

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr farm. Emilii Jakubowskiej
zatytułowanej**

„Opracowanie metody wytwarzania i charakterystyka nanokryształów cilostazolu”

Katedra i Zakład Biofarmacji

Wydział Nauk
Farmaceutycznych

41-200, Sosnowiec
ul. Jedności 8
www.sum.edu.pl

Kierownik Katedry
prof.dr hab.n.farm
Janusz Kasperczyk
tel.: (+ 48 32) 3641249

SEKRETARIAT
tel.: (+ 48 32)364 12 67



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Badania przedstawione w rozprawie doktorskiej mgr Emilii Jakubowskiej pt. „Opracowanie metody wytwarzania i charakterystyka nanokryształów cilostazolu” zostały wykonane w Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu w Katedrze i Zakładzie Technologii Postaci Leku Kolegium Nauk Farmaceutycznych pod kierunkiem promotora prof. dr hab. n. farm. Janiny Lulek oraz promotora pomocniczego dr n. farm. Bartłomieja Milanowskiego. Rozprawa dotyczy opracowania i optymalizacji metody poprawy rozpuszczalności pozornej i szybkości rozpuszczania lipofilowych substancji czynnych (API) w technologii farmaceutycznej. Jako obiekt badań wybrano niejonową, hydrofobową substancję – cilostazol, lek o działaniu przeciwplatek i rozszerzającym naczynia o niskiej rozpuszczalności w wodzie.

Rozprawa składa się z 3 artykułów opublikowanych w dobrych czasopismach z listy filadelfijskiej o wysokich IF, 2 artykuły w *Journal of Drug Delivery Science and Technology* IF=5.062 oraz w *International Journal of Molecular Science* IF= 6.208. Pani Emilia Jakubowska jest pierwszym autorem wszystkich artykułów jak również autorem korespondencyjnym wraz z Panią promotorem.

Wprowadzeniem do lektury w/w artykułów jest 18-stronicowy „Przedmiot badań i komentarz”. We wstępie przedstawiono podstawowe informacje dotyczące problemów związanych z rozpuszczalnością hydrofobowych substancji czynnych i ich niskiej dostępności biologicznej po podaniu doustnym i możliwości wykorzystania nanokryształów, nanozawiesin, w tym technik bottom-up w celu nanonizacji trudno rozpuszczalnych API. Przedstawiono obecny stan wiedzy na temat procesów suszenia nanozawiesin i celowość badań nad takimi procesami i czynnikami potencjalnie krytycznymi dla redispersji nanocząstek.

Następnie przedstawiono założenia rozprawy doktorskiej, opracowanie metody wytwarzania i charakterystyka stabilnych nanokryształów cilostazolu o zwiększonej rozpuszczalności pozornej i zwiększonej szybkości rozpuszczania oraz etapy realizacji założeń rozprawy.

W dalszej części rozprawy doktorantka omawia na 9 stronach zawartość 3 publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, artykułu przeglądowego oraz dwóch oryginalnych artykułów naukowych. Kopie artykułów są dołączone do rozprawy.

Artykuł przeglądowy w *Journal of Drug Delivery Science and Technology* szczegółowo wprowadza czytelnika w zagadnienia związane z tematyką rozprawy oraz jest zbiorem cennych informacji naukowych dotyczących zastosowania liofilizacji jako metody wytwarzania nanokryształów leków oraz stałych rozproszeń. Omówiony jest wpływ parametrów formulacyjnych oraz procesowych na wielkość i morfologię cząstek liofilizatów, porowatość, powierzchnię właściwą i proces rozpuszczania substancji czynnej. Przedstawiono nowe szybkie metody mrożenia takie jak zamrażanie w cienkim filmie i rozpyłowe. Na uwagę zasługuje przedstawienie obserwowanych trendów w zakresie wpływu zmiennych procesowych i formulacyjnych na charakterystykę otrzymywanych nanokryształów metodami kriogenicznymi. Przedstawiono również zalety i wady liofilizacji i innych metod kriogenicznych. Publikacja przeglądowa zawiera aż 120 odnośników literaturowych.

