybiotyk  $\beta$ -laktamowy należący do grupy cefalosporyn V generacji, który charakteryzuje się zadowalającą aktywnością przeciwdrobnoustrojową, ale niestety

pomimo korzystnego profilu aktywności biologicznej wykazuje ograniczenia wynikające z jego właściwości fizykochemicznych, tj. niskiej rozpuszczalności w wodzie (ok. 0,05 mg/ml), co przekłada się na jego słabą biodostępność. Z tego względu lek został wprowadzony do obrotu w postaci proleku – soli sodowej medokarylu ceftobiprołu – charakteryzującej się znacząco lepszą rozpuszczalnością, umożliwiającą jego stosowanie w postaci roztworu do infuzji. Skuteczność terapeutyczna tej formy leku jest jednak uzależniona od sprawności procesów enzymatycznej biotransformacji *in vivo*, które mogą wykazywać istotną zmienność osobniczą, zależną m.in. od wieku i stanu zdrowia pacjenta. Powyższe uwarunkowania dodatkowo uzasadniają potrzebę poszukiwania alternatywnych strategii poprawy właściwości fizykochemicznych ceftobiprołu, niewymagających etapu metabolicznej aktywacji, co stanowi racjonalne i aktualne uzasadnienie podjętej w rozprawie problematyki badawczej. Wybór przez mgr Boczara cyklodekstryn jako związków gospodarzy do tworzenia kompleksów z ceftobiprolem również należy uznać za w pełni uzasadniony. Cyklodekstryny, powszechnie stosowane w farmacji jako substancje pomocnicze, wykazują udokumentowaną zdolność do poprawy rozpuszczalności, stabilności, spowolnienie degradacji, poprawę przepuszczalności przez błony biologiczne, modyfikację profilu uwalniania leku czy też maskowanie gorzkiego smaku API. Ich szerokie zastosowanie w zarejestrowanych produktach leczniczych dodatkowo potwierdza zasadność wykorzystania tej strategii w badaniach nad modyfikacją właściwości ceftobiprołu, ukierunkowanych na zwiększenie jego potencjału terapeutycznego.

**Forma pracy i wkład Autora.** Praca doktorska przedstawiona do recenzji ma formę przewodnika po cyklu trzech publikacji eksperymentalnych opublikowanych w *International Journal of Molecular Sciences* oraz jednej przeglądowej w *Pharmaceutics*, w czasopismach otwartego dostępu, wydawanych przez MDPI. Sumaryczny IF publikacji wyniósł 20.8, a suma punktów MNiSW wyniosła 520. Należy podkreślić, iż we wszystkich tych pracach Doktorant jest pierwszym autorem, a w ostatniej z 2025 roku również autorem korespondującym. Pomimo braku dołączonych oświadczeń można wnioskować z „*Author Contributions*” zamieszczonych w publikacjach, że udział mgr Boczara był znaczący i nie budzi żadnych wątpliwości. Należy podkreślić szczególnie znaczny udział mgr Boczara w powstaniu wyników opublikowanych w publikacji 3, dotyczących znalezienia optymalnych warunków tworzenia kompleksu ceftobiprołu z CD oraz oszacowania entalpii swobodnej Gibbsa jego tworzenia. Poza tym Doktorant otrzymał wszystkie diskutowane systemy oraz przeprowadził ich charakterystykę. Brał też udział w tworzeniu koncepcji prac oraz publikacji wyników. W dysertacji nie znalazłam informacji dotyczącej pełnego dorobku naukowego Doktoranta, nie ma też informacji o prezentacji wyników badań na konferencjach. Sprawdzając profil ORCID Doktoranta można dowiedzieć się, iż oprócz czterech publikacji wchodzących w skład rozprawy, mgr Boczar jest współautorem sześciu innych publikacji – opublikowanych w *Molecules*, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, *Applied Sciences*, *Other* czy *Structural Chemistry*.

Rozprawę doktorską Pana mgr Boczara stanowi 70 stronicowe opracowanie zredagowane w języku polskim, które zawiera 7 rysunków, 2 tabele oraz 66 odnośników literaturowych. Praca ma układ klasyczny, rozpoczyna się od streszczenia, następnie napisane jest 11-stronicowe wprowadzenie, cel pracy (2 strony), opis użytych materiałów i stosowanych metod (8 stron), omówienie i dyskusja wyników (23 strony), podsumowanie cyklu publikacji (3 strony) oraz wykaz cytowanej literatury (5 stron). Dysertacja zawiera również spis treści, wykaz skrótów, *abstract* w języku angielskim i pełno tekstowe artykuły, na podstawie których została ona przygotowana.

