

Warszawa 9 Lutego, 2023r.

Prof. dr hab. Przemysław Dorożyński
Katedra Technologii Leków
i Biotechnologii Farmaceutycznej
Warszawski Uniwersytet Medyczny

**Ocena osiągnięcia naukowego pt.
„Fizyczna stabilność amorficznych substancji leczniczych oraz sposób jej poprawy”
dr n. fizycznych Justyny Knapik-Kowalczuk zatrudnionej na stanowisku profesora Uczelni w
Instytucie Fizyki im. Augusta Chełkowskiego, na Wydziale
Nauk Ścisłych i Technicznych Uniwersytetu Śląskiego.**

Pani dr n. fizycznych Justyna Knapik-Kowalczuk jest absolwentką Wydziału Nauk Ścisłych i Technicznych Uniwersytetu Śląskiego (UŚ), który ukończyła w 2013 roku, realizując pracę magisterską z zakresu fizyki medycznej pt. *„Fotoliza laserowa – badanie wybranych fotouczulaczy”*, realizowaną pod kierunkiem dr Agnieszki Szurko. Pani dr Justyna Knapik-Kowalczuk rozwijała swoje dalsze zainteresowania badawcze w grupie prof. dr hab. Mariana Palucha, przygotowując rozprawę doktorską pt. *„Metody poprawy fizycznej stabilności amorficznej formy ezetimibu”*. Promotorem pracy był prof. dr hab. Marian Paluch z Wydziału Nauk Ścisłych i Technicznych UŚ. Po obronie z wyróżnieniem pracy doktorskiej w 2016 roku, pani dr Justyna Knapik-Kowalczuk podjęła pracę na stanowisku adiunkta w Instytucie Fizyki im. Augusta Chełkowskiego, na Wydziale Nauk Ścisłych i Technicznych Uniwersytetu Śląskiego, a w grudniu 2020 r. objęła tam stanowisko profesora Uczelni.

Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe pani dr Justyny Knapik-Kowalczuk pt. „Fizyczna stabilność amorficznych substancji leczniczych oraz sposób jej poprawy” stanowi cykl dziesięciu powiązanych tematycznie publikacji, o sumarycznym współczynniku oddziaływania (*Impact Factor*) równym 49,479 i łącznej punktacji MEiN wynoszącej 955 punktów. Przedstawiony do oceny cykl publikacji naukowych odpowiada wymogom art. 219 ust. 1, pkt 2 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Czasopisma, w których opublikowano prace: *Molecular Pharmaceutics* (6), *European Journal of Pharmaceutical Sciences* (1), *Journal of Molecular Liquids* (1), *Pharmaceutics* (1), *Pharmaceuticals* (1) są renomowanymi periodykami, zgodnie z informacją SCImago Journal Rank (SJR) i wszystkie lokują się w pierwszym kwartylu czasopism z dziedziny. Wszystkie prace wchodzące w skład osiągnięcia habilitacyjnego zostały opublikowane w latach 2017-2021, a ich wartość naukową potwierdza fakt, że w tak krótkim okresie były cytowane przez autorów obcych niemal czterdziestokrotnie (38), stukrotnie wraz z autocytowaniami. W dziewięciu pracach pani dr Justyna Knapik-Kowalczuk jest autorem pierwszym i jednocześnie korespondencyjnym, jej deklarowany udział w przygotowaniu tych prac jest znaczący, mieszcząc się w zakresie 70%-80%. Jedynie w pracy pt. „*Glass Transition Dynamics and Physical Stability of Amorphous Griseofulvin in Binary Mixtures with Low-Tg Excipients*” habilitantka nie jest pierwszym autorem i deklaruje udział w przygotowaniu manuskryptu na poziomie 50%. Analiza oświadczeń habilitantki oraz współautorów wskazują, że uczestniczyła ona aktywnie we wszystkich etapach prac badawczych i dotyczących opracowania manuskryptu. Habilitantka opracowywała koncepcje badawcze, prowadziła nadzór nad pracami zespołów, wykonywała analizy, nadzorowała merytorycznie prowadzone badania, interpretowała wyniki oraz przygotowywała ryciny i manuskrypty.

