

Dr hab. Beata Sadowska, prof. UŁ

Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej

Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii

Uniwersytet Łódzki

ul. Banacha 12/16

90-237 Łódź

e-mail: beata.sadowska@biol.uni.lodz.pl

Łódź, 15. 05. 2021 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr farm. Michała Abendrota

pt.: „Związki kompleksowe cynku z aminokwasami jako składniki aktywne preparatów dermatologicznych”

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska została wykonana przez mgr farm. Michała Abendrota w Zakładzie Chemii Surowców Kosmetycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, pod kierunkiem dr hab. n. farm. Urszuli Kalinowskiej-Lis, prof. UM. Recenzję wykonałam w oparciu o uchwałę Rady Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi na podstawie pisma Przewodniczącej w. w. Rady Prof. dr hab. Anny Kilanowicz-Sapota z dnia 26 marca 2021 roku oraz dostarczonego egzemplarza pracy doktorskiej.

Charakterystyka tematyki pracy doktorskiej

Według szacunkowych danych epidemiologicznych aż do 85% populacji młodzieży i tzw. młodych dorosłych jest dotkniętych zmianami trądzikowymi, co czyni trądzik pospolity (ang. *acne vulgaris*) jedną z najczęstszych chorób skóry. Patofizjologia zmian obejmujących ujścia gruczołów łojowych i mieszki włosowe jest ściśle powiązana z nadprodukcją sebum i zachwianiem homeostazy mikrobioty skóry, która w sposób nadmierny rozwija się i kolonizuje ujścia mieszków włosowych w postaci wielogatunkowych biofilmów. Mechanizmy leżące u podstaw zmian trądzikowych są złożone, włączając w to zindywidualizowany skład mikrobiomu skórniego, zmiany hormonalne zachodzące w organizmie, nawyki żywieniowe, a nawet rejon zamieszkania i nie zostały jeszcze do końca poznane. Dobrym przykładem na ewolucję myślenia na temat zmian trądzikowych jest zmiana postrzegania roli, jaką może odgrywać *Cutibacterium acnes* (wcześniej znany jako *Propionibacterium acnes*) – drobnoustroju, który do niedawna wskazywany był jako jedyny czynnik etiologiczny trądziku. Obecnie wiadomo, iż z uwagi na udział w naturalnej mikrobiocie skóry drobnoustroje te faktycznie stanowią znaczący składnik biofilmów patologicznych rozwijających w obrębie

mieszków włosowych w przebiegu zmian trądzikowych, ale nie jedyny. Co więcej, podkreśla się także rolę *C. acnes* w ochronie przed patogenami w związku z właściwościami metabolicznymi tych drobnoustrojów. Bakterie te hydrolizują trójglicerydy w sebum, prowadząc do uwalniania kwasów tłuszczowych, które wykazują aktywność przeciwdrobnoustrojową i regulują pH skóry tworząc lekko kwaśne środowisko. Te złożone oddziaływania gospodarz-patogen i wieloczynnikowa etiologia zmian trądzikowych znacząco utrudniają ich leczenie. Praktycznie konieczne jest indywidualne podejście do każdego przypadku i dobór strategii leczniczej obejmującej zarówno preparaty o aktywności przeciwdrobnoustrojowej, jak i preparaty regulujące gospodarkę hormonalną czy posiadające właściwości immunomodulujące. Zważywszy na trwający już od kilku lat impas antybiotykoterapii i stale rosnącą populację szczepów lekoopornych, niezwykle ważnym wydaje się poszukiwanie nowych (spoza grupy antybiotyków) produktów leczniczych o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych, a najlepiej o wielokierunkowym działaniu, obejmującym zarówno aktywność biostatyczną/biobójczą, jak i regulacyjną w stosunku do komórek pacjenta. **W tym kontekście wyznaczony cel przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej, sformułowany następująco: „opracowanie nowych preparatów o działaniu przeciwtrądzikowym zawierających jako składniki aktywne związki z grupy kompleksów cynku z aminokwasami” (str. 8) uważam za ważny, zarówno z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia.**

