

AUTOREFERAT



**UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**

Collegium Medicum
im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

dr n. farm. Łukasz Pałkowski
Katedra Technologii Postaci Leku
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Mikołaja Kopernika

Bydgoszcz 2025

1. Imię i nazwisko.

Łukasz Pałkowski

Nr ORCID: **0000-0002-8219-6339**

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2006 magister farmacji

Wydział Farmaceutyczny

Akademia Medyczna w Gdańsku

Praca magisterska: Ocena właściwości fizykochemicznych bioadhezyjnych polimerów liofilizowanych i mikropuletek powlekanych.

Promotor: prof. dr hab. Małgorzata Sznitowska

2015 doktor nauk farmaceutycznych

Wydział Farmaceutyczny

Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Tytuł rozprawy: Analiza zależności struktura, właściwości powierzchniowe i aktywność przeciwdrobnoustrojowa chlorków bis-imidazoliowych.

Promotor: prof. dr hab. Jerzy Krysiński

2023 Studia podyplomowe: Zarządzanie szkołą wyższą

Uniwersytet Mikołaja Kopernika

Wydział Prawa i Administracji/ Wydział Nauk Ekonomicznych i Zarządzania

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

2006-2018: Asystent

Katedra Technologii Postaci Leku

Wydział Farmaceutyczny

Collegium Medicum Uniwersytet Mikołaja Kopernika

2019 – obecnie: Adiunkt badawczo-dydaktyczny

Katedra Technologii Postaci Leku

Wydział Farmaceutyczny

Collegium Medicum Uniwersytet Mikołaja Kopernika

2023-aktualnie: p.o. Kierownika Katedry

Katedra Technologii Postaci Leku

Wydział Farmaceutyczny

Collegium Medicum Uniwersytet Mikołaja Kopernika

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.

4.1. Tytuł osiągnięcia

Zastosowanie innowacyjnych metod odkrywania wiedzy w wybranych obszarach nauk farmaceutycznych

4.2. Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

W skład osiągnięcia naukowego włączono 5 oryginalnych prac, opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych z bazy *Journal Citation Reports*. Sumaryczny współczynnik oddziaływania *Impact Factor* (IF) wynosi **21,061**, a suma punktów przyznanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego wynosi **515**.

Tematyka prac przedstawionych w osiągnięciu naukowym dotyczy zastosowania, wykorzystania i sprawdzenia przydatności zmodyfikowanej metody opartej o teorię zbiorów przybliżonych w naukach farmaceutycznych, tj. w analizie danych ilościowych i jakościowych w technologii farmaceutycznej (publikacje H1, H2, H3) oraz analizie struktura-aktywność nowych związków chemicznych o możliwym zastosowaniu w antyseptyce i dezynfekcji

(publikacje H4, H5). Elementem wiążącym tematycznie artykuły naukowe jest narzędzie zastosowane do analizy danych - *Dominance-based Rough Set Approach* (DRSA). Pełne kopie artykułów znajdują się w Załączniku 5, natomiast Załącznik 7 zawiera oświadczenia współautorów określające ich udział w każdej publikacji. W czterech pracach jestem pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym. W jednej pracy jestem drugim autorem.

Swój wkład w powstawanie poszczególnych publikacji przedstawiłem w Załączniku 4: *Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych*.

[H1] Pałkowski Łukasz, Karolak Maciej, Kubiak Bartłomiej, Błaszczyński J., Słowiński R., Thommes M., Kleinebudde P., Krysiński Jerzy: Optimization of pellets manufacturing process using rough set theory, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, **124**, 295-303,
DOI:10.1016/j.ejps.2018.08.027,
MNiSW 35 punktów, IF (3,532)

[H2] Karolak Maciej, **Pałkowski Łukasz**, Kubiak B., Błaszczyński J., Łunio R., Sawicki W., Słowiński R., Krysiński Jerzy: Application of dominance-based rough set approach for optimization of pellets tableting process, *Pharmaceutics*, 2020, **12(12)**, 1-14,
DOI:10.3390/pharmaceutics12111024,
MNiSW 100 punktów, IF (6,321)

[H3] Pałkowski Łukasz, Karolak Maciej, Kubiak Bartłomiej, Błaszczyński Jerzy, Słowiński Roman: Application of dominance-based rough set approach in vaginal dosage form optimization, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2024, **81(2)**, 331-343,
DOI:10.32383/appdr/187795,
MNiSW 100 punktów, IF (0,4)

[H4] Pałkowski Łukasz, Karolak Maciej, Błaszczyński J., Krysiński Jerzy, Słowiński R.: Structure-Activity Relationships of the Imidazolium Compounds as Antibacterials of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22(15)**, 1-12,
DOI:10.3390/ijms22157997,

MNiSW 140 punktów, IF (6,208)

