



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM

Kraków, 7 stycznia 2026r.

Recenzja

Rozprawy doktorskiej Pana mgr Dariusza Boczara

Zatytułowanej

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

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska, której promotorem jest dr hab. n. farm. Katarzyna Michalska, prof. NIL, została przygotowana w Narodowym Instytucie Leków.

Podstawą opracowania recenzji jest Uchwała nr 38/2025 Rady Naukowej Narodowego Instytutu Leków z dnia 16 października 2025r.

Odkrycie antybiotyków to jedno z najważniejszych osiągnięć współczesnej medycyny. Niestety wykształcanie nowych mechanizmów oporności bakterii stanowi obecnie jedno z istotnych zagrożeń dla zdrowia publicznego i sprawia, że wiele antybiotyków staje się nieskutecznymi. Dlatego istnieje potrzeba poszukiwania nowych związków chemicznych o aktywności przeciwbakteryjnej lub stosowanie nowych strategii polegających na poszukiwaniu synergistycznych oddziaływań pomiędzy dostępnymi antybiotykami. Innym podejściem zmierzającym do pokonania mechanizmów oporności wykształconych przez bakterie a co za tym idzie, o większej skuteczności klinicznej i bezpieczeństwie stosowania jest modyfikowanie znanych już antybiotyków poprzez tworzenie nowych form leku o poprawionych właściwościach fizykochemicznych tj. polepszenie rozpuszczalności, stabilności chemicznej czy farmakokinetyki.

Tematyka recenzowanej rozprawy doktorskiej stanowi odpowiedź na pojawiające się zapotrzebowanie i doskonale wpisuje się w ten aktualny trend poszukiwania nowych strategii terapeutycznych.

Na osiągnięcie zgłoszone przez Doktoranta składają się cztery prace opublikowane w latach 2022-2025 w zagranicznych czasopismach naukowych znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) o łącznym, imponującym współczynniku oddziaływania 20,8, co odpowiada punktom MNiSW 520. Rozprawa doktorska została przygotowana w formie komentarza do cyklu spójnych tematycznie manuskryptów, w skład którego wchodzi następujące pozycje:

- D. Boczar, K. Michalska. *Cyclodextrin Inclusion Complexes with Antibiotics and Antibacterial Agents as Drug-Delivery Systems—A Pharmaceutical Perspective*. *Pharmaceutics* 2022, 14, 1389. DOI: 10.3390/pharmaceutics14071389
IF = 5,4, 100 pkt MNiSW



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM

- D. Boczar, K. Bus, K. Michalska. *Study of Degradation Kinetics and Structural Analysis of Related Substances of Cefotaxime by HPLC with UV and MS/MS Detection*. Int. J. Mol. Sci. 2022, 23, 15252. DOI: 10.3390/ijms232315252
IF = 5,6, 140 pkt MNiSW
- D. Boczar, K. Michalska, *Investigation of the Affinity of Cefotaxime for Selected Cyclodextrins Using Molecular Dynamics Simulations and HPLC*. Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 16644. DOI: 10.3390/ijms242316644
IF = 4,9, 140 pkt MNiSW
- D. Boczar, W. Bocian, J. Sitkowski, K. Pioruńska, K. Michalska. *Development of a Cyclodextrin-Based Drug Delivery System to Improve the Physicochemical Properties of Cefotaxime as a Model Antibiotic*. Int. J. Mol. Sci. 2025, 26, 5953. DOI: 10.3390/ijms26135953
IF = 4,9 na rok 2024, 140 pkt MNiSW

Publikacja wyników prac będących tematem doktoratu w recenzowanych czasopismach; pierwsza w Pharmaceutics, a kolejne trzy w International Journal of Molecular Sciences (kwartył Q1, wydawnictwo MDPI), o obiegu międzynarodowym świadczy o wysokim poziomie naukowym badań, poprawności merytorycznej i zainteresowaniu tematem. Wobec wartościowego dorobku publikacyjnego, zadanie Recenzenta staje się więc w pewnym stopniu formalnością.

Artykuły są dwu- lub wieloautorskie, a Doktorant jest pierwszym autorem we wszystkich pracach oraz autorem korespondencyjnym w jednej z nich, co wskazuje na Jego wiodący wkład w odniesieniu do części eksperymentalnej jak i omówienia czy też dyskusji wyników. Niestety, w dokumentacji Doktorant nie zamieścił oświadczeń współautorów o ich wkładzie do danej pracy.