Formalna ocena pracy doktorskiej

Praca doktorska Pana mgr farm. Michała Abendrota została zrealizowana i przedstawiona jako cykl trzech spójnych tematycznie publikacji, w tym dwóch prac doświadczalnych i jednej pracy przeglądowej opublikowanych na łamach czasopism z listy filadelfijskiej:

Publikacja [P1]: Abendrot M., Płuciennik E., Felczak A., Zawadzka K., Piątczak E., Nowaczyk P., Kalinowska-Lis U.: Zinc(II) complexes of amino acids as new active ingredients for anti-acne dermatological preparations. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 1641. doi.org/10.3390/ijms22041641; IF = 4.556, 140 pkt. MNiSW

Publikacja [P2]: Abendrot M., Chęcińska L., Kusz J., Lisowska K., Zawadzka K., Felczak A., Kalinowska-Lis U.: Zinc(II) complexes with amino acids for potential use in dermatology: synthesis, crystal structures, and antibacterial activity. *Molecules*, 2020, 25(4): 951. doi:10.3390/molecules25040951; IF = 3.267, 100 pkt. MNiSW

Publikacja [P3]: Abendrot M., Kalinowska-Lis U.: Zinc-containing compounds for personal care applications. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2018, 40(4): 319-327. doi: 10.1111/ics.12463; IF = 1.481, 20 pkt. MNiSW

We wszystkich pracach mgr farm. Michał Abendrot jest pierwszym autorem, co w przypadku prac doświadczalnych zwyczajowo wskazuje na osobę pełniącą wiodącą rolę w wykonaniu badań laboratoryjnych i analizie uzyskanych wyników. Ponieważ jednak wszystkie prace są wieloautorskie zabrakło mi w recenzowanej dysertacji oświadczeń współautorów o procentowym udziale każdego z nich, a zwłaszcza pierwszego autora, w powstaniu tych publikacji. Proszę Doktoranta o podanie tych informacji w trakcie publicznej obrony. Pozwolę sobie również zwrócić uwagę, iż istotność publikacji stanowiących trzon rozprawy doktorskiej wymaga podania pełnej listy współautorów (niezależnie od ich liczby) w przygotowanym spisie, czego nie uczyniono w przypadku publikacji [P2] (str. 3).

Format recenzowanej pracy jest typowy dla rozpraw doktorskich powstałych w oparciu o cykl publikacji naukowych. Załączone kopie publikacji będących podstawą rozprawy poprzedza wprowadzenie Autora obejmujące: wykaz publikacji wraz z podanymi wartościami współczynnika oddziaływania *Impact Factor* (IF) i liczbą punktów ministerialnych czasopism; wykaz skrótów; uzasadnienie podjętej tematyki badawczej; cele naukowe pracy; skrótkowo przedstawioną metodykę badań oraz uzyskane wyniki i dyskusję; podsumowanie osiągniętych wyników; perspektywy i plany na przyszłość; streszczenie w języku polskim i angielskim; podziękowania oraz piśmiennictwo obejmujące 98 pozycji literatury związanych z zakresem tematycznym rozprawy. Nie podano natomiast we wprowadzeniu informacji na temat innych publikacji Doktoranta (nie wchodzących w zakres rozprawy doktorskiej), co umożliwiłoby recenzentom szerszy wgląd w aktywność naukową Kandydata.

