

Kraków, 14.12.2023 r.



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr farm. **Macieja Nowaka**

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

wykonanej w Katedrze Technologii Postaci Leku Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod kierunkiem i opieką naukową **dr hab. Bożeny Karolewicz prof. uczelni**

Wydział

Recenzja rozprawy doktorskiej została przygotowana na podstawie pisma Pana Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z dnia 06.11.2023 r. Oceny dokonano na podstawie art.187. ust.3. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce*, w związku z art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym.

Farmaceutyczny

Katedra

Technologii

Postaci Leku

i Biofarmacji

Rozprawa doktorska została przygotowana w formie spójnego tematycznie zbioru trzech artykułów opublikowanych, w czasopiśmie listy filadelfijskiej w latach 2020-2023, znajdujących się na liście A *Wykazu czasopism naukowych Ministra Nauki i Edukacji*.

- **Nowak M.**, Dyba A., Janczak J., Morrith A., Fábíán L., Karolewicz B., Khimyak Y. Z., Braun D., Nartowski K. P.: *Directing crystallization outcomes of conformationally flexible molecules: polymorphs, solvates, and desolvation pathways of fluconazole*, *Molecular Pharmaceutics*, 2022, vol. 19, nr 2, s. 456-471.
 - IF: 4,9 Punkty MEiN: 140
- **Nowak M.**, Gajda M., Baranowski P., Szymczyk P., Karolewicz B., Nartowski K. P.: *Stabilisation and growth of metastable form II of fluconazole in amorphous solid dispersions*, *Pharmaceutics*, 2020, vol. 12, nr 1, vol.12 [18s.]. DOI:10.3390/pharmaceutics12010012
 - IF: 6,321 Punkty MEiN: 100
- **Nowak M.**, Dyba A., Gołkowska A., Nieckarz A., Krajewska K., Malec K., Iuga D., Karolewicz B., Khimyak Y. Z., Nartowski K. P.: *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.DOI: 10.1016/j.ijpharm.2023.123403
 - IF: 5,8 Punkty MEiN: 100

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48(12) 62 05 600

fax: +48(12) 62 05 619

tpl@farmacja.cm-uj.krakow

Dane naukometryczne trzech publikacji:

łączny *Impact Factor*: **17,01**

łączna punktacja MNiE: **340**



Ocena strony formalnej rozprawy doktorskiej

Recenzowana rozprawa doktorska jest dokumentem zawierającym oprócz kserokopii ww. publikacji, także charakterystykę przeprowadzonych badań w formie dokumentu w języku polskim, uwzględniającym założenia prac doświadczalnych, omówienie wyników badań zawartych w poszczególnych publikacjach stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, zestawienie piśmiennictwa, streszczenia w języku polskim i angielskim. Ponadto Doktorant przedstawił swoją aktywność naukową w zakresie dorobku publikacyjnego i projektów badawczych. W dokumentacji zawarto również oświadczenia współautorów opublikowanych prac, z uwzględnieniem udziału w opracowaniu koncepcji badań, ich wykonaniu oraz przygotowaniu publikacji. Podkreślam również fakt, że Doktorant jest pierwszym autorem wszystkich publikacji. Analiza powyższych danych wskazuje na Jego wiodącą rolę w przeprowadzanych badaniach oraz w opracowaniu publikacji.

