

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Macieja Nowaka

pt.: „Polimorfizm flukonazolu i jego kontrola w nośnikach o znaczeniu farmaceutycznym – badania preformulacyjne”

Recenzja rozprawy doktorskiej została wykonana na podstawie uchwały nr 67/2023 z dnia 26 października 2023 r. Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Rozprawę doktorską oceniłam pod kątem spełnienia wymagań wskazanych w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2022 poz. 574 ze zm.).

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pana mgr. Macieja Nowaka została zrealizowana na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, w Katedrze i Zakładzie Technologii Postaci Leku. Promotorem rozprawy jest Pani dr hab. Bożena Karolewicz, prof. uczelni. Rolę opiekuna naukowego pełnił Pan dr. hab. Karol Nartowski.

Rozprawa doktorska ma układ charakterystyczny dla rozpraw opartych na zbiorze publikacji i liczy 174 stron. Jest napisana w sposób logiczny i konsekwentny. Rozpoczyna się od wykazu publikacji wchodzących w skład pracy doktorskiej, następnym elementem rozprawy jest wprowadzenie, przedstawienie celu i założeń oraz omówienie wykorzystywanych materiałów i metod. Kolejna część stanowi syntetyczne omówienie publikacji będących efektem rozprawy doktorskiej z załączonymi po nim kopiami publikacji i przedstawienie końcowych wniosków. Ostatnia część rozprawy zawiera spis literaturowy, streszczenie w języku polskim, jak i wymagane ustawowo, w języku angielskim oraz dotychczasowy dorobek naukowy Doktoranta. Praca zawiera dodatkowo załączniki - oświadczenia Doktoranta jak i poszczególnych współautorów publikacji określające indywidualny wkład merytoryczny każdego z nich w ich powstawanie. Współautorzy również wydali oświadczenia o wyrażeniu zgody na przedłożenie odpowiedniej publikacji jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie cyklu prac opublikowanych w czasopismach naukowych. Załączone oświadczenia wkładu merytorycznego współautorów potwierdzają wiodącą rolę Doktoranta w tworzeniu koncepcji tematyki badawczej, planowaniu i przeprowadzaniu doświadczeń, interpretacji wyników i przygotowaniu

oryginalnych wersji manuskryptów, co jednoznacznie podkreśla wysokie zaangażowanie Doktoranta w poszczególne etapy przygotowania prac.

Rozprawa doktorska jest oparta na trzech publikacjach oryginalnych o łącznym współczynniku oddziaływania Impact Factor wynoszącym 17,021 i liczbą punktów MEiN równą 340. Publikacje ukazały się w latach 2020, 2022 i 2023, są wieloautorskie i w każdym z nich Pan mgr Maciej Nowak jest pierwszym autorem. Należy zwrócić uwagę, że wszystkie czasopisma, a wśród nich głównie: *Molecular Pharmaceutics (American Chemical Society)*, *International Journal of Pharmaceutics (Elsevier)* to prestiżowe czasopisma z obszaru nauk farmaceutycznych o uznanej renomie. Całkowity dorobek naukowy Pana mgr. Macieja Nowaka jest również warty podkreślenia. Łączny współczynnik oddziaływania IF wynosi 29,438 i liczba punktów MEiN to 828. Ponadto Doktorant brał udział w czterech projektach naukowych, jako kierownik w dwóch, finansowanych w ramach subwencji konkursowej ze środków Uniwersytetu Wrocławskiego i jako członek w pozostałych, finansowanych odpowiednio ze środków Narodowego Centrum Nauki oraz Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Stanowi to wystarczające dla recenzenta potwierdzenie dużej aktywności i dojrzałości naukowej Doktoranta. Zabrakło mi jedynie podania indeksu Hirscha Doktoranta jak i precyzyjnego wskazania, czy projekt doktorski był finansowany i z jakich środków?

Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Występowanie polimorfizmu, czyli zdolności substancji do występowania w stałym stanie skupienia, w co najmniej dwóch formach krystalicznych, jest bardzo ważną cechą każdej substancji leczniczej. Wiedza na temat właściwości polimorficznych substancji leczniczych we wczesnym okresie badań nad produkcją leku pozwala uniknąć wielu pomyłek zarówno podczas produkcji leku jak i jego rejestracji. Kontrola nad przebiegiem procesu krystalizacji substancji leczniczej o odpowiedniej morfologii kryształów, daje możliwość otrzymania produktu o ściśle powtarzalnych - określonych właściwościach fizycznych i chemicznych. Dlatego zrozumienie mechanizmów odpowiedzialnych za wzrost i stabilność fazową określonych odmian polimorficznych substancji leczniczych jest niezmiernie ważnym i trudnym zadaniem, którego podjął się Doktorant.