Wprowadzenie Autora napisane jest poprawnie stylistycznie językiem, choć nie udało się uniknąć pewnych niefortunnnych sformułowań i drobnych błędów edytorskich, których przykłady podaję poniżej:

- brak unifikacji formy edytorskiej listy publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej (str. 3)
- w wykazie skrótów (tabela na str. 4) niefortunnie pozostawiono w rozwinięciu pięciu nazw związków kompleksowych wyraz „kwas” (np. ZnGly - związek kompleksowy cynku(II) z kwasem glicyną)
- „w Pracowni Spektroskopii ... Uniwersytetu Łódzkiego Uniwersytetu Łódzkiego” (str. 9) – zbędne powtórzenie
- „dla badanych związków..” (str. 11) – podwójna kropka
- „infekcji układowych (oddechowych, moczowych) (str. 17) – raczej układu oddechowego, moczowego
- warto zrezygnować ze stosowania starszego i obecnie już nie zaleconego określenia „mikroflora” na rzecz mikrobiota / mikrobiom
- legenda pod Tabelą 3 „test Kal-Wallisa Krusa” (str. 21) zamiast Test Kruskala-Wallisa
- wcześniejsza nazwa *Cutibacterium acnes* to *Propionibacterium acnes*, a nie *Proprionibacterium*, jak podano w publikacji [P1] (str. 2); podobnie poprawna jest nazwa *Candida parapsilosis*, a nie *Candida parapsylosis* (publikacja [P1], str. 6, 10)

Ocena merytoryczna pracy doktorskiej

Celem badań zaplanowanych do realizacji w ramach przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej była synteza związków kompleksowych cynku z wybranymi aminokwasami (kwasem L-glutaminowym, glicyną, L-histydyną, L-proliną, L-metioniną i L-tryptofanem), poznanie ich właściwości w kontekście potencjalnego zastosowania jako związków czynnych w leczeniu trądziku pospolitego oraz opracowanie na bazie wybranych kompleksów formułacji preparatów dermatologicznych. Praca przeglądowa [P3], w której szeroko omówiono właściwości biologiczne związków zawierających cynk stosowanych w produktach kosmetycznych, zwracając między innymi uwagę na ich aktywność antyoksydacyjną, przeciwzapalną, przeciwdrobnoustrojową czy przeciwtrądzikową, stanowi bardzo dobry wstęp teoretyczny do zaplanowanych badań. Z uwagi na profil prac badawczych wykonanych w ramach recenzowanej rozprawy doktorskiej, zakres zagadnień omówionych przez Autora w uzasadnieniu podjętej tematyki został również dobrze dobrany. Jednak w kontekście złożoności mechanizmów, które doprowadzają do rozwoju zmian trądzikowych i wieloczynnikowej etiologii tych zmian, pewien niedosyt budzą informacje z tego zakresu podane na str. 5. Nieco więcej szczegółów zostało zawartych we wstępie publikacji [P1] oraz w publikacji przeglądowej [P3]. Niemniej jednak proszę Doktoranta o szerszą wypowiedź w trakcie publicznej obrony na temat czynników etiologicznych trądziku pospolitego.

W kolejnych etapach zrealizowanych prac badawczych opracowano metody syntezy 6 związków kompleksowych cynku z aminokwasami, dokonano charakterystyki ich struktury z zastosowaniem nowoczesnych metod, takich jak spektroskopia protonowego magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR) czy analiza rentgenowska monokryształów (XRD), oceniono aktywność przeciwdrobnoustrojową tych kompleksów oraz przeprowadzono badanie ich cytotoksyczności w stosunku do komórek eukariotycznych. Na zakończenie na bazie wybranych, najbardziej obiecujących pod względem właściwości związków kompleksowych cynku (ZnGly i ZnHis) przygotowano gotowe formułacje preparatów dermatologicznych oraz oceniono ich podstawowe parametry fizykochemiczne i właściwości biologiczne, obejmujące badanie stabilności, czystości mikrobiologicznej, aktywności biobójczej układu konserwującego oraz potencjalnych właściwości drażniących i alergizujących. Koncepcja pracy, którą skrótowo można ująć „od badań podstawowych do gotowego produktu”, została więc bardzo dobrze przemyślana i jest w pełni zrozumiała.

