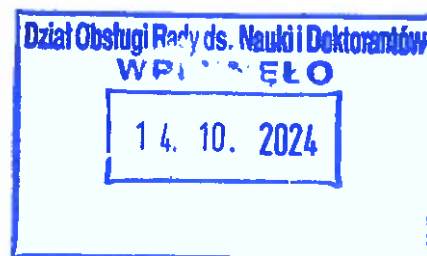




UNIwersytet Jagielloński  
COLLEGIUM MEDICUM  
W KRAKOWIE



Wydział Farmaceutyczny

### Recenzja

**rozprawy doktorskiej Pani mgr Lidii Gurby-Bryśkiewicz  
pt. „Zastosowanie statystycznych metod planowania eksperymentów (DoE, Design  
of Experiments) w podejściu QbD (Quality by Design) do rozwoju technologii  
innowacyjnych substancji czynnych i produktów leczniczych”  
przedłożonej Radzie Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego  
Uniwersytetu Medycznego celem uzyskania stopnia naukowego doktora nauk  
farmaceutycznych**

W ostatnich latach jesteśmy świadkami znaczącego postępu w badaniach podstawowych, które mają kluczowe znaczenie dla rozwoju przemysłu farmaceutycznego. Codziennie napływają informacje o nowatorskich metodach umożliwiających syntezę dotychczas nieosiągalnych klas związków chemicznych, pozwalających na dokładniejszą ocenę jakościową oraz wyznaczenie aktywności biologicznej związków, a także identyfikację genetycznych podstaw chorób cywilizacyjnych. Równocześnie można dostrzec rosnącą popularność zastosowania wieloczynnikowych analiz statystycznych w procesie odkrywania i rozwoju nowych leków. Obecnie statystycy uczestniczą nie tylko w analizie wyników badań klinicznych, ale także w optymalizacji procesów produkcji aktywnych składników farmaceutycznych (API) oraz ich analizy. W wielu obszarach proces podejmowania decyzji jest wspomagany przez zastosowanie metod sztucznej inteligencji.

W ten nurt badań nad wykorzystaniem wiedzy do podejmowania lepszych decyzji w fazie rozwoju przedklinicznego nowych leków doskonale wpisują się badania, przedstawione w rozprawie przez Panią mgr Lidię Gurbę-Bryśkiewicz i zrealizowane pod kierunkiem dr hab. Wiolety Maruszak w firmie Celon Pharma.

Licząca 255 stron rozprawa składa się z *i*) 70-cio stronicowego komentarza do spójnego tematycznie cyklu pięciu publikacji, zawierającego streszczenia w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów oraz 85 pozycji aktualnego piśmiennictwa, *ii*) charakterystyki całkowitego dorobku naukowego Kandydatki, *iii*) analizy bibliometrycznej, opracowanej przez Bibliotekę WUM, *iv*) informacji nt uczestnictwa w realizacji projektów badawczych oraz *v*) oświadczeń współautorów, określających wkład w powstanie artykułów. Całość dopełniają kopie publikacji P1–P5, stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, które ukazały się drukiem w latach 2022–2023, w czasopismach o cyrkulacji światowej (*Int. J. Mol. Sci.*, *Biomedicines*, *RSC Adv.*, *React. Chem. Eng.*, *Monatsh Chem.*).

W publikacjach P-1 i P-2 mgr Lidia Gurba-Bryśkiewicz pełni rolę pierwszego autora oraz autora korespondującego. W artykule P-3 Doktorantka jest drugim autorem, a w pracach P-4 i P-5 zajmuje trzecie miejsce. Analiza oświadczeń Doktorantki oraz współautorów jednoznacznie potwierdza wiodącą rolę mgr Lidii Gurby-Bryśkiewicz w powstaniu publikacji, które stanowią podstawę jej dysertacji. Doktorantka opracowała koncepcję badań, opracowała i wygenerowała plany eksperymentów metodą DoE, przeprowadziła walidację metod analitycznych, a także dokonała statystycznej analizy wyników. Dodatkowo, w przypadku pracy przeglądowej, opracowała koncepcję, dokonała przeglądu i analizy artykułów. Autorka uczestniczyła w redagowaniu manuskryptów na wszystkich etapach przygotowania do publikacji.