Zainteresowania badawcze pani dr Justyny Knapik-Kowalczuk dotyczą zaawansowanych zagadnień związanych ze strukturą i dynamiką molekularną trudno rozpuszczalnych substancji leczniczych. Habilitantka ukierunkowała swoje badania przy okazji realizacji pracy doktorskiej, w której podjęła próby poprawy stabilności fizycznej amorficznej formy ezetimibu. W pracach po doktoracie strategia poprawy rozpuszczalności substancji leczniczych poprzez amorfizację stanowi motyw wiodący.

W tym miejscu należy podkreślić, że poprawa właściwości fizykochemicznych substancji leczniczych, ze szczególnym uwzględnieniem rozpuszczalności, stanowi jeden z kluczowych problemów nowoczesnej farmacji. Trudno rozpuszczalne substancje lecznicze stanowią - zgodnie z informacją we wstępie do pracy habilitantki - ok. 40% wszystkich stosowanych substancji leczniczych i aż 90% spośród cząsteczek o potencjale terapeutycznym tzw. „drug candidates”. To wskazuje, że nawet jeśli cząsteczka leku ma „idealną” strukturę chemiczną do interakcji z celem w organizmie (np. z określonym receptorem) jej działanie w warunkach in vivo zakończy się niepowodzeniem, jeśli jej rozpuszczalność w środowisku wodnym będzie zbyt niska, gdyż nie będzie możliwości wywołania pożądanego efektu terapeutycznego.

W przedstawionym do oceny cyklu publikacji, oznaczonych symbolami **H1 – H10**, p. dr Justyna Knapik-Kowalczyk zaprezentowała wyniki badań, aż trzynastu różniących się między sobą substancji leczniczych. Ogromna różnorodność wybranych substancji, zarówno z punktu widzenia ich struktury, symetrii oraz zastosowania, wskazuje na stopień komplikacji zagadnienia i trudności z wyborem odpowiedniego schematu badawczego. Habilitantka znakomicie rozwiązała ten problem proponując standaryzację podejścia do prac etapu przygotowawczego eksperymentu, w którym, w każdym przypadku, określano wyjściową strukturę krystaliczną materiału, który następnie poddawano amorfizacji, poprzez witrifikację. Charakterystyka otrzymanych próbek prowadzona za pomocą szerokopasmowej spektroskopii dielektrycznej (BDS.), różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) oraz dyfrakcji rentgenowskiej (XRD) pozwoliła na podział badanych substancji na dwie grupy: substancje, które rekrytalizują podczas podgrzewania, do których habilitantka zaliczyła: aripiprazol, nifedypinę, nisoldypinę, sildenafil, gryzeofulwinę, ezetymib oraz fenofibrat oraz substancje które nie wykazują takiej tendencji: probukol, chloramfenikol, nimodypina, itrakonazol, symwastatyna oraz związek MD20 będący w fazie rozwoju. Ta obserwacja stanowiła bezpośrednią przesłankę do postawienia hipotezy badawczej, „że znając mechanizmy odpowiedzialne za wysoką fizyczną stabilność pewnych materiałów, można zaprojektować efektywnie metody stabilizacji innych substancji leczniczych tj. tych wykazujących gorszą fizyczną stabilność”.