Syntezy związków kompleksowych cynku z aminokwasami dokonywano dwoma metodami w zależności od rozpuszczalności reagentów i ostatecznych produktów w wodzie. Stosowano reakcję wodnej zawiesiny wodorotlenku cynku z wodnym roztworem odpowiedniego aminokwasu do syntezy kompleksów dobrze rozpuszczalnych (ZnGlu, ZnGly, ZnHis i ZnPro) oraz reakcję chlorku cynku z solą sodową danego aminokwasu do syntezy kompleksów trudno rozpuszczalnych w wodzie (ZnMet i ZnTrp). Jako jeden z atutów zastosowania tej metodyki Autor podaje brak obecności w składzie cząsteczkowym

kompleksów innych ligandów niż aminokwasy, a zwłaszcza nieorganicznych przeciwjonów, takich jak Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , które mogłyby stanowić potencjalny czynnik drażniący skórę. Niemniej jednak w przypadku syntezy kompleksów z wykorzystaniem metody drugiej jony Cl^- są obecne w środowisku reakcji. Ostatecznie produkt uboczny reakcji – NaCl , oddzielano od związku kompleksowego dzięki dobrej rozpuszczalności w wodzie, ale chciałabym zapytać czy wykonane analizy, w tym analiza elementarna na obecność C, H i N, z całą pewnością pozwalają wykluczyć obecność jonów Cl^- w otrzymanej masie produktu jako zanieczyszczenia związków kompleksowych ZnMet i ZnTrp ?

Na podstawie wyników badań prowadzonych z wykorzystaniem nowoczesnych metod analitycznych, takich jak analiza pierwiastkowa, spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR) czy analiza rentgenowska monokryształów, zaproponowano wzory strukturalne otrzymanych związków kompleksowych. Zarówno metodykę, jak i wyniki tych badań szczegółowo przedstawiono w publikacji [P2]. W pięciu z sześciu badanych kompleksów zakłada się tworzenie wiązań koordynacyjnych z Zn poprzez grupy funkcyjne aminokwasów (aminową $-\text{NH}_2$ i karboksylową $-\text{COOH}$). Jedynie w kompleksie z His w tworzeniu tych wiązań bierze udział grupa aminowa i azot w strukturze pierścienia imidazolu. Co, zdaniem Autora, w tym przypadku przesądziło o odmiennej „reaktywności” histydyny?

Z racji mojej specjalizacji ze szczególną uwagą prześledziłam przeprowadzone badania mikrobiologiczne obejmujące ocenę aktywności przeciwdrobnoustrojowej badanych kompleksów, określenie czystości mikrobiologicznej gotowych preparatów dermatologicznych oraz wykonany dla nich test konserwacji. Analiza tych wątków pracy nasunęła mi kilka uwag i pytań, które kieruję do Autora. Przede wszystkim pozwolę sobie zwrócić uwagę na zupełnie nieadekwatne przypisanie wirulencji i przedstawienie w podrozdziale „Realizacja celów naukowych – wyniki i dyskusja” (str. 17) oraz w publikacji [P2] udziału badanych gatunków gronkowców w zmianach chorobowych. Charakterystyka jednego z najczęstszych patogenów człowieka – gronkowców złocistych (*Staphylococcus aureus*), którego szczepy wielolekooporne MRSA (ang. *methicillin-resistant S. aureus*) i VRSA (ang. *vancomycin-resistant S. aureus*) znajdują się na liście patogenów alarmowych, przedstawiona w sposób następujący: cyt. „jest składnikiem naturalnej mikroflory skóry człowieka, ale w pewnych warunkach może nadmiernie kolonizować skórę i tkanki miękkie, powodując zakażenia, wypryski skórne czy nasilenie zmian atopowego zapalenia skóry” (str. 17) i podobnie w publikacji [P2] na str. 3, jest zbyt daleko idącym niedopowiedzeniem. Wspomnę jedynie, iż *S. aureus* jest czynnikiem etiologicznym m.in. tak poważnych, zagrażających życiu zakażeń, jak czyraki/czyracznosc mnoga, martwicze zapalenie powięzi, ropnie narządowe, zapalenie kości i szpiku, infekcyjne zapalenie wsierdza, sepsa czy zespół wstrząsu toksycznego. Nieporozumieniem, zwłaszcza wobec powyższego, jest zaliczenie w kolejnym zdaniu przytoczonego opisu gronkowca naskórkowego – *S. epidermidis*, będącego faktycznym składnikiem mikrobioty skóry człowieka, do patogenów często izolowanych ze zmian skórnych i ran, na równi z chorobotwórczymi paciorkowcami ropotwórczymi grupy A - *Streptococcus pyogenes*.