Tytuł dysertacji jest adekwatny do metodologii pracy eksperymentalnej, przedstawionych rezultatów badań i dyskusji wyników zawartej w publikacjach. Kolejność publikowanych pozycji wskazuje na bardzo dobry plan działań naukowych, podczas gdy jakość merytoryczna prezentacji wyników zasługuje na wysokie uznanie.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi opracowanie liczące 70 stron, do którego został dołączony cykl 4 publikacji w tym 1 przeglądowej (Publikacja 1) i 3 eksperymentalnych (Publikacje 1 – 3). Dysertacja obejmuje wykaz publikacji składających się na cykl rozprawy doktorskiej, streszczenia w języku polskim oraz angielskim, wykaz skrótów oraz łącznie 7 rozdziałów tj. wprowadzenie, cel pracy, materiały i metody obejmujące badania eksperymentalne i obliczeniowe, omówienie i dyskusję wyników, podsumowanie cyklu publikacji, wykaz literatury cytowanej w opisie rozprawy oraz kopie publikacji składających się na rozprawę doktorską. Dysertacja zawiera 66 pozycji literaturowych, starannie dobranych i pochodzących w większości z ostatnich lat, a wymienionych wg kolejności cytowania w treści rozprawy.

Część teoretyczna (wprowadzenie) zawiera pięć podrozdziałów, w których Doktorant kolejno opisuje rolę cyklodekstryn jako nośników leku, omawia wybraną do badań substancję modelową w postaci przedstawiciela cefalosporyn V generacji - cefotaximu, przybliży zasady i potencjalne zastosowanie chromatografii cieczerwowej i spektrometrii mas w analizie



UNIwersytet Jagielloński COLLEGIUM MEDICUM

farmaceutycznej oraz wykorzystanie technik obliczeniowych do projektowania optymalnych kompleksów API z cyklodekstrynami, opisuje również metody otrzymywania tych kompleksów, a także metody ich analizy. Przedstawione zagadnienia stanowią uzasadnione wprowadzenie, potwierdzone danymi z piśmiennictwa.

W rozdziale „Cel pracy” Doktorant klarownie zaprezentował zarówno cel główny jak i cele szczegółowe, które zaplanowano do realizacji w ramach kolejnych publikacji. Cel pracy został jasno i szczegółowo sprecyzowany, a zadanie postawione przed Doktorantem ambitne obejmowało opracowanie nowej formy leku z wykorzystaniem jako substancji modelowej ceftobiprolu, słabo rozpuszczalnej w wodzie, amfoterycznej i chemicznie stabilnej w środowisku kwasowym cefalosporyny V generacji.

Kolejny rozdział „Materiały i metody” zawiera prezentację metodyki eksperymentalnych oznaczeń obejmującą min. badania degradacji ceftobiprolu w roztworze wodnym (hydroliza kwasowa, zasadowa, utlenianie, fotoliza, termoliza), badanie wpływu rodzaju użytej CD na rozpuszczalność ceftobiprolu, badanie rozpuszczalności oraz stabilności chemicznej liofilizowanych systemów dostarczania antybiotyku. Opisano również warunki chromatograficzne przeprowadzenia analiz HPLC/UV, LC-MS/MS, NMR i ATR-FTIR oraz XRPD, a także omówiono przeprowadzone badania obliczeniowe obejmujące techniki dokowania oraz symulacje dynamiki molekularnej.

W części „Omówienie i dyskusja wyników” przedstawiona została problematyka opisana w kolejnych publikacjach wchodzących w skład cyklu. W recenzowanej rozprawie doktorskiej zaproponowano innowacyjne podejście zmierzające do uzyskania poprawy właściwości fizykochemicznych ceftobiprolu, oparte na opracowaniu nowego systemu dostarczania w postaci kompleksu z cyklodekstryną.

W ramach Publikacji 1 dokonano analizy dostępnej literatury naukowej obejmującej 261 pozycji, w szeroko pojętej tematyce kompleksów cyklodekstryn z antybiotykami i chemioterapeutykami przeciwbakteryjnymi w aspekcie ich biodostępności obejmujących parametry tj. poprawa rozpuszczalności, modyfikacja profilu uwalniania leku, spowolnienie degradacji, poprawa przenikalności przez błony biologiczne, czy zwiększenie aktywności przeciwbakteryjnej. Uwagę poświęcono również trójskładnikowym układom z substancjami pomocniczymi oraz zaawansowanym układom dostarczania leków (nanogąbki, nanowłókna, nanocząstki, mikrocząstki, liposomy, hydrożele i makrocząstki), które pozwalają na modyfikację profilu uwalniania w zależności od pożądanych właściwości produktu leczniczego. Otrzymywanie form leku o przedłużonym uwalnianiu pozwala na kontrolowane uwalnianie, wydłużając krążenie ogólnoustrojowe i pozwalając na projektowanie spersonalizowanych terapii.

Szczególnie wartościową częścią jest wprowadzenie, wynikające ze szczegółowego studium literatury, dotyczącego braku prób poprawy właściwości fizykochemicznych ceftobiprolu, co jednocześnie stanowi uzasadnienie dla podjętych kierunków badawczych.