Ocena wyboru problematyki badawczej

Powodzenie w uzyskaniu celu terapeutycznego zależy od wielu czynników, w tym m.in. od właściwej diagnozy oraz rodzaju stosowanej terapii. O efekcie terapeutycznym po podaniu leku choremu decyduje rodzaj proponowanej formy leku zawierającej substancję leczniczą odpowiedniej jakości i ilości zapewniającej uzyskanie stężenia terapeutycznego. To właściwości fizykochemiczne substancji leczniczych, m.in. rodzaj struktury krystalicznej, rozpuszczalność, szybkość rozpuszczania, lipofilowość, zdolność przenikania przez błony biologiczne określają jej potencjał terapeutyczny w znacznie większym stopniu niż reaktywność chemiczna. Ze względu na występowanie w fazie stałej mogą posiadać formę krystaliczną lub amorficzną, tj. pozbawioną struktury krystalicznej, o większej energii wewnętrznej i mobilności molekularnej, co sprzyja poprawie dostępności farmaceutycznej, ale równocześnie skutkuje mniejszą trwałością fizyczną oraz uleganiem procesom starzenia fizycznego lub krystalizacji. Najczęściej stosowaną metodą poprawy stabilności substancji amorficznej jest sporządzanie stałych rozprożeń w matrycach polimerowych, gdyż w łańcuchach polimeru następuje jej „unieruchomienie”. Pomimo wielu technik badawczych obecnie stosowanych w analizie faz ciała stałego jak: spektroskopia w podczerwieni z transmisją Fouriera, spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), metody termiczne, dyfrakcji rentgenowskiej, ich charakterystyka nie należy do łatwych. Niestabilność form amorficznych stanowi więc ograniczenie stosowania w preparatach farmaceutycznych. Wiele substancji leczniczych występuje w dwóch lub większej ilości postaci polimorficznych, różniących się między sobą właściwościami fizycznymi, spośród których tylko jedna jest termodynamicznie trwała. Z tego też względu ich stabilizacja staje się koniecznością w aspekcie dalszych procesów technologicznych. Udowodnienie odpowiednich właściwości fizykochemicznych substancji leczniczej daje podstawę nadania jej postaci aplikacyjnej, gdyż stabilność substancji gwarantuje powtarzalność wytwarzanych serii o właściwościach zgodnych z wymaganiami farmakopealnymi.

Rozprawa doktorska mgr Macieja Nowaka wpisuje się więc w aktualny nurt badań w zakresie charakterystyki faz krystalicznych i amorficznych flukonazolu, uzyskanych w wyniku zastosowania trzech metod, w tym inkorporowania substancji leczniczej do matrycy polimerowej oraz mezoporowatych materiałów. Koncepcja założeń badawczych dotyczy jednego z istotnych kierunków badań w technologii farmaceutycznej. Pragnę podkreślić charakter preformulacyjny bardzo dobrze przygotowanej rozprawy doktorskiej.

Ocena merytoryczna rozwiązania problemu badawczego z uwzględnieniem doboru materiału do badań, metodyki oraz sposobu interpretacji wyników

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska na stopień doktora w dyscyplinie nauki farmaceutyczne, pt. *„Polimorfizm flukonazolu i jego kontrola w nośnikach o znaczeniu farmaceutycznym – badania preformulacyjne”* dotyczy istotnych zagadnień związanych z polimorfizmem substancji leczniczych pod kątem ich stabilności. Tematem przewodnim są badania wpływu różnych czynników na stabilizację fazy krystalicznej, amorficznej, a także stabilizację odmian polimorficznych substancji leczniczej o właściwościach przeciwwgrzybiczych.

Zasadność podjęcia badań została w przekonujący sposób potwierdzona we wstępnej części dokumentu charakteryzującego przeprowadzone badania. Doktorant przedstawił aktualny stan wiedzy ściśle powiązany z badaniami własnymi. Autor rozprawy stawia sobie za cel zrozumienie czynników mających wpływ na stabilizację odmian polimorficznych flukonazolu oraz wyjaśnienie oddziaływujących mechanizmów. Postawione przez Doktoranta hipotezy badawcze oraz realizacja celu w oparciu o usystematyzowane w sposób logiczny zadania badawcze uważam za słuszne. Doceniam umiejętności koncepcyjne mgr Macieja Nowaka, gdyż zakres prac doświadczalnych został dobrze zdefiniowany (str.19) i zrealizowany.