Aktywność przeciwdrobnoustrojową syntezowanych kompleksów cynku z aminokwasami oceniano w stosunku do dość szerokiego panelu drobnoustrojów, obejmującego szczepy referencyjne bakterii: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cutibacterium acnes* oraz grzybów: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Aspergillus flavus* i *Aspergillus fumigatus*. O ile wybrane do badań szczepy bakterii i grzybów drożdżakowych nie budzą większych zastrzeżeń (choć szczepy patogene *E. coli* wiąże się przede wszystkim z zakażeniami układu moczowego i pokarmowego, a nie zakażeniami skóry), o tyle proszę Pana mgr farm. Michał Abendrota o wyjaśnienie przyczyn włączenia do grupy badanych mikroorganizmów także grzybów strzępkowych z rodzaju *Aspergillus*. Wyniki badań aktywności przeciwdrobnoustrojowej kompleksów cynku z aminokwasami zawarto w obu publikacjach oryginalnych [P1] i [P2]. Wykazano aktywność przeciwbakteryjną badanych kompleksów, przy czym była ona znacznie słabiej wyrażona wobec *S. aureus*, *E. coli* i *P. aeruginosa*, dla których to drobnoustrojów nie udało się ustalić wartości minimalnego stężenia hamującego wzrost (MIC) w zakresie badanych stężeń preparatów. Na podstawie analizy uzyskanych wyników wpływu kompleksów na wzrost mikroorganizmów testowych ostrożniej formułowałabym twierdzenia ogólne typu: „kompleks ZnMet (5) posiada wyższą aktywność niż substancja referencyjna- ZnPCA” (przypis. 2-pirolidyno-5-karboksylan cynku(II)). W oparciu o uzyskane wartości MIC można jedynie mówić o wyższej aktywności danego kompleksu wobec konkretnych szczepów (w przypadku ZnMet wobec *S. epidermidis* i *S. pyogenes*). Badane kompleksy nie wykazywały również działania przeciwgrzybiczego. Niemniej jednak na szczególną uwagę zasługują kompleksy z glicyną, metioniną i histydyną (ZnGly, ZnMet, ZnHis) aktywne w zakresie stężeń często niższych niż substancja referencyjna wobec *C. acnes* i *S. epidermidis* czyli dwóch drobnoustrojów wskazywanych jako dominujące w przypadku trądziku pospolitego. Biorąc pod uwagę tworzenie w obrębie zakażonych mieszków włosowych biofilmów tych drobnoustrojów, które jako złożone struktury o odmiennej od form planktonowych fizjologii, wykazują podwyższoną tolerancję na działanie fizycznych i chemicznych czynników zewnętrznych, warto byłoby kontynuować badania wskazanych kompleksów także w kontekście ich działania przeciwbiofilmowego.