W artykule oryginalnym w *Journal of Molecular Science* „*A systemic approach to the development of cilostazol nanosuspension by liquid antisolvent precipitation (LASP) and its combination with ultrasound*” opracowano, jak tytuł wskazuje, kompleksowo proces otrzymywania nanozawiesiny cilostazolu przez wytrącanie przeciwrozpuszczalnikiem przy jednoczesnym użyciu ultradźwięków. Publikacja liczy aż 40 ! stron z załącznikami i 111 pozycjami odnośników literaturowych. W publikacji szczegółowo opisano metodykę procesu otrzymywania stabilnej zawiesiny cilostazolu. W zasadzie jest to szczegółowy opis wieloetapowego procesu opracowania know-how wytwarzania stabilnej zawiesiny cilostazolu. Należy tu wymienić dobór rozpuszczalnika organicznego do przygotowania roztworu cilostazolu, badania przesiewowe w celu wyłonienia optymalnego stabilizatora, szczegółowa charakterystyka wpływu parametrów ilościowych procesu wytrącania przeciwrozpuszczalnikiem na wielkość cząstek cilostazolu. Optymalizację procesu prowadzono również w połączeniu z oddziaływaniem ultradźwięków przy sonifikacji jedno dwuetapowej, a także porównano sonifikację ciągłą z pulsacyjną oraz zbadano wpływ początkowej temperatury fazy przeciwrozpuszczalnika. W efekcie prac optymalizacyjnych z wykorzystaniem analizy

statystycznej z sukcesem otrzymano nanozawiesinę cilostazolu w procesie dwuetapowego wytrącanie przeciwrospuszczalnikiem z sonifikacją. Morfologię cząstek otrzymanej optymalnej nanozawiesiny obserwowano technikami mikroskopowym SEM,TEM i AFM. Skład materiału potwierdzono spektroskopią w podczerwieni FTIR, a stabilność formy krystalicznej A cilostazolu rentgenowską dyfraktometrią proszkową XRPD oraz różnicową kalorymetrią skaningową DSC. Ostatecznie potwierdzono wzrost rozpuszczalności pozornej w wyniku nanonizacji substancji, a w badaniu dostępności farmaceutycznej wykazano przewagę szybkości rozpuszczania nanokryształów nad profilem rozpuszczania niemodyfikowanego surowca oraz mikrokryształów.

W drugim artykule oryginalnym w *Journal of Drug Delivery Science and Technology* „Freeze-drying of drug nanosuspension – study of formulation and processing factors for the optimization and characterization of redispersible cilostazol nanocrystals” przedstawiono badania nad optymalizacją czynników formulacyjnych i procesowych w liofilizacji nanozawiesiny leku oraz scharakteryzowano redyspergowalne nanokryształy cilostazolu. Również ta publikacja jest bardzo obszerna i szczegółowa i z załącznikami liczy ponad 30 stron. Publikacja zawiera dokładną metodykę procesu liofilizacji zoptymalizowanej zawiesiny opisanej w publikacji w *Journal of Molecular Science* z zachowaniem pierwotnego rozkładu wielkości nanokryształów leku. W celu kontrolowanej nukleacji kryształów przebadano 12 substancji pomocniczych w charakterze protektantów. Dla wszystkich protektantów przebadano efekt szybkości schładzania, temperatury mrożenia i suszenia w 5 różnych kombinacjach stężeń. Optymalną zawiesinę poddano liofilizacji i określono wpływ czynników liofilizacji na wielkość cząstek po redispersji. Otrzymane metodą zoptymalizowanej liofilizacji nanokryształy zachowały swój oryginalny wymiar i formę A polimorficzną cilostazolu z jednoczesną poprawą szybkości rozpuszczania. Badano również wpływ obecności rozpuszczalnika organicznego na efekt liofilizacji i problemy liofilizacji w obecności DMSO. W tym miejscu nasuwa się pytanie w jaki sposób była prowadzona kontrola zawartości wilgoci we wszystkich rozpuszczalnikach i materiałach użytych w procesie tworzenia nanosuspensji oraz podczas liofilizacji.

Rozprawę kończy krótkie podsumowanie uzyskanych rezultatów badań oraz streszczenia w języku polskim i angielskim.

Przedstawione wyniki badań w oryginalnych artykułach to de facto bardzo cenny zbiór danych o charakterze know-how o dużym potencjale aplikacyjnym. Czy przedstawione rezultaty zostały w jakiś sposób zastrzeżone np. patentem?