Istotność przeprowadzanych badań, co wybrzmiewa zarówno w publikacjach, jak i w dokumencie charakteryzującym osiągnięcie, jest niezaprzeczalna. Zostały wyróżnione trzy zasadnicze wątki badawcze:

- identyfikacja uzyskanych form krystalicznych flukonazolu wraz z oceną wpływu zastosowanych rozpuszczalników i warunków krystalizacji na ich właściwości, w tym także stabilność;
- zastosowanie amfifilowego kopolimeru Soluplus® do oceny jego wpływu na stabilność i udział form amorficznych i krystalicznych, uzyskanych poprzez użycie procesów technologicznych, tj. suszenia rozpyłowego i metody stapiania;
- zastosowanie matryc krzemionkowych do inkorporowania w nich substancji leczniczej, w celu oceny ich przydatności do stabilizacji formy amorficznej oraz wpływu na krystalizację i stabilizację odmian polimorficznych.

Materiał i metody badań charakteryzuje trafność ich wyboru. Podkreślić należy, że realizowanie zadań wymagało znaczącego poszerzenia wiedzy i umiejętności z zakresu zaawansowanych technik analitycznych. W celu oceny zachodzących zmian w uzyskanych formach pod wpływem czynników procesowych, a także oceny ich jakości, Doktorant stosował metody dyfraktometryczne, spektroskopowe, termiczne (DSC, TGA), wysokosprawną chromatografię cieczową, niskotemperaturową adsorpcję azotu. W przypadku wybranego do badań flukonazolu zidentyfikowano i opisano jego dziewięć odmian polimorficznych oraz jeden hydrat. Doktorant znajdując pewne rozbieżności w piśmiennictwie postanowił przeprowadzić krystalizację substancji leczniczej w precyzyjnie określonych warunkach, czego efektem było uzyskanie nowych solwatów i ich polimorfów. Formę I i II uzyskał poprzez krystalizację z chłodzeniem, odmiany III i IV metodą zawiesinową. Dzięki ww. technikom analitycznym wspartym obliczeniami z zastosowaniem teorii funkcyjności gęstości (DFT), Doktorant wskazał na konieczność precyzyjnej kontroli warunków krystalizacji w celu zrozumienia zachodzących przemian fazowych. Podkreślenia wymaga uzyskanie po raz pierwszy dwóch typów izostrukuralnych solwatów kanałowych flukonazolu (Publikacja P1. „*Directing crystallization outcomes of conformationally flexible molecules: polymorphs, solvates, and dissolution pathways of fluconazole*”). Doktorant przeprowadził również serię badań przydatnych w projektowaniu stabilnych amorficznych stałych rozproszeń w polimerze Soluplus®, co jest obecnie przedmiotem szczególnego zainteresowania wielu grup badawczych, ze względu na możliwość poprawy dostępności farmaceutycznej substancji leczniczej. Po przechowywaniu przez okres 14 dni w warunkach przyspieszonego starzenia całkowitą amorfizację zidentyfikowano w przypadku próbek o zawartości flukonazolu poniżej 30% sporządzonych metodą stapiania, natomiast w przypadku suszenia rozpyłowego efekt ten był widoczny dla próbek o zawartości 10% flukonazolu (publikacja P2. „*Stabilization and growth of metastable form II of fluconazole in amorphous solid dispersions*”). Analizę przemian fazowych flukonazolu w ograniczeniu przestrzennym przeprowadził Doktorant stosując trzy rodzaje materiałów mezoporowatych o różnej średnicy porów, sporządzone wg. danych z piśmiennictwa. Do oceny zmian ich objętości pod wpływem inkorporowania w nich flukonazolu posłużył się metodą analizy adsorpcji azotu. Stabilizację fazy amorficznej uzyskał w przypadku próbek zawierających 30% flukonazolu zamkniętego w mezoporowatym materiale o średnicy porów 3,2 nm lub 24 nm (MCM-41, MCF). Ten sam efekt uzyskano dla materiałów o średnicy 7,5 nm (SB-15) zawierających 40% substancji czynnej. Przy większej zawartości flukonazolu potwierdzono jego krystalizację poza porami w próbkach z materiałami krzemionkowymi o średnicy porów 3,2 i 7,5 nm oraz wewnątrz porów dla materiałów o największej średnicy porów. Analiza dotyczyła również wpływu obecności wody na zmiany mobilności cząsteczek inkorporowanych w materiale krzemionkowym, w próbkach suszonych w sposób kontrolowany oraz w zróżnicowanych warunkach wilgotności względnej. Większy udział fazy amorficznej niż powierzchniowej zidentyfikował Doktorant przy zwiększonej wilgotności względnej, tj. w granicach 50-60%. (próbki MCM_FLU). W wyniku suszenia uzyskano odwrócenie