[H5] Pałkowski Łukasz, Karolak Maciej, Skrzypczak Andrzej, Wojcieszak M., Walkiewicz Filip, Podemski Jonasz, Jaroch Karol, Bojko Barbara, Materna Katarzyna, Krysiński Jerzy: Antimicrobial and Cytotoxic Activity of Novel Imidazolium-Based Ionic Liquids, *Molecules*, 2022, **27(6)**; 1-16,
DOI:10.3390/molecules27061974,

MNiSW 140 punktów, IF (4,6)

4.3. Omówienie celu badań i wyników przedstawionych w osiągnięciu naukowym

4.3.1. *Badania związane z analizą danych ilościowych i jakościowych w technologii farmaceutycznej.*

4.3.1.1. Wprowadzenie

Współczesna technologia farmaceutyczna stoi przed szeregiem wyzwań wynikających z rosnących wymagań regulacyjnych, presji ekonomicznej oraz potrzeby opracowywania coraz bardziej zaawansowanych postaci leku. Przemysł farmaceutyczny musi sprostać oczekiwaniom dotyczącym skrócenia czasu wprowadzania nowych produktów na rynek przy jednoczesnym zapewnieniu ich najwyższej jakości, bezpieczeństwa i skuteczności. Dodatkowo, rosnąca złożoność formułacji farmaceutycznych, obejmujących systemy o kontrolowanym uwalnianiu, wielozbiornikowe czy zaawansowane postacie leku przeznaczone do podania różnymi drogami, wymaga dogłębnego zrozumienia i poznania zależności między składem, parametrami procesu wytwarzania a właściwościami produktu końcowego.

W odpowiedzi na te wyzwania, Międzynarodowa Konferencja Harmonizacji (ICH) oraz agencje regulacyjne, takie jak Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) i Europejska Agencja Leków (EMA), promują podejście *Quality by Design* (QbD; zapewnienie jakości przez projekt) oraz inicjatywę *Process Analytical Technology* (PAT). Koncepcja QbD, wprowadzona przez ICH w wytycznych Q8, Q9 i Q10, stanowi fundamentalną zmianę w podejściu do rozwoju produktów leczniczych, przechodząc od tradycyjnego modelu opartego na testowaniu jakości produktu końcowego do modelu, w którym jakość produktu jest elementem koncepcji od samego początku jego projektowania łącznie z procesem preformulacji i formułacji. Podejście to zakłada dogłębne zrozumienie procesów wytwarzania i systematyczne określanie zależności i powiązań między krytycznymi atrybutami materiałowymi (CMA), krytycznymi parametrami procesu (CPP) a krytycznymi atrybutami jakości (CQA) produktu końcowego [1, 2].

Implementacja QbD wymaga zastosowania zaawansowanych narzędzi analitycznych i statystycznych do identyfikacji przestrzeni projektowej (*design space*), zdefiniowanej jako wielowymiarowa kombinacja zmiennych wejściowych oraz parametrów procesu, które zapewniają uzyskanie produktu o pożądanej jakości. Tradycyjne metody optymalizacji procesów farmaceutycznych, takie jak klasyczne planowanie eksperymentów, analiza wariancji czy metody regresji, mają jednak pewne istotne ograniczenia w kontekście złożonych procesów farmaceutycznych. Metody te często zakładają liniowe zależności między zmiennymi, podczas gdy w rzeczywistości wiele parametrów wpływa na jakość produktu w sposób nieliniowy i często występują złożone interakcje między zmiennymi. Ponadto, klasyczne metody

statystyczne wymagają transformacji danych jakościowych na ilościowe oraz dyskretyzacji zmiennych ciągłych, co może prowadzić do utraty istotnych informacji. Dodatkowo, metody te mają ograniczoną zdolność do uwzględniania niespójności występujących w danych, które są powszechne w rzeczywistych procesach produkcyjnych, gdzie dwie podobne formułacje mogą dawać różne wyniki ze względu na nieuwzględnione czynniki lub błędy pomiarowe [3, 4].

W ostatnich latach obserwuje się rosnące zainteresowanie zastosowaniem metod sztucznej inteligencji i uczenia maszynowego w optymalizacji procesów farmaceutycznych. Metody te, jak np. sieci neuronowe, algorytmy genetyczne, drzewa decyzyjne czy metody oparte na zbiorach przybliżonych, oferują nowe możliwości analizy złożonych danych i odkrywania nieoczywistych zależności. Szczególnie obiecujące wydają się metody, które łączą zdolność do analizy dużych zbiorów danych z możliwością generowania zrozumiałych i interpretowanych przez człowieka reguł decyzyjnych, co jest kluczowe w kontekście regulowanego środowiska przemysłu farmaceutycznego [5-7].