Kolejne publikacje (Publikacje 2-4) obejmują prezentację przeprowadzonych badań eksperymentalnych.



UNIwersytet Jagielloński COLLEGIUM MEDICUM

W ramach Publikacji 2 zaprezentowano opracowaną metodę HPLC/UV dedykowaną do równoczesnego oznaczania ceftobiprolu, produktów ubocznych syntezy oraz produktów jego degradacji uzyskanych na drodze hydrolizy kwasowej i zasadowej, utleniania, fotolizy i termolizy. Przeprowadzono badania kinetyczne (wyznaczono stałe szybkości reakcji oraz energie aktywacji), które potwierdziły niską stabilność antybiotyku w roztworach alkalicznych, w obecności utleniacza oraz podczas napromieniowania światłem UV, natomiast w środowisku o odczynie kwasowym stwierdzono wyższą stabilność antybiotyku. Ponadto, wykorzystując tandemową spektrometrię mas (LC-MS/MS) zaproponowano 13 struktur produktów degradacji i produktów ubocznych syntezy.

Trzecia z publikacja cyklu (Publikacja 3) opisuje rezultaty symulacji przeprowadzonych dla kompleksów ceftobiprolu w trzech stanach sprotonowania (niezjonizowany, sprotonowany, jon obojnaczy) z trzema cyklodekstrynami (β -CD, HP- β -CD, SBE- β -CD) w dwóch przeciwnych orientacjach cząsteczki ceftobiprolu względem cyklodekstryny, z wykorzystaniem techniki dokowania oraz dynamiki molekularnej. Stwierdzono, że z termodynamicznego punktu widzenia najbardziej stabilny kompleks tworzy się między anionowym sulfobutylovym eterem β -CD (SBE- β -CD) a kationowym, sprotonowanym ceftobiprolem w środowisku kwasowym (pH poniżej 3). Przeprowadzone analizy eksperymentalne wykazały istotny wpływ SBE- β -CD na właściwości fizykochemiczne ceftobiprolu. Dodanie 10 mM SBE- β -CD do roztworu ceftobiprolu (o stężeniu 1 mg/ml w 0,1 M HCl) zwiększyło rozpuszczalność 1,5-krotnie i zmniejszyło stałą szybkości degradacji 2,5-krotnie.

Ostatnia publikacja z cyklu prac (Publikacja 4) dotyczy badań prowadzonych dla nowych systemów dostarczania ceftobiprolu w postaci stałej, które uzyskano w wyniku liofilizacji z dodatkiem SBE- β -CD w obecności wybranych kwasów różniących się stanem skupienia oraz mocą. Badania rozpuszczalności antybiotyku w utworzonych kompleksach, ustalanie profilu zanieczyszczeń oraz badania długoterminowej stabilności chemicznej podczas przechowywania przeprowadzono przy pomocy uprzednio opracowanej metody chromatografii cieczonej (HPLC/UV) (Publikacja 2). W celu potwierdzenia utworzenia związku kompleksowego między ceftobiprolem a SBE- β -CD wykorzystano techniki spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) oraz spektroskopii w podczerwieni (ATR-FTIR), natomiast do badań stabilności fizycznej w trakcie ich wielomiesięcznego przechowywania wykorzystano rentgenowską dyfraktometrię proszkową (XRPD). W efekcie przeprowadzonych eksperymentów zaproponowano formę leku do podania pozajelitowego. Jako optymalne rozwiązanie wybrano kwas maleinowy zapewniający poprawę rozpuszczalności (ok. 300-krotną) ceftobiprolu w układzie ceftobiprol/kwas maleinowy/SBE- β -CD (w stosunku molowym 1:25:4) oraz stabilność fizykochemiczną do ośmiu miesięcy (temperatura $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Stwierdzono, że przy pH powyżej 4,5 opracowany system dostarczania antybiotyku w jego aktywnej formie wykazuje podobną rozpuszczalność i pH do komercyjnie dostępnego preparatu zawierającego prolek ceftobiprolu w formie soli sodowej medokarylu.

Prezentacja wyników badań zestawionych w cyklu czterech publikacji jest adekwatnym studium podsumowującym uzyskane wyniki.

W rozdziale „Podsumowanie cyklu publikacji” Autor w zwięzły sposób prezentuje wyniki i wnioski z przeprowadzonych eksperymentów w odniesieniu do artykułów



UNIwersytet Jagielloński COLLEGIUM MEDICUM

wchodzących w skład dysertacji wskazując na najważniejsze osiągnięcia, istotnie dla tematyki doktoratu i jednoznacznie potwierdzające jej aktualność i atrakcyjność. Doktorant proponuje metodologię pozwalającą na otrzymywanie systemu dostarczania o poprawionej rozpuszczalności dla ceftobiprolu, która jednocześnie może być zaadaptowana dla innych substancji czynnych, wykazujących właściwości amfoteryczne lub zasadowe i która jest jednocześnie stabilna w środowisku kwasowym.