**Zawartość merytoryczna.** W części literaturowej Doktorant opisał kluczowe zagadnienia, które są pomocne w zrozumieniu hipotez i wyników przedstawionych w rozprawie, a mianowicie: (1) cyklodekstryny jako nośniki leku, (2) ceftobiprol jako substancja modelowa, (3) zastosowanie chromatografii cieczowej i spektrometrii mas w analizie farmaceutycznej, (4) techniki obliczeniowe służące do znajdowania najkorzystniejszych warunków tworzenia kompleksu z cyklodekstrynami oraz (5) sposoby otrzymywania i badania kompleksów z cyklodekstrynami. Część literaturowa zawiera wiele interesujących informacji i przeczytałam ją z dużym zaciekawieniem. Jest napisana w sposób przejrzysty, ale jednocześnie nie traci na jakości naukowej. Taki sposób prezentacji świadczy o dogłębnym zrozumieniu tematyki i umiejętności spojrzenia na nią w szerszej perspektywie, co oceniam pozytywnie. Cennym uzupełnieniem części literaturowej jest praca przeglądowa dotycząca kompleksów CD z antybiotykami i chemioterapeutykami przeciwbakteryjnymi, w kontekście zastosowań związanych z dostarczaniem leków, która w momencie pisania niniejszej recenzji miała już 86 cytowań. W części literaturowej szczególnie podobał mi się opis opracowania nowej metody chromatograficznej służącej do określenia stabilności chemicznej wybranego API, poprzez wyznaczenie kinetyki jego degradacji. Natomiast część dotycząca wykorzystania metod obliczeniowych w celu znalezienia najbardziej korzystnych warunków tworzenia kompleksu z API jest, moim zdaniem, najmniej przejrzysta, co zapewne wynika z tego, że Doktorant jest specjalistą w tej dziedzinie i uznał niektóre informacje za zbyt oczywiste.

Prace eksperymentalne zostały dobrze przemyślane i zaplanowane. W pierwszej kolejności Doktorant opracował nową, selektywną metodę HPLC/UV, która pozwala na rozdzielenie ceftobiprołu od jego produktów degradacji i produktów ubocznych syntezy oraz na badanie kinetyki degradacji, określenie stałych szybkości reakcji w różnych warunkach oraz wyznaczenie energii aktywacji dla reakcji termolitycznych. Zaproponował także struktury produktów degradacji i produktów ubocznych syntezy w oparciu o tandemową spektrometrię mas (LC-MS/MS). Następnie przy użyciu metod obliczeniowych oszacował wartości pKa grup funkcyjnych w cząsteczce ceftobiprołu i zaproponował dominujące stany sprotonowania przy różnych wartościach pH, które były pomocne w przeprowadzeniu symulacji dynamiki molekularnej prowadzącej do ustalenia geometrii kompleksów ceftobiprołu z CD i obliczenia  $\Delta G$  tworzenia kompleksu. Aby móc otrzymać i scharakteryzować nowe systemy dostarczania ceftobiprołu, stosując

liofilizację i używając kwasów, różniących się stanem skupienia oraz mocą. A na koniec zbadać ich rozpuszczalność, profil zanieczyszczeń oraz stabilność chemiczną przy użyciu opracowanej przez siebie metody HPLC. Doktorantowi udało się osiągnąć zamierzony cel pracy i wytypować najlepszy pod względem właściwości fizykochemicznych system zawierający ceftobiprol/kwas maleinowy/SBE- $\beta$ -CD w stosunku molowym 1:25:4, umożliwiającą uzyskanie rozpuszczalności ceftobiprołu w czasie „0” na poziomie 14 mg/ml, co oznacza ponad 300-krotną poprawę jego rozpuszczalności. System ten charakteryzuje się także akceptowalną długoterminową stabilnością. W pełni podzielałam stanowisko mgr Boczara, iż przedstawiona rozprawa prezentuje spójną i dobrze uzasadnioną metodykę umożliwiającą opracowanie systemu dostarczania leku o poprawionej rozpuszczalności. Zaproponowane podejście ma charakter uniwersalny i może znaleźć zastosowanie w przypadku substancji czynnych o charakterze amfoterycznym lub zasadowym, pod warunkiem ich stabilności chemicznej w środowisku kwasowym. Należy podkreślić, że taka koncepcja ma istotną wartość aplikacyjną i wpisuje się w aktualne potrzeby rozwoju nowoczesnych postaci leku.