W badaniach przedstawionych w rozprawie doktorskiej Doktorant podjął próbę kontroli polimorfizmu oraz zrozumienia mechanizmów odpowiedzialnych za wzrost i stabilność określonych

odmian polimorficznych modelowej substancji leczniczej - flukonazolu. Wykorzystał w tym celu trzy metody: klasyczną krystalizację flukonazolu z użyciem rozpuszczalników organicznych, otrzymanie stałych rozprożeń flukonazolu w matrycy polimerowej oraz wykorzystanie materiałów o kontrolowanym rozmiarze porów w celach badań przemian fazowych flukonazolu w ograniczeniu przestrzennym. W 13 stronicowym wprowadzeniu Doktorant opisał syntetycznie i bardzo czytelnie wszystkie trzy wyżej wymienione metody wykorzystując znaczną ilość - 116 doniesień literaturowych. Wskazuje to na bardzo dobre teoretyczne przygotowanie Doktoranta do realizacji swoich celów i zadań badawczych. Wybór flukonazolu, substancji przeciwgrzybiczej, pochodnej triazolu, jako modelowej substancji leczniczej został również bardzo dobrze uzasadniony. Doktorant wybrał tę substancję ze względu na dużą swobodę konformacyjną wynikającą z występujących sześciu wiązań w jej strukturze, które mogą ulegać swobodnej rotacji. Dodatkowo przez obecność atomów fluoru, możliwe było wykonanie analizy ciała stałego za pomocą ^{19}F MAS NMR, co zdecydowanie poszerzyło wiedzę na temat możliwości występowania flukonazolu w różnych formach polimorficznych. Doktorant także podkreślił, że otrzymane przez Niego wyniki dla flukonazolu mogą posłużyć w celach porównawczych dla innych substancji z grupy pochodnych triazolu o podobnej strukturze.

Szczegółowe cele i zadania badawcze, które były przedmiotem trzech publikacji naukowych należących do cyklu prezentowanego w rozprawie, są następujące:

- otrzymywanie i identyfikacja nowych form krystalicznych flukonazolu z użyciem rozpuszczalników organicznych oraz zrozumienie wpływu rozpuszczalników organicznych, wody i warunków krystalizacji na przemiany fazowe flukonazolu,
- otrzymywanie stałych rozprożeń flukonazolu w amfifilowym kopolimerze Soluplus® oraz analiza wpływu matrycy polimerowej, metody otrzymywania i zawartości flukonazolu na proces jego krystalizacji,
- otrzymywanie mezoporowatych materiałów krzemionkowych typu MCM-41, SBA-15 i MCF różniących się powierzchnią właściwą, średnicą i objętością porów zawierających flukonazol oraz analiza wpływu ograniczenia przestrzennego i zawartości flukonazolu na występowanie formy amorficznej lub odmian polimorficznych flukonazolu.

Należy podkreślić, że realizacja poszczególnych zadań badawczych była możliwa jedynie przy zastosowaniu wielu narzędzi analitycznych wykorzystywanych do badań ciała stałego, takich jak

proszkowa dyfraktometria rentgenowska, dyfraktometria rentgenowska pojedynczego kryształu, spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera, spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego w ciele stałym, skaningowa kalorymetria różnicowa, termograwimetria, niskotemperaturowa adsorpcja azotu. Chciałabym podkreślić, że wytypowanie do badań wymienione techniki analityczne świadczą o dobrym analitycznym przygotowaniu Doktoranta do badań, co znalazło odzwierciedlenie w prawidłowo sformułowanych wnioskach oraz dyskusji z przedstawieniem również dalszych, koniecznych badań pogłębiających wiedzę.

Dokonany opis poszczególnych publikacji przez Doktoranta w rozprawie doktorskiej pozwala czytelnikowi zapoznać się z ogólną koncepcją, przebiegiem procesu badawczego i najważniejszymi wynikami. Zauważyłam, że niektóre terminy są bezpośrednio tłumaczone z j. angielskiego i mogą być odbierane przez czytelnika jako edytorskie niedociągnięcia, dlatego obowiązkiem recenzenta jest wymienienie niektórych z nich np. „załadunek leku”, „enkapsulacja leku”, „osadzanie leku”, czy też „powierzchnia porów” zamiast średnica lub objętość porów. Są to oczywiście niewielkie błędy, które wynikają z tego, że wiele z anglojęzycznych terminów nie ma odpowiedników w języku polskim. Wspomniane błędy językowe nie mają wpływu na wysoki poziom merytoryczny recenzowanej rozprawy.