Bardzo ważnym elementem badań, zwłaszcza w kontekście potencjalnego zastosowania kompleksów cynku z aminokwasami jako substancji czynnych w preparatach do użytku powierzchniowego, była ocena ich cytotoksyczności w stosunku do komórek prawidłowych skóry – keratynocytów i fibroblastów. Szkoda jedynie, że zarówno w skrótovej prezentacji wyników we wprowadzeniu Autora, jak i w opublikowanej pracy [P1], w której prezentowano wyniki tych badań, nie pokuszono się o przeliczenie stężeń (rozumiane jako zunifikowanie jednostek) uzyskanych zarówno przy ocenie cytotoksyczności (wartości IC₅₀ podano w µM), jak i aktywności przeciwdrobnoustrojowej (wartości MIC podano w mg/L). W badaniach z tego zakresu nie chodzi bowiem tylko i wyłącznie o porównanie stężeń aktywnych nowych związków do stężeń preparatu referencyjnego, ale także, a może nawet przede wszystkim, o stwierdzenie czy stężenia efektywne (w tym przypadku wyznaczone stężenia bakteriostatyczne kompleksów) będą równocześnie bezpieczne (niecytotoksyczne) dla


komórek eukariotycznych. Tym samym proszę Doktoranta o dokonanie stosownych przeliczeń i pokazanie zestawienia tych wartości w trakcie publicznej obrony.

W ostatnim etapie badań, na bazie wybranych związków kompleksowych przygotowano preparaty dermatologiczne oraz dokonano oceny ich podstawowych właściwości fizykochemicznych, sprawdzono czystość mikrobiologiczną i działanie układu konserwującego, a także wykonano testy płatkowe z udziałem zdrowych wolontariuszy w celu sprawdzenia potencjalnych drażniących i alergicznych reakcji kontaktowych. Badania dotyczące czystości mikrobiologicznej i aktywności gotowych preparatów w układach biologicznych zostały wykonane przez podmiot zewnętrzny (dr Nowaczyk Centrum Badań i Innowacji Sp. z o.o.). Zastosowaną metodykę oraz uzyskane wyniki w sposób szczegółowy przedstawiono w publikacji [P1]. Biorąc pod uwagę aktywność przeciwdrobnoustrojową kompleksów cynku z aminokwasami, ich cytotoksyczność oraz rozpuszczalność w wodzie słuszenie do tego etapu wytypowano dwa spośród sześciu pierwotnie badanych związków - kompleks cynku z glicyną (ZnGly) i z histydyną (ZnHis), przygotowując dwa preparaty czynne (określone odpowiednio A i B) oraz jeden preparat pozbawiony substancji czynnej (preparat C) pełniący rolę placebo. Na uwagę zasługuje opracowanie oryginalnej receptury preparatów w formie żelu, co stanowi niewątpliwe ukoronowanie badań podstawowych prowadzonych we wcześniejszych etapach pracy i bardzo dobry punkt startowy do komercjalizacji efektów tych badań. Pragnę podkreślić, iż z należytą starannością i dbałością o wymagania skóry trądzikowej zaproponowano formułację preparatów dermatologicznych w postaci żeli pozbawionych fazy tłuszczowej, zastosowano 1% Euxyl jako preparat konserwujący o niskim potencjale uczulającym oraz karagen (mieszaninę polisacharydów otrzymywanych z morskich czerwonych alg) jako substancję żelującą posiadającą dodatkowo właściwości przeciwzapalne. W tym miejscu pragnę zapytać czy podyktowana koniecznością uzyskania odpowiedniego pH produktów tak różna w poszczególnych preparatach A-C zawartość masowa 2,5% roztworu kwasu cytrynowego (odpowiednio 14,8; 22,7 i 0,5 g) mogła mieć wpływ na właściwości fizykochemiczne i biologiczne przygotowanych żeli, np. odmienną lepkość tych preparatów (choć Autor słuszenie sugeruje wpływ przede wszystkim obecności związków kompleksowych na lepkość żeli) czy aktywność przeciwbakteryjną (czy znana jest lub wcześniej oceniano aktywność przeciwdrobnoustrojową samego kwasu cytrynowego dodanego do obojętnego rozpuszczalnika w założonych zawartościach masowych)? Stężenie związków kompleksowych jako substancji czynnych w przygotowanych preparatach pomysłowo dobrano w oparciu o ekwiwalent molowy cynku zawartego w 1% związku referencyjnym ZnPCA. Uzyskane wówczas stężenia 0,66% i 1,27%, odpowiednio dla ZnGly i ZnHis, wielokrotnie przewyższają wyznaczone wartości MIC dla *C. acnes* (100 i 125 mg/l). Zgadzam się, że gwarantuje to aktywność gotowych preparatów w zakresie eliminacji tych drobnoustrojów, ale chciałabym zapytać mgr farm. Michała Abendrota o bezpieczeństwo ich stosowania czyli proszę o porównanie dobranych stężeń ostatecznych kompleksów cynku w preparatach żelowych do wskazanych wcześniej zakresów stężeń niecytotoksycznych tych związków dla komórek eukariotycznych. Tym bardziej, że nie oceniano już cytotoksyczności gotowych żeli.