Nie mam uwag co do zawartości merytorycznej pracy ani do dyskusji czy podsumowania. Zresztą wartość merytoryczna wyników znalazła już potwierdzenie i uznanie w procesie recenzji publikacji. Natomiast czytając tę pracę nasunęło mi się kilka pytań, które chętnie przedyskutowałabym z Doktorantem. Chciałabym zaznaczyć, że pytania te nie są zarzutami, ale doprecyzowaniem informacji.

Nie zauważyłam ani w dysertacji, ani w publikacji przeprowadzonych analiz termicznych. A należy zauważyć, że pochodne  $\beta$ -cyklodekstryny charakteryzują się znaczną zdolnością do wiązania wody, a proces liofilizacji nie zawsze prowadzi do jej całkowitego usunięcia. W tym kontekście analizy DSC i TG liofilizatów mogłyby dostarczyć cennych informacji umożliwiających rozróżnienie efektów wynikających z rzeczywistego kompleksowania od zmian związanych z amorfizacją lub obecnością wody resztkowej. Czy Doktorant mógłby się odnieść do mojego komentarza?

Do potwierdzenia otrzymanych kompleksów wykorzystano NMR w roztworze oraz ATR-FTIR. Czy na tej podstawie można w pełni uzasadnić wnioski o powstaniu kompleksu w fazie stałej? Czy Doktorant mógłby wyjaśnić, dlaczego nie zdecydował się na zastosowanie spektroskopii NMR w ciele stałym, która jest szeroko uznawana za najskuteczniejszą metodę do jednoznacznego potwierdzania inkluzji w takich systemach?

W dysertacji Doktorant miejscami stosuje pojęcie „piku” w odniesieniu do widm FTIR oraz dyfraktogramów proszkowych (strona 28, 29, 61). Z punktu widzenia poprawnej terminologii spektroskopowej i krystalograficznej bardziej adekwatne byłoby używanie odpowiednio terminów „pasma (absorpcyjne)” w przypadku FTIR oraz „refleks (dyfrakcyjny)” w przypadku PXRD, gdyż lepiej oddają one fizyczną naturę obserwowanych zjawisk. Ujednolicenie nomenklatury w tym zakresie zwiększyłoby precyzję opisu i formalną poprawność pracy.

Na stronie 38 Autor używa sformułowania „struktury podstawionych cyklodekstryn (HP- i SBE- $\beta$ -CD) stworzono ręcznie”, które jest niejednoznaczne i wymaga wyjaśnienia. Czy Doktorant mógłby się odnieść do tego stwierdzenia?

Dysertacja została przygotowana starannie pod względem edytorskim i posiada ładną szatę graficzną. Z uwagi na pełnioną przeze mnie funkcję recenzenta jestem zobowiązana do wskazania dostrzeżonych uchybień. Doktorantowi nie udało się całkowicie uniknąć drobnych pomyłek, obejmujących błędy językowe, edytorskie oraz interpunkcyjne. Należy jednak podkreślić, że mają one charakter nieliczny i nie wpływają na ogólną wartość pracy. Poniżej przedstawiam wybrane przykłady, np.:

Str.49. „...odciąganiem elektronów przez aromatyczny pierścienia tiadiazolu...”;

Str. 58. „...roztworów w przed liofilizacją...”;

Str. 61. „...że nie może on podany doustnie, a jedynie pozajelitowo...”;

Podsumowując, uważam, że praca doktorska mgr Dariusza Boczara bez wątplenia spełnia wymogi dotyczące stopnia doktora nauk farmaceutycznych. Doktorant wykazał się bardzo dobrym przygotowaniem merytorycznym, bardzo dobrą jakością pracy eksperymentalnej oraz umiejętnością analizy danych. Uzyskał wyniki wnoszące znaczny wkład w rozwój dziedziny naukowej wykorzystując szerokie spektrum metod, czym udowodnił swoje kompetencje jako doświadczonego badacza. Dlatego wnoszę do Rady Naukowej Narodowego Instytutu Leków o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Uwzględniając bardzo wysoki poziom naukowy rozprawy doktorskiej, oryginalność uzyskanych wyników oraz dorobek publikacyjny Doktoranta, którego łączny współczynnik oddziaływania (Impact Factor) publikacji stanowiących podstawę dysertacji wynosi 20.8, co spełnia kryteria wyróżnienia określone w regulaminie obowiązującym w Narodowym Instytucie Leków, wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej **summa cum laude**.

Edyta Pindelska