Podsumowując tę część mojej oceny, stwierdzam, że Doktorant w pełni zrealizował założony cel pracy, dobrał właściwe metody badawcze, w przemyślany sposób zinterpretował uzyskane wyniki, a także poprawnie sformułował wnioski. Wszystkie artykuły wchodzące w skład recenzowanej dysertacji są napisane w sposób przejrzysty, zastosowane metody opisane w prawidłowy sposób, a prezentowane wyniki nie budzą żadnych zastrzeżeń. Prace stanowiące niniejszą rozprawę są tematycznie spójne i szczegółowo opracowane, a wysoki IF wskazuje, że badania zostały właściwie zaplanowane i przeprowadzone oraz prezentują wysoki poziom naukowy. Manuskrypty przedstawione do oceny jako rozprawa doktorska były już poddane weryfikacji przez niezależnych recenzentów w renomowanych międzynarodowych czasopismach naukowych i stanowią istotny wkład w rozwój dyscypliny naukowej.

Dysertacja zawiera wszystkie wymagane elementy rozprawy doktorskiej, a ponadto osiągnięty został jej cel aplikacyjny. Doktorant udowodnił, poprzez konsekwentne przeprowadzenie szeregu eksperymentów badawczych, że założony cel główny rozprawy doktorskiej jakim było opracowanie nowej formy leku z wykorzystaniem jako substancji modelowej ceftobiprolu jest możliwy i daje szansę na wykorzystanie praktyczne.

Chciałabym podkreślić, że pracę od strony merytorycznej oceniam zdecydowanie pozytywnie, w szczególności w zakresie eksperymentalnym. Realizacja założonego celu wymagała od Doktoranta kompetencji oraz dużego doświadczenia. Warsztat analityczny zawarty w recenzowanej dysertacji jest niezwykle bogaty, a podjęta tematyka wymagała opanowania umiejętności łączenia różnych technik analitycznych i planowania kolejnych działań oraz konsekwentnej realizacji założonego planu.

Z prawa recenzenta do zadawania pytań proszę o odniesienie do kwestii: (i) jakie kryteria kierowały Doktorantem przy wyborze analogu cefemu, (ii) str. 6 „Wykonane badania kinetyczne wykazały niską stabilność ceftobiprolu w roztworach alkalicznych, w obecności utleniacza i podczas napromieniowania próbek z użyciem bliskiego UV, a *względnie wysoką stabilność* w środowisku o odczynie kwasowym” co Autor miał na myśli używając tego sformułowania?, (iii) str. 63 Doktorant zamieszcza konkluzję w odniesieniu do opracowanej metody HPLC/UV: „Opracowana metoda z pewnością będzie stanowiła skuteczne narzędzie do precyzyjnego oznaczania stężenia natywnego ceftobiprolu w różnych zastosowaniach, nie ograniczających się jedynie do badań nad nowymi systemami dostarczania leku”. Autorzy skupili się jedynie na optymalizacji warunków selektywnego oznaczania substancji czynnej obok produktów degradacji. Przydatnym byłoby przeprowadzenie walidacji opracowanej metody szczególnie w aspekcie zakresu liniowości oraz wyznaczenia granic wykrywalności i oznaczalności (LOD i LOQ).

Powyższe uwagi nie umniejszają wysokiej oceny i nie zmieniają mojej bardzo pozytywnej opinii o prezentowanej rozprawie doktorskiej.



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM

Podsumowując, przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr Dariusza Boczara „Otrzymywanie formy leku o polepszonych właściwościach fizykochemicznych na przykładzie antybiotyku z grupy cefalosporyn V generacji” prezentuje oryginalne oraz wartościowe opracowanie i odpowiada wymogom stawianym tego typu opracowaniom na stopień doktora nauk farmaceutycznych. Recenzowana rozprawa spełnia wymogi formalne i warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024r. poz.1571). Tym samym wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Narodowego Instytutu Leków o jej przyjęcie i dopuszczenie Pana mgr Dariusza Boczara do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę innowacyjny charakter opracowania, a także wysoką wartość uzyskanych wyników, ze względów poznawczych, a zwłaszcza aplikacyjnych oraz dorobek naukowy Doktoranta (4 artykuły naukowe, sumaryczny IF 20,8), kieruję wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr Dariusza Boczara.

Dr hab. n. farm. Monika Dąbrowska

Katedra Chemii Nieorganicznej
i Analizy Farmaceutycznej L. O.
Zakład Chemii Nieorganicznej

dr hab. Monika Dąbrowska
adiunkt