W publikacji I *“Directing crystallization outcomes of conformationally flexible molecules: polymorphs, solvates, and desolvation pathways of fluconazole”*, *Molecular Pharmaceutics*, 2022, *Molecular Pharmaceutics*, 2022, vol. 19, nr 2, s. 456-471, Doktorant udowodnił, że kontrolowanie warunków krystalizacji z roztworu flukonazolu oraz krystalizacji metodą zawiesinową przy użyciu 14 rozpuszczalników organicznych pozwoliły na kontrolę przemian fazowych flukonazolu. Doktorant zaprojektował ścieżki krystalizacji dla czterech różnych odmian polimorficznych flukonazolu oraz dla dziewięciu solwatów. Zdecydowanie jest to praca, która może być źródłem koncepcji dotyczących potencjalnych ścieżek krystalizacji flukonazolu. Warto podkreślić, że Doktorant otrzymał po raz pierwszy dwa typy izostrukuralnych solwatów flukonazolu w odpowiednio zastosowanych rozpuszczalnikach organicznych, które mam nadzieję będą w przyszłości zawarte w bazie krystalograficznej *Cambridge Structural Database*. Doktorant również zidentyfikował hydraty flukonazolu w zależności od aktywności wody w odpowiednim roztworze organicznym, dlatego chciałam się dopytać Doktoranta, czy Jego zdaniem woda będzie miała większą rolę w stabilizacji sieci krystalicznej flukonazolu w porównaniu do otrzymanych czystych solwatów?

W publikacji II „*Stabilisation and growth of metastable form II of fluconazole in amorphous solid dispersions*”, *Pharmaceutics*, 2020, vol. 12, nr 1, art. 12, Doktorant przedstawił możliwości otrzymywania stabilnych stałych rozprożeń flukonazolu w polimerze amfifilowym Soluplus® za pomocą metody stapiania, jak i suszenia rozpyłowego. Udowodnił występowanie stabilnej formy amorficznej flukonazolu przy zawartości nieprzekraczającej 30% mas. w polimerze. Chciałabym podkreślić, że wyniki tej pracy mają zdecydowany aspekt poznawczy i aplikacyjny w projektowaniu nowych nośników leku dla flukonazolu.

W publikacji III „*Probing fluconazole deposition inside mesoporous silica using solid-state NMR spectroscopy: Crystallization of a confined metastable form and phase transformations under storage conditions*”, *International Journal of Pharmaceutics*, 2023, 645, art.123403, Doktorant otrzymał mezoporowate materiały krzemionkowe typu MCM-41, SBA-15 i MCF o różnej porowatości i zawierające odpowiednie ilości flukonazolu wykorzystując metodę stapiania. Zidentyfikował flukonazol w porach materiałów w trzech odmiennych lokalnych środowiskach molekularnych, mianowicie w fazie powierzchniowej, amorficznej i krystalicznej za pomocą analizy spektroskopowej ¹⁹F MAS NMR. Uważam, że wykorzystanie takiego narzędzia analitycznego jest nowatorskim podejściem w badaniach ciała stałego na poziomie molekularnym. Dlatego chciałabym zapytać się Doktoranta w jakiej formie występują cząsteczki flukonazolu przy powierzchni porów materiałów krzemionkowych, ponieważ nazwa powierzchniowa sugeruje jedynie miejsce ich występowania, oraz jakie oddziaływania powierzchniowe mogą występować między flukonazolem a powierzchnią materiałów krzemionkowych?

Doktorant zbadał również wpływ wody zawartej w porach materiałów krzemionkowych na przemiany fazowe flukonazolu poprzez przeprowadzanie procesów hydratacji/dehydratacji. Zaobserwowane odwracalne zmiany pod wpływem ww. procesów w ilościowym rozkładzie fazy powierzchniowej flukonazolu Doktorant zinterpretował jako występowanie silniejszych oddziaływań powierzchniowych grup silanolowych materiałów krzemionkowych z cząsteczkami wody w porównaniu z cząsteczkami flukonazolu. Chciałabym poznać zdanie Doktoranta na temat innego czynnika, który również może wpływać na otrzymany wynik. Znane jest zjawisko, że w kapilarach lub mikroporach, takich jakie są obecne w mezoporowatych materiałach krzemionkowych, może dochodzić do skraplania wody, nawet w wyniku jej absorpcji z powietrza. Czy jest możliwe, że pod wpływem wody zachodzi przemiana fazowa flukonazolu w roztwór ze względu na jego odpowiednią rozpuszczalność w wodzie?

Pragnę dodać, że przedstawione powyżej pytania do Doktoranta nie umniejszają w żaden sposób wartości pracy i wynikają z czystej ciekawości naukowej. Jednocześnie chciałabym podkreślić, że poziom naukowy przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej spełnia, a nawet znacząco przekracza wymagania stawiane przez Radę Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Podsumowując oceniana rozprawa doktorska autorstwa mgr. Macieja Nowaka spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z 14 marca 2002 roku o stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 roku poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179 ust. 2 i 3 Ustawy z 3 lipca 2018 roku Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.). W związku z powyższym wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy mgr. Macieja Nowaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr. Macieja Nowaka z uwagi na jej dużą wartość poznawczą, poszerzającą wiedzę w obszarze nauk farmaceutycznych, szczególnie w tematyce polimorfizmu substancji leczniczych oraz upowszechnienie wyników rozprawy doktorskiej w publikacjach o zasięgu międzynarodowym.

Magdalena Prokopyńska