

Warszawa, 13.05.2019 r.

dr hab. Arkadiusz Szterk, prof. NIL
Z-ca Dyrektora ds. Naukowych
Kierownik merytoryczny
Zakładu Metod Spektrometrycznych
Narodowy Instytut Leków w Warszawie

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej Pani mgr farm. Agnieszki Kozak pt. „Kokryształy etenzamidu – badania strukturalne, fizykochemiczne i farmaceutyczne”

Wykonanej pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Wacława Kołodziejkiego
oraz promotora pomocniczego Pani dr hab. n. farm. Edyty Pindelskiej
w Zakładzie Chemii Analitycznej, Katedrze Chemii Analitycznej i Biomateriałów
Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Przedstawiona do oceny praca jest typowym opracowaniem o charakterze eksperymentalnym. Stanowi ona zbiór spójnych tematycznie pięciu artykułów, opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych, które znajdują się w wykazie czasopism określonym przez ministra właściwego do spraw nauki na podstawie przepisów dotyczących finansowania nauki. Oceniana dysertacja obejmuje: 166 stron, w tym liczne rysunki i tabele zamieszczone głównie w załączniku w postaci jednotematycznych artykułów naukowych. Struktura i podział części pracy są prawidłowe i obejmują część literaturową (wprowadzenie - uzasadnienie podjęcia pracy) – 12 stron, założenia i cele pracy – 1 strona, a pozostałą część zajmuje omówienie i dyskusja wyników wraz z podsumowaniem oraz wnioskami (łącznie 23 strony). Spis literatury obejmuje 4 strony. Ostatnim i najważniejszym elementem ocenianej pracy jest załącznik zawierający wydrukowane artykuły naukowe będące podstawą rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Kozak (2 artykuły przeglądowe o łącznym IF = 14,521 oraz 3 oryginalne artykuły badawcze opublikowane w prestiżowych zagranicznych czasopismach naukowych o łącznym IF = 10,189)

W bardzo rzeczowej części teoretycznej Autorka wprowadza czytelnika w zagadnienie i uzasadnienie wyboru tematu oraz celu badań. Przegląd literatury wyjątkowo dobrze opisuje aktualne problemy związane zarówno z wprowadzaniem nowych leków stosowanych w leczeniu ludzi, jak i z postacią substancji aktywnej (API). W tej części pracy Autorka skupiła się na ogólnej charakterystyce substancji aktywnych pod względem ich właściwości bio-farmaceutycznych, czyli z punktu widzenia rozpuszczalności w wodzie i przenikalności przez bariery biologiczne. Autorka wykazała, że postać API, jak i samego produktu leczniczego, odgrywa kluczową rolę w skuteczności terapii. Prowadzenie badań w zakresie opracowywania nowych postaci nawet znanych substancji aktywnych jest bardzo ważne, gdyż istnieje możliwość poprawy ich właściwości fizykochemicznych i farmakodynamicznych, co przekłada się w sposób bezpośredni na efekty terapeutyczne. Autorka w mistrzowski sposób opisała jeden ze sposobów zmiany właściwości fizykochemicznych substancji aktywnych, polegający na otrzymywaniu kokryształów ze związkami obojętnymi biologicznie (nieaktywnymi biologicznie) lub z innymi substancjami aktywnymi, otrzymując *de facto* nowe produkty lecznicze, mogące znaleźć zastosowanie w nowych wskazaniach terapeutycznych. Autorka dokonała bardzo szczegółowego opisu metod otrzymywania kokryształów oraz ich badania, w tym również w gotowych postaciach farmaceutycznych w formie np. tabletki twardej, zarówno z punktu widzenia fizycznego, jak i chemicznego z uwzględnieniem metod stosowanych do badania przemian fizykochemicznych zachodzących w funkcji czasu.

Na podstawie wstępu teoretycznego Autorka sformułowała cel główny pracy oraz sześć celów szczegółowych. Zakres zadań badawczych został określony prawidłowo adekwatnie do postawionych celów pracy. Zakres doświadczeń przedstawiono przejrzysto w kolejnych rozdziałach dysertacji i ma on odzwierciedlenie w zaproponowanej metodyce badawczej, opisanej w dołączonych artykułach naukowych. Opis w zakresie materiałów i metodyki badawczej także sformułowano bardzo klarownie i zrozumiale.

Należy podkreślić, że oceniana praca posiada bardzo bogaty materiał doświadczalny i charakteryzuje ją różnorodność zastosowanej metodyki. Odnosząc się do wyników i ich dyskusji stwierdzam, iż Autorka wykonała bardzo dużo pracy w zakresie badania struktury otrzymywanych kokryształów etenzamidu. Na podkreślenie zasługuje stosowanie wyjątkowo wysublimowanych i dokładnych metod badawczych struktur krystalicznych, takich jak SSNMR czy FT-IR, które uwiarygadniają dodatkowo uzyskane wyniki. Odnosząc się