W publikacjach: „*Atorvastatin as a Promising Crystallization Inhibitor of Amorphous Probucol: Dielectric Studies at Ambient and Elevated Pressure*” (Mol. Pharm. 2017), „*Can Storage Time Improve the Physical Stability of Amorphous Pharmaceuticals with Tautomerization Ability Exposed to*

Compression? The Case of Chloramphenicol Drug” (Mol. Pharm. 2018), „*Co-Stabilization of Amorphous Pharmaceuticals—The Case of Nifedipine and Nimodipine*” (Mol. Pharm. 2018) oznaczonych odpowiednio symbolami **H1**, **H2** i **H3** podjęto próbę oceny wpływu czynników procesowych, które występują podczas standardowych procedur produkcyjnych na stabilność fizyczną materiału w formie amorficznej. Przeprowadzone badania wykazały, że probukol, chloramfenikol oraz nifedipina, nisoldipina i nimedipina, które w postaci amorficznej charakteryzują się wysoką stabilnością fizyczną są podatne na czynniki mechaniczne takie jak ciśnienie, naprężenie ścinające. Czynniki te, występujące powszechnie w procesach wytwórczych produktów leczniczych mogą inicjować rekrytalizację substancji leczniczych. Należy podkreślić, że obserwacja ta wskazuje przyczyny i wyjaśnia zjawiska, które w praktyce mogą mieć krytyczne znaczenie dla jakości produktów leczniczych i powtarzalności procesów produkcyjnych. Ukierunkowuje także badania układów amorficznych stosowanych w przemyśle farmaceutycznym, tak aby były podejmowane eksperymenty sprawdzające ich fizyczną stabilność odbywały się w warunkach naśladowujących przebieg procesu wytwarzania. Podkreślić należy fakt, że w celu oceny fizycznej stabilności amorficznych substancji leczniczych w warunkach zbliżonych do warunków produkcyjnych, habilitantka opracowała własną nowatorską metodykę badawczą, w której wykorzystata wysokociśnieniowy układ do szerokopasmowej spektroskopii dielektrycznej (publikacja **H1**).

Jako jeden z ciekawszych wyników badań habilitantki na wczesnym etapie pracy, uznaję próby wyjaśnienia zjawisk związanych ze stabilnością układów amorficznych chloramfenikolu w oparciu o izomerię strukturalną cząsteczki substancji leczniczej, które zostały opisane w publikacji oznaczonej symbolem **H2**. Przeprowadzone analizy wykazały, że proporcja ilości formy keto amidolowej do formy enolowej ma znaczący wpływ na fizyczną stabilność substancji leczniczej. Podkreślam ten aspekt badawczy, gdyż wskazuje on, że habilitantka oprócz sprawności eksperymentalnej posiada także duże kompetencje merytoryczne umożliwiające interpretację obserwowanych zjawisk na poziomie molekularnym.

W publikacji oznaczonej symbolem **H3**, na przykładzie trzech substancji leczniczych o bardzo podobnych strukturach tj. nifedypiny, nimodypiny i nisoldypiny autorka wykazuje, że niektóre związki nie mają skłonności do rekrytalizacji, pomimo faktu, że w temperaturze pokojowej występują w formie cieczy przechłodzonej, podczas gdy inne, o T_g znacznie wyższym od temperatury pokojowej, z łatwością rekrytalizują. Omówione dotychczas prace badawcze

podważają tradycyjne podejście do badań, które zakłada, że w ocenie stabilności substancji amorficznych wystarczające jest kierowanie się jedynie ich dynamiką molekularną w temperaturze pokojowej.

Publikacja pt „*Molecular dynamics, viscoelastic properties and physical stability studies of a new amorphous dihydropyridine derivative with T-type calcium channel blocking activity*” (Eur. J. Pharm. Sci. 2020) oznaczona symbolem **H4** otwiera kolejny etap prac badawczych, w którym podjęto próby opracowania metod poprawy stabilności układów amorficznych. Na przykładzie nowej substancji o potencjale terapeutycznym oznaczonej symbolem MK20, wykazano, że minimalny czas stabilności fizycznej układów amorficznych można przewidzieć na podstawie relaksacji strukturalnej. Z tego punktu widzenia bardzo interesująco prezentuje się część pracy ukazująca zależność pomiędzy czasem rekrytalizacji próbki a temperaturą jej przechowywania. Prace predykcyjne wykazały, że forma amorficzna nie powinna rekrytalizować podczas przechowywania w temperaturze 298 K przez ok. 150 lat. Podwyższenie temperatury powodowało znaczące skrócenie trwałości fizycznej materiału.