Cel swoich badań Doktorantka sformułowała jako weryfikację hipotezy, wskazującej na użyteczność zastosowania podejścia *Quality by Design* (QbD) oraz zaawansowanych narzędzi statystycznych w planowaniu eksperymentów (*Design of Experiments*, DoE), w różnych obszarach rozwoju innowacyjnych substancji o aktywności biologicznej i produktów leczniczych.

Realizując badania w pierwszym obszarze, dotyczącym opracowania metod analitycznych do monitorowania jakości procesów i produktów, Doktorantka wykazała skuteczność podejścia *Analytical Quality by Design* (AQbD) oraz DoE podczas opracowywania metody UHPLC do ilościowego oznaczania pełnego profilu dziewięciu zanieczyszczeń związku CPL409116 (publikacja P1). Związek CPL409116 wykazuje cechy inhibitora JAK/ROCK. Opracowana przez Doktorantkę metoda spełnia kryteria rozdzielczości i współczynnika symetrii pików, została również zwalidowana zgodnie z wytycznymi ICH. Dodatkowo, spełnia wymagania dotyczące liniowości, precyzji oraz stabilności.

Doktorantka wykazała także umiejętność optymalizacji składu i formy produktów leczniczych do dostarczania nanocząstek lipidowych zawierających RNA, przeprowadzając szeroki przegląd literatury i analizy z zastosowaniem koncepcji QbD oraz DoE (publikacja P2).

W trzecim obszarze badań, Doktorantka poddała wnikliwej analizie możliwości zastosowania metod statystycznych w optymalizacji pojedynczych etapów syntezy związków CPL302415 i CPL304110 (publikacje P3–P5). Należy podkreślić, że związek CPL302415 wykazuje cechy nieselektywnego inhibitora kinazy fosfatydylo-3-inozytoli (PI3K) i znajduje się w fazie badań przedklinicznych w kierunku leczenia toczenia rumieniowatego. Z kolei związek CPL304110 jest małocząsteczkowym inhibitorem receptora czynnika wzrostu fibroblastów (FGFR), co stawia go w roli obiecującego kandydata w walce z rakiem.

Zastosowanie metod QbD w sposób skuteczny umożliwiło optymalizację warunków krytycznego etapu w procesie syntezy związku CPL302415, który polega na utlenianiu pierwszorzędowej grupy alkoholowej. Najkorzystniejsze warunki polegały na katalitycznym utlenieniu grupy alkoholowej za pomocą tlenu, prowadząc proces w przepływie gazu i cieczy, w obecności Pd(OAc)<sub>2</sub>/pirydyny.

Dzięki podejściu DoE opracowano również efektywną metodę redukcji grupy estrowej do pochodnej alkoholowej w roztworze, z zastosowaniem gazowego wodoru oraz reakcji w reaktorze przepływowym przy użyciu glinowodoru litu (LiAlH<sub>4</sub>). Opracowane warunki pozwoliły na uzyskanie pożądaných związków z wysoką selektywnością i wydajnością.

Doktorantka wykazała skuteczność podejścia DoE również na etapie optymalizacji parametrów reakcji cyklizacji Claisena w reaktorze przepływowym. Reakcja ta stanowi

istotny etap w procesie syntezy kandydata na lek CPL304110. Efektem tej optymalizacji było znaczące skrócenie czasu reakcji oraz uzyskanie spodziewanego produktu o wysokiej wydajności i łącznym przerobie sięgającym 74,4 g/h.

Przedstawiona do oceny praca prezentuje wysoki poziom merytoryczny i stanowi przykład badań empirycznych, opartych na solidnych podstawach teoretycznych zrealizowanych z wykorzystaniem klarownie opisanej metodyki. Zaprezentowane wyniki oraz przeprowadzona dyskusja potwierdzają, że Doktorantka doskonale posługuje się nowoczesnymi technikami badawczymi, w tym podejściem QbD oraz narzędziami planowania eksperymentów DoE oraz wykazuje umiejętność twórczej analizy uzyskanych wyników. Chcę podkreślić, że zastosowanie narzędzi statystycznych, w opracowaniu nowych metod analitycznych oraz syntezy z zastosowaniem metod chemii przepływowej, stanowi oryginalne podejście w realizacji postawionych celów.