do metody otrzymywania, następnie charakterystyki fizykochemicznej oraz testów rozpuszczalności i profili uwalniania z gotowej postaci farmaceutycznej kokryształów etenzamidu z kwasem gentyzynowym (ETGA1 oraz ETGA2) oraz etenzamidu z kwasem malonowym (ETMALO), z kwasem maleninowym (ETMALE) i z kwasem gutarowym (ETGLUT) - nie mam żadnych zastrzeżeń. Wyniki tych badań zostały opublikowane w recenzowanych artykułach naukowych (publikacja P3 oraz P4), o wskaźniku oddziaływania (IF) wynoszącym odpowiednio 3,649 oraz 3,074. Autorka zbadała również wpływ procesu technologicznego otrzymywania tabletek twardych na przemiany fizyko-chemiczne kokryształów etenzamidu i kwasu gentyzynowego (ETGA1 oraz ETGA2). Opracowała nowy skład recepturowy tabletki twardej umożliwiający zachowanie lepiej rozpuszczalnej formy ETGA2, co zostało opisane w patencie „Kompozycja farmaceutyczna w postaci tabletki zawierająca etenzamin” (P.419702), którego jest współautorem. Bardzo szczegółowo i wyczerpująco Autorka opisała wpływ czynników zewnętrznych na proces kokrysztalizacji etenzamidu, a wyniki tych badań przedstawiła w publikacji P5 o wskaźniku oddziaływania IF = 3,466. W odniesieniu do części eksperymentalnej pracy nasuwa się kilka pytań wynikających z ciekawości recenzenta:

1. Wyjściowe metody stosowane do otrzymywania kokryształów etenzamidu, jakie stosowane były w pracy to metoda mechanochemiczna (ucieranie mieszaniny związków z niewielką ilością rozpuszczalnika) oraz metoda powolnej krystalizacji z roztworu. W publikacji P5 z przedstawionych badań wynika, że kokrysztalizację i to z wydajnością wynoszącą 100% można uzyskać poprzez ucieranie mieszaniny składników i pozostawienie jej na okres 6 miesięcy lub zainicjowanie procesu z wydajnością 100%, stosując siłę nacisku np. 6MPa przez 15 min. Czy wyniki tych prac można potraktować za opracowanie nowych metod kokrysztalizacji? Szczególnie interesujące wydaje się otrzymywanie kokryształów stosując zróżnicowane siły nacisku, przez różny czas. Dokładając do tego różny stopień np. granulacji surowców wyjściowych (API i innych składników kokryształu), czy możliwe będzie otrzymywanie nowych kokryształów?
2. Czy badany był wpływ czynników zewnętrznych (np. siła nacisku na mieszaninę fizyczną etenzamidu i kwasu gentyzynowego)? Czy można

spodziewać się podobnych wyników inicjowania kokryształizacji ET z GA jak w przypadku etenzamidu i kwasu glutarowym?

3. Przeprowadzenie szeregu eksperymentów związanych z czynnikami zewnętrznymi wpływającymi na kokryształizację etenzamdu z kwasem glutarowym pokazuje jak bardzo dynamiczny i dość złożony jest proces kokryształizacji. Nasuwa się pytanie, co dzieje się lub co może się dziać z kokryształami (chodzi o zmianę ich pierwotnych właściwości fizykochemicznych) pod wpływem czynników stresowych oraz testów starzeniowych, którym poddaje się gotowe postacie produktów leczniczych? Jest to bardzo ważny element jakościowy i bardzo często dyskwalifikujący opracowaną postać farmaceutyczną do wprowadzenia na rynek, gdyż np. w krótkim czasie mogą następować niekorzystne przemiany fizykochemiczne np. zmiana formy krystalicznej, co skutkuje zmianą rozpuszczalności, profilem uwalniania, a w konsekwencji biodostępnością i nie spełnieniem pierwotnych założeń produktu leczniczego.

Z redakcyjnego punktu widzenia wysoko oceniam staranność Autorki w opracowaniu przedstawionej dysertacji. Rysunki i tabele zamieszczone w rozdziałach poświęconych omawianiu wyników pozwalają na ich dobrą interpretację. Na podkreślenie zasługuje także SILNIE aplikacyjny charakter pracy, który w przyszłości może zaowocować opracowaniem innowacyjnych postaci substancji aktywnej, a nawet postaci farmaceutycznej. Bazując na wartości dodanej, jaką niesie omawiana dysertacja uważam, że jest to wyróżniająca się praca doktorska, gdyż ukierunkowana od samego początku nie tylko na wysoki poziom naukowy prowadzonych badań, ale praktyczne ich wykorzystanie w opracowaniu nowych leków. Dodatkowo Autorka wszystkie wyniki swojej pracy opublikowała w bardzo dobrych czasopiśmie naukowych o zasięgu międzynarodowym i wysokim wskaźniku oddziaływania (IF), co dodatkowo uprawnia tą dysertację do wyróżnienia jako praca doktorska o bardzo wysokim poziomie naukowo-badawczym i istotnym aspekcie aplikacyjnym prowadzonych badań.

Rozważając całość ocenianej pracy stwierdzam, że zawiera ona kompleksowe opracowanie eksperymentalne, w wielu elementach nowatorskie i aplikacyjne. Rozprawa naukowa Pani mgr farm. Agnieszki Kozak pt. „Kokryształy etenzamidu – badania

strukturalne, fizykochemiczne i farmaceutyczne” jest wykonana na wysokim poziomie i w pełni odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim. Dlatego przedkładam Radzie Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie Pani mgr farm. Agnieszki Kozak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie tej pracy.

Santant Alkaos