Kolejną substancją leczniczą, która została wybrana do badań przez habilitantkę był itrakonazol - substancja, która po witrifikacji nie wykazuje tendencji do rekrytalizacji, w procesie przechładzania tworzy domeny ciekłokrystaliczne a ten stan częściowego uporządkowania jest prawdopodobną przyczyną braku rekrytalizacji. W pracy oznaczonej symbolem H5 podjęto próbę zmiany uporządkowania układu. Przeprowadzone badania z użyciem reometru i spektrometru dielektrycznego wykazały, że jest możliwa modyfikacja uporządkowania ciekłokrystalicznego substancji leczniczej poprzez zastosowanie siły ścinającej, co umożliwia zmianę jego właściwości. Należy podkreślić, że publikacja **H5** zatytułowana „*Rheo-dielectric studies of the kinetics of shear-induced nematic alignment changes in itraconazole*” (J. Mol. Liq 2020), stanowi etap pomostowy pomiędzy pracami skupionymi głównie na badaniu zjawisk związanych z trwałością fizyczną układów amorficznych a pracami podejmującymi zagadnienie poprawy ich stabilności (publikacje **H6-H10**).

Badania nad możliwościami poprawy fizycznej stabilności układów amorficznych habilitantka rozpoczęła od prób wykorzystania Kolidonu VA64 i Soluplus jako substancji o charakterze antyplastifikatorów czyli materiałów spowalniających dynamikę cząstek modelowej substancji leczniczej - aripiprazolu. W przeprowadzonych pracach udało się potwierdzić

wpływ polimerów o wysokiej temperaturze przejścia szklistego T_g na spowolnienie dynamiki molekularnej układu. Wraz ze zwiększającym się stężeniem polimeru w mieszaninie rosła stabilność fizyczna próbek. Zagadnienie zostało szczegółowo zaprezentowane w publikacji oznaczonej symbolem **H6**, pt. „*Influence of Polymeric Additive on the Physical Stability and Viscoelastic Properties of Aripiprazole*” (Mol. Pharm. 2019).

Bardzo ciekawe wyniki przedstawiła habilitantka w publikacji pt. „*Enhancement of the physical stability of amorphous sildenafil in a binary mixture, with either a plasticizing or antiplasticizing compound*” (Pharmaceutics 2020) oznaczonej symbolem **H7**, w której podjęła próby wytworzenia stabilnych mieszanin zawierających sildenafil oraz Kolidon VA64 jako antyplastyfikator lub polioctan winylu jako plastyfikator. W obu przypadkach udało się zaproponować składy mieszanin zapewniające stabilność fizyczną amorficznego sildenafilu, przy czym bardzo obiecujące efekty zaobserwowano w układach z polioctanem winylu, w których zawartość substancji leczniczej odpowiadała stężeniu roztworu nasyconego substancji leczniczej w polimerze. Obserwacje te poszerzono i uzupełniono w kolejnej pracy pt. „*Glass Transition Dynamics and Physical Stability of Amorphous Griseofulvin in Binary Mixtures with Low-T_g Excipients*” (Mol. Pharm. 2019) wykorzystując gryzeofulwinę polioctan winylu i acetylowaną maltozę (**H8**).

Ostatnimi i w mojej ocenie jednymi z najbardziej interesujących elementów pracy są badania mieszanin substancji leczniczych, które oddziałują ze sobą stabilizując wzajemnie swoją strukturę amorficzną. Zagadnienie zostało szczegółowo omówione w pracach: „*Physical Stability and Viscoelastic Properties of Co Amorphous Ezetimibe/Simvastatin System*” (Pharmaceutics 2019) oraz „*Ternary Eutectic Ezetimibe– Simvastatin–Fenofibrate System and the Physical Stability of Its Amorphous Form*” (Mol. Pharm. 2021) oznaczonych odpowiednio jako publikacje **H9**, **H10**. Znakomicie dobrany przykład mieszaniny eutektycznej ezetymibu i symwastatyny potwierdza użyteczność zaproponowanego podejścia.