Podsumowując, chcę podkreślić, iż przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr farmacji Emilii Jakubowskiej prezentuje wysoki poziom merytoryczny. Stanowi istotny wkład w badaniach procesów optymalizacji metody zwiększania rozpuszczalności pozornej i szybkości rozpuszczania lipofilowych substancji czynnych (API) w technologii farmaceutycznej, co bezpośrednio wiąże się z optymalizacją procesów tworzenia nanozawiesin i ich liofilizacji do nanokryształów. Ponadto doktorantka zdobyła finansowanie na prowadzenie zaplanowanych badań w Narodowym Centrum Nauki i była kierownikiem projektu Preludium 13 „Wpływ procesów wytrącania przeciwrozpuszczalnikiem, sonoprecypitacji i liofilizacji na charakterystykę nanokryształów otrzymywanych w celu zwiększenia szybkości rozpuszczania cilstazolu jako modelowej słabo rozpuszczalnej substancji leczniczej”. Należy również podkreślić szerokie spektrum zastosowanych metod badawczych do charakterystyki otrzymywanych materiałów, metod spektroskopowych FTIR, mikroskopowych SEM, TEM i AFM a także DSC i rentgenowskich XPRD.

Co rzadko się zdarza doktorantka ukończyła studia na dwóch Uczelniach - filologię polską na Uniwersytecie Adama Mickiewicza w Poznaniu i studia farmaceutyczne na Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu. Studia farmaceutyczne ukończyła w 2016 roku zdobywając Nagrodę Zarządu Oddziału PTFARM dla najlepszej absolwentki Wydziału Farmaceutycznego. Otrzymała również II nagrodę w konkursie prac magisterskich Wydziału Farmaceutycznego UMP. Obecnie jest asystentem w Katedrze i Zakładzie Technologii Postaci Leku UMP.

Na uwagę zasługuje duża aktywność naukowa doktorantki. Całkowity dorobek mgr Emilii Jakubowskiej to 14 publikacji oryginalnych i przeglądowych o sumarycznym IF 33,895, 7 streszczeń zjazdowych i 1 zgłoszenie patentowe. Oprócz kierowania projektem Preludium jest w zarządzie projektu *Open Research Biopharmaceutical Internships Support (ORBIS)* Komisji Europejskiej w ramach programu H2020-MSCA-RISE kierowanym przez Panią Profesor Janinę Lulek. W projekcie tym pełni rolę współliderki pakietu pracy, a od września 2022 roku wicedyrektorki Training Committee.

Wnioski końcowe

Rozprawa doktorska reprezentuje wysoki poziom z uwagi na rangę rozwiązane problemu badawczego, jak i zakres przeprowadzonych badań, wyróżnia się oryginalnością zastosowanych metod i narzędzi badawczych i ma walory zarówno poznawcze jak i użytkowe. Doktorantka przeprowadziła szeroki zakres badań eksperymentalnych przy pomocy wielu metod badawczych. Doprowadziło to do osiągnięcia założonego celu.

Rozprawa doktorska spełnia warunek rozwiązania oryginalnego problemu naukowego. W rozprawie doktorantka wykazała ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie nauk farmaceutycznych oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Ponadto Pani mgr farm. Emilia Jakubowska potwierdziła w rozprawie doktorskiej umiejętność prowadzenia prac badawczych oraz poprawnego i przekonującego przedstawiania uzyskanych przez siebie wyników badań. Na podkreślenie zasługuje fakt, że oprócz 3 prac będących podstawą rozprawy doktorskiej, kandydatka do stopnia doktora jest współautorką aż 5 innych publikacji z IF oraz współtwórczynią jednego patentu.

Zakres rozważań rozprawy kwalifikuje ją do dziedziny nauk o zdrowiu, dyscypliny nauk farmaceutycznych według klasyfikacji dziedzin i dyscyplin określonej w rozporządzeniu z dnia 20 września 2018 r. (Dz. U. z 2018 r. poz. 1818). Rozprawa spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie o stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz.U. z 2016 r. poz.882 ze zm. Dz.U. z 2016 r. poz. 1311) i z pełnym przekonaniem wnoszę o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr Emilii Jakubowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i publicznej obrony.

Ponadto, biorąc pod uwagę wysoki poziom merytoryczny pracy przeglądowej i artykułów oryginalnych będących podstawą dysertacji, fakt, że doktorantka jest pierwszą autorką wszystkich artykułów będących podstawą dysertacji i autorką korespondencyjną, wnikliwy sposób przedstawienia i realizacji głównych założeń pracy doktorskiej, bogactwo zastosowanych metod i narzędzi badawczych oraz możliwość praktycznego wykorzystania uzyskanych wyników badań wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr farm. Emilii Jakubowskiej.

Prof. dr hab. n. farm. Janusz Kasperczyk