rozkładu faz, a po ponownym oddziaływaniu wilgotności atmosferycznej udział fazy amorficznej i powierzchniowej został odwrócony i wynosił odpowiednio 66% i 34%. Podobne zależności stwierdzono w przypadku materiału SB-15, natomiast udział faz w próbkach MCF-FLU nie uległ większym zmianom w wyniku procesu suszenia. Warto odnotowania jest fakt przedstawienia w piśmiennictwie po raz pierwszy wyników badań obrazujących wpływ zarówno wielkości porów materiałów krzemionkowych oraz procesów hydratacji i dehydratacji na przemiany fazowe flukonazolu (Publikacja P3. „*Probing fluconazole deposition inside mesoporous silica using solid-state NMR spectroscopy: Crystallization of a confined metastable form and phase transformations under storage conditions*”). Z dużym zainteresowaniem zapoznałam się z treścią załączonych publikacji.

Szczególnie doceniam w przeprowadzonych badaniach:

- aktualność i istotność problematyki badawczej;
- spójność logicznego ukierunkowania poszczególnych etapów badań, by w końcowym etapie przedstawić wyjaśnienie mechanizmów odpowiedzialnych za tworzenie odmian polimorficznych flukonazolu oraz zachodzących przemian strukturalnych w składach sporządzonych próbek;
- poszukiwanie skutecznych materiałów zapewniających zwiększenie stabilności zwłaszcza form amorficznych substancji leczniczej.

W czasie lektury rozprawy doktorskiej nasunęło mi się kilka pytań. O odpowiedź na nie prosiłabym podczas obrony.

- Po jakim czasie od momentu sporządzenia metodą stapiania układów flukonazol-Soluplus® nastąpiło zestalenie próbki?
- W jaki sposób przygotowane były ww. próbki do badań fizykochemicznych?
- Prosiłabym również o wskazanie, na podstawie dotychczasowego zakresu badań, próbek flukonazolu, których właściwości mogłyby w przyszłości kwalifikować do dalszego projektowania postaci leku.

W tekście dokumentu charakteryzującego osiągnięcie, zwróciłam uwagę na jedynie kilka sformułowań użytych w sposób niezbyt poprawny, co odnotowuję z racji obowiązku jako recenzenta. Są to: „substancje **farmaceutycznie czynne**” (str. 5), „postacie **farmaceutyczne**” (str.5), „**niska** rozpuszczalność” (str.12), „ocena **załadunku** FLU” (str.21), „krystalizacja **leku**” (str.39).

Rozprawa doktorska stanowi niewątpliwie interesujące, oryginalne opracowanie naukowe dotyczące procesów krystalizacji flukonazolu w wyniku zastosowania metod rozpuszczalnikowych, krystalizacji w matrycach polimerowych oraz materiałach mezoporowatych, tj. w ograniczeniu

przestrzennym, a także przemyślane rozwiązanie szeregu problemów badawczych. Interesujący zbiór danych obrazujących właściwości fizyczne analizowanych próbek wskazuje skalę prowadzonych badań, dużą dbałość o szczegóły. Uważam, że wyznaczony cel badań został osiągnięty, zaplanowane zadania zrealizowane, a wyniki zawierają elementy nowości naukowej. Wyniki tych badań dały podstawę do sformułowania w każdej z trzech publikacji konkluzji wskazujących na innowacyjny ich charakter. Doceniam także umiejętność mgr Macieja Nowaka nawiązywania interdyscyplinarnej współpracy, o czym świadczą wyniki badań wspólnie przeprowadzone z zespołami badawczymi macierzystej uczelni oraz *School of Pharmacy, University of East Anglia, Norwich Research Park*. W moim przekonaniu, wysoka jakość merytoryczna ocenianej dysertacji to także zasługa odpowiedzialności i opieki Promotora dr hab. Bożeny Karolewicz prof. uczelni oraz opiekuna naukowego dr hab. Karola Nartowskiego.