Oceniając całościowo osiągnięcie habilitacyjne pani dr Justyny Knapik-Kowalczyk z przyjemnością stwierdzam, że przedstawione badania cechują się wysokim poziomem merytorycznym oraz potencjałem nowatorskim i poznawczym. Przeprowadzone prace lokujące się w obszarze fizykochemii materiałów i w sposób znaczący nakierowane na rozwiązanie problemów występujących w przemyśle farmaceutycznym, mają znaczny potencjał aplikacyjny i mogą stanowić podstawę do rozwoju nowych strategii formulacyjnych

i obiecujących rozwiązań technologicznych. Zaprezentowane wyniki posiadają odpowiedni poziom nowości naukowej i wnoszą znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauk fizycznych i farmaceutycznych.

Na szczególne podkreślenie zasługuje spójność metodyczna prezentowanych prac. Pokazuje to wysokie kwalifikacje habilitantki w zakresie opracowania koncepcji badawczych, planowania prac eksperymentalnych oraz organizacji prac naukowych zespołów badawczych. Dobór metodyki analitycznej wskazuje na duży stopień swobody badawczej, który umożliwia odpowiednie planowanie badań i interpretację wyników, aby uzyskać odpowiedź na postawione pytania.

Ocena całościowa aktywności naukowej habilitantki

Całkowity dorobek naukowy habilitantki jest pokaźny, obejmuje 69 artykułów naukowych oraz jedną monografię, z czego 53 publikacje ukazały się po doktoracie, co wskazuje na dynamiczny rozwój habilitantki. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) opublikowanych prac wynosi 324,001. Zgodnie z przedstawioną analizą bibliometryczną datowaną na dzień 17 lutego 2022 r. liczba cytowań prac habilitantki wynosiła 1177 (672 bez autocytowań) a ich indeks Hirsha był równy 22 a z wyłączeniem autocytowań 14. Pani dr Justyna Knapik-Kowalczyk jest także współautorką czterech patentów i jednego zgłoszenia patentowego.

Habilitantka była zaangażowana w realizację ośmiu projektów badawczych, finansowanych ze środków Narodowego Centrum Nauki (4 przed doktoratem i 4 po doktoracie), z czego w projekcie Miniatura 9 pełniła rolę kierownika projektu.

Habilitantka odbyła staże naukowe: przed doktoratem w Leibniz Institute of Polymer Research Dresden i po doktoracie w National Institute for Material Science w Tsukubie w Japonii.

Pani dr Justyna Knapik-Kowalczyk chętnie podejmuje działalność recenzencką, pełniąc funkcje recenzenta publikacji naukowych w czasopiśmie z listy JCR.

Pewnym mankamentem przedłożonej dokumentacji jest brak informacji dotyczących działalności dydaktycznej habilitantki. Choć w świetle obowiązujących przepisów nie jest to obligatoryjne i nie może być traktowane jako uchybienie, to jednak doświadczenie i wiedza p. dr Justyny Knapik-Kowalczyk powinna służyć rozwojowi kolejnych pokoleń studentów.

Wniosek końcowy

Przedłożone do oceny osiągnięcie naukowe dr Justyny Knapik-Kowalczuk, całokształt jej dorobku naukowego, w pełni spełniają – a nawet, w mojej opinii, znacząco przekraczają wymogi formalne i merytoryczne artykułu 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie Wyższym i Nauce stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego. W związku z tym z prawdziwą przyjemnością wnioskuję do wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie dr Justyny Knapik-Kowalczuk do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Warszawa 9 Lutego, 2023 roku.

Prof. dr hab. Przemysław Dorożyński
Katedra Technologii Leku i Biotechnologii
Farmaceutycznej Warszawskiego
Uniwersytetu Medycznego