Na szczególną uwagę zasługuje umiejętność interdyscyplinarnej współpracy z zespołem chemików medycznych z firmy Celon Pharma oraz z zespołem prof. Zbigniewa Ochała z Wydziału Chemii Politechniki Warszawskiej, której celem było rozwiązywanie krytycznych problemów związanych z rozwojem chemii przepływowej w przemyśle farmaceutycznym.

Chcę ponadto podkreślić, że recenzowana rozprawa ma bardzo duży walor aplikacyjny, wynikający wprost z podjętej tematyki i zakresu rzeczowego. Wyniki badań opublikowane w pracach P1–P5 powstały w ramach realizacji projektów dofinansowanych ze środków NCBR i ABM. Rozwiązania opracowane i zaprezentowane w rozprawie dowodzą umiejętności Doktorantki w zakresie samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Lektura przedłożonej do oceny rozprawy skłoniła mnie do zdefiniowania poniższych zagadnień, które stanowią zaproszenie dla Doktorantki do dyskusji:

- 1) proszę o przybliżenie zagadnień dotyczących kompleksowego szacowania ryzyka chemicznego związanego z metodami i procedurami laboratoryjnymi, nie ograniczając się jedynie do aspektu zużycia rozpuszczalników lub ich pozostałości
- 2) Zgodnie z wytycznymi dla przemysłu farmaceutycznego, toluen znajduje się na tzw. czerwonej liście rozpuszczalników, natomiast znalazł on zastosowanie w metodzie opisanej w publikacji P3. Jakże rozpuszczalniki można rozpatrywać jako alternatywę dla toluenu?
- 3) Czy dostrzega Pani ograniczenia związane z zastosowaniem chemii przepływowej na różnych etapach rozwoju technologii lekowych?

Pragnę w podsumowaniu wyrazić uznanie dla Autorki oraz stwierdzić, że zaprezentowany w rozprawie problem i warsztat badawczy, oparty na nowoczesnych technikach badawczych oraz umiejętności analizy uzyskanych wyników, stanowią o wartości poznawczej opracowania przedłożonego przez Doktorantkę i są oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska, autorstwa mgr Lidii Gurby-Bryśkiewicz, spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz. 1668 ze zm.). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr Lidii Gurby-Bryśkiewicz do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie

nauki farmaceutyczne. Równocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Lidii Gurby-Bryśkiewicz.

Wniosek o wyróżnienie uzasadnia interdyscyplinarny charakter realizowanych badań, łączący statystyczne planowanie eksperymentów w obszarze analizy farmaceutycznej oraz preparatyki organicznej z zastosowaniem metod chemii przepływowej. Przyczynia się to do skutecznego rozwoju kandydatów na lek, mogących znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób o podłożu immunologicznym i zapalnym oraz walce z rakiem. Aplikacyjny charakter badań zrealizowanych przez mgr Lidię Gurbę-Bryśkiewicz, potwierdzony współautorstwem pięciu publikacji, o łącznym współczynniku oddziaływania 19,9, wykracza ponad standardy wymagane na etapie doktoratu. Zrealizowane badania wpisują się w aktualne trendy realizacji prac o charakterze wdrożeniowym.

Kraków, 14.10.2024 r.



Signed by /  
Podpisano przez:

Paweł Maria  
Zajdel

Date / Data: 2024-  
10-14 10:07

Prof. dr hab. n. farm. Paweł Zajdel  
Kierownik Katedry i Zakładu Chemii Organicznej  
Wydział Farmaceutyczny  
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum  
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków  
✉ [pawel.zajdel@uj.edu.pl](mailto:pawel.zajdel@uj.edu.pl)