Istotnym elementem badań przygotowanych produktów była ocena ich czystości mikrobiologicznej, którą prawidłowo dokonano w dr Nowaczyk Centrum Badań i Innowacji Sp. z o.o. w oparciu o wskazane normy PN-EN ISO. W opracowanych preparatach (A-C) nie wykryto drobnoustrojów patogennych, takich jak *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans*, zatem żele spełniły kryteria czystości mikrobiologicznej przewidziane dla produktów kosmetycznych. Wyniki tych badań zamieszczono w publikacji [P1]. Za cenne uważam dołączenie do tej publikacji, jako materiałów dodatkowych, protokołów z badań czystości mikrobiologicznej dla poszczególnych preparatów (Supplementary Materials: Test reports S1–S3). Zgodnie z obowiązującymi w Unii Europejskiej rozporządzeniami, dla opracowanych żeli (A-C) wykonano również test konserwacji (tzw. Challenge Test) w celu określenia stabilności mikrobiologicznej tych preparatów w okresie potencjalnej przydatności do użytku. Test ten pozwala ocenić prawidłowość doboru substancji konserwującej, której aktywność powinna zabezpieczać kosmetyk przed wtórną kontaminacją i rozwojem drobnoustrojów w trakcie przechowywania i używania kosmetyku. We wszystkich badanych preparatach (A-C) uzyskano najwyższy stopień redukcji drobnoustrojów wskaźnikowych wprowadzanych testowo do produktu, zatem potwierdzono najwyższą skuteczność wybranego środka konserwującego (mieszanina fenoksyetanol : etyloheksylogliceryna w stosunku 9:1). Szkoda natomiast, iż nie wykonano badań dotyczących skuteczności biostatycznej/biobójczej w stosunku do *C. acnes* i *S. epidermidis* preparatów w pełnych formułacjach oraz preparatów pozbawionych substancji konserwujących, co pozwoliłoby ocenić faktyczną aktywność przeciwdrobnoustrojową gotowych produktów i wnioskować o możliwych efektach wzajemnego oddziaływania wszystkich składników żeli. Sugestie mgr farm. M. Abendrota na temat możliwości prowadzenia dalszych badań w tym kierunku (podrozdział wprowadzenia „Perspektywy i plany na przyszłość”), wskazują na pełną świadomość Autora pewnych niedostatków analiz aktywności biologicznej przygotowanych produktów dermatologicznych. Rozważania te znalazły również swoje odbicie w publikacji [P1] stanowiącej wraz z dwoma pozostałymi trzon recenzowanej rozprawy doktorskiej.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pana mgr farm. Michała Abendrota spełnia wszystkie wymogi formalne i merytoryczne stawiane rozprawom na stopień naukowy doktora określone w Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Tym samym wnoszę do Rady Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr farm. Michała Abendrota do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. B. Sadowska, prof. UŁ