Inne osiągnięcia Doktoranta

Oprócz ujętych w rozprawie doktorskiej 3 publikacji, Doktorant ma w swoim dorobku naukowym jeszcze kolejnych sześć oraz 14 streszczeń konferencyjnych zagranicznych i krajowych. Łączny współczynnik oddziaływania *IF* wynosi **29,438**, punktacja *MNiE* - **828**.

Podsumowanie

Rozprawa doktorska pt. „*Polimorfizm flukonazolu i jego kontrola w nośnikach o znaczeniu farmaceutycznym – badania preformulacyjne*” **stanowi bardzo wartościowe opracowanie naukowe dotyczące problematyki o charakterze technologicznym w aspekcie preformulacyjnym**. Doktorant dzięki gruntownemu przygotowaniu teoretycznemu i wykonaniu wielu prac- i czasochłonnych badań oraz analiz wykazał umiejętności samodzielnego ich prowadzenia. Uzyskane przez Niego wyniki są wartościowe merytorycznie i mają znaczenie dla prezentowanego obszaru badań. W mojej opinii ustawowe wymogi *Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (tekst jedn. Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn.zm.) stawiane rozprawom doktorskim zostały osiągnięte.

W końcowej konkluzji pragnę wyrazić przekonanie, że rozprawa doktorska autorstwa mgr farm. Macieja Nowaka spełnia warunki określone w art.13 ust.1 Ustawy z 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.z 2017r. poz. 1789 ze zm.) w związku a rt.179 ust.2 i 3 Ustawy z 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy mgr Macieja Nowaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wysoko oceniając znaczenie podjętej problematyki badawczej oraz stosowanie w tym celu nowoczesnej metodyki, **wnioskuje również o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Macieja Nowaka.**

Renata Jachowicz
Prof. dr hab. Renata Jachowicz



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Kraków 2023-12-14

Prof. dr hab. Renata Jachowicz

Imię i nazwisko doktoranta: **Maciej Nowak**

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

Promotor: **dr hab. Bożena Karolewicz prof. uczelni**

Wydział

Farmaceutyczny

Katedra

Technologii

Postaci Leku

i Biofarmacji

WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE PRACY DOKTORSKIEJ

Niniejszy zwracam się z wnioskiem do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o wyróżnienie przedmiotowej rozprawy doktorskiej.

Uzasadnienie:

Oceniana rozprawa doktorska mgr Macieja Nowaka porusza zagadnienia o istotnym znaczeniu preformulacyjnym. Głównym argumentem przemawiającym za wysoką oceną rozprawy doktorskiej i wnioskiem o jej wyróżnienie jest oryginalne osiągnięcie naukowe dotyczące wyjaśnienia mechanizmów odpowiedzialnych za stabilizację odmian polimorficznych flukonazolu uzyskanych w wyniku stosowania metod rozpuszczalnikowych, krystalizacji w matrycach polimerowych oraz w krzemionkowych materiałach mezoporowatych. Podkreślenia wymaga opisanie wpływu wielkości porów materiałów mezoporowatych oraz procesów hydratacji /dehydratacji na przemiany fazowe flukonazolu.

Zagadnienia przedstawione w rozprawie doktorskiej wpisują się w nurt aktualnych kierunków nowoczesnej technologii farmaceutycznej. Uzyskane wyniki są bardzo obiecujące w aspekcie dalszego rozwoju badań, nie tylko ze względu na wartość merytoryczną, ale także możliwość proponowania dalszego projektowania tego rodzaju form z różnymi substancjami leczniczymi, o korzystnych właściwościach fizykochemicznych.

Renata Jachowicz
Prof. dr hab. Renata Jachowicz

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48(12) 62 05 600

fax: +48(12) 62 05 619

tpl@farmacja.cm-uj.krakow.pl