W prezentowanym cyklu prac (H1, H2, H3) zaproponowano nowatorskie podejście do optymalizacji procesów w technologii farmaceutycznej, wykorzystujące zmodyfikowaną metodę zbiorów przybliżonych opartą na relacji dominacji (*Dominance-based Rough Set Approach*, DRSA). Metoda ta, opracowana przez Greco, Matarazzo i Słowińskiego, stanowi rozszerzenie klasycznej teorii zbiorów przybliżonych Pawłaka i dostosowana jest do analizy danych porządkowych i problemów wielokryterialnego podejmowania decyzji [8, 9].

DRSA oferuje unikalne zalety w kontekście analizy złożonych danych technologicznych, które czynią ją szczególnie przydatną w optymalizacji procesów farmaceutycznych. Do tych zalet należy:

1. Analiza danych porządkowych bez dyskretyzacji - w przeciwieństwie do klasycznej teorii zbiorów przybliżonych, DRSA umożliwia bezpośrednią analizę danych (zarówno jakościowych, jak i ilościowych) bez konieczności dyskretyzacji zmiennych ciągłych, co pozwala na zachowanie pełnej informacji zawartej w danych [10, 11].
2. Uwzględnianie niespójności - DRSA skutecznie radzi sobie z częściowymi niespójnościami w danych, które są powszechne w rzeczywistych procesach produkcyjnych.
3. Odkrywanie monotonicznych zależności - DRSA zakłada, że zbiory wartości atrybutów warunkowych są uporządkowane i monotonicznie zależne od porządku klas decyzyjnych. Pozwala to na odkrywanie zarówno globalnych, jak i lokalnych monotonicznych zależności między parametrami procesu a jakością produktu, co jest szczególnie istotne w kontekście optymalizacji procesów farmaceutycznych [12].

4. Generowanie interpretowanych reguł decyzyjnych - wynikiem analizy DRSA są reguły decyzyjne, które reprezentują zależności przyczynowo skutkowe między atrybutami warunkowymi a atrybutem decyzyjnym reguły. Reguły są minimalne, tzn. pozbawione są wszelkich informacji nadmiarowych, które mogą zaciemniać obraz analizowanych zależności. W regułach występują tylko istotne dla klasyfikacji obiektów atrybuty warunkowe. Zbiór reguł decyzyjnych jest skróconą wersją systemu informacyjnego pozbawionego wszelkich informacji nadmiarowych, niepotrzebnych, które nie mają wpływu na obraz zależności występujących między atrybutami warunkowymi a atrybutem decyzyjnym.

Reguły te są łatwo interpretowane przez operatora i mogą być bezpośrednio wykorzystane przez farmaceutów, technologów przy projektowaniu nowych formułacji [13, 14].

5. Kwantyfikowanie istotności atrybutów - DRSA umożliwia ocenę istotności poszczególnych atrybutów za pomocą miar confirmacji, które uwzględniają interakcje między atrybutami. Pozwala to na identyfikację krytycznych parametrów procesu i składu formułacji, które mają największy wpływ na jakość produktu [15, 16].

6. Elastyczność i adaptacyjność - metoda DRSA może być wykorzystana w optymalizacji rozwiązań różnych problemów w technologii farmaceutycznej, od optymalizacji składu formułacji po optymalizację parametrów procesu wytwarzania, co czyni ją uniwersalnym narzędziem wspomagającym podejmowanie decyzji w przemyśle farmaceutycznym.

7. Prosty, intuicyjny zapis analizowanych danych w formie tabelarycznego systemu informacyjnego.

Zastosowanie metody DRSA w technologii farmaceutycznej wpisuje się w szerszy trend wykorzystania zaawansowanych technik eksploracji danych i odkrywania wiedzy w przemyśle farmaceutycznym. Techniki te, określane często jako *data mining* lub *knowledge discovery in databases*, stanowią istotne uzupełnienie tradycyjnych metod statystycznych i mogą znacząco przyczynić się do realizacji koncepcji QbD poprzez umożliwienie głębszego zrozumienia złożonych procesów farmaceutycznych i identyfikację nieoczywistych zależności między parametrami procesu a jakością produktu [17-18].

Od wielu lat współpracuję z Zakładem Informatyki Politechniki Poznańskiej kierowanym przez prof. dr hab. Romana Słowińskiego. W ramach tej współpracy podjąłem się rozwiązywania problemów naukowych związanych z wykorzystaniem narzędzi informatycznych do wspomagania podejmowania decyzji w naukach farmaceutycznych. Kontynuując badania zależności struktura-aktywność podjąłem próbę wykorzystania modyfikowanej i ulepszonej metody DRSA w poszukiwaniu zależności przyczynowo skutkowych w analizie danych

z zakresu technologii farmaceutycznej. Przedstawione w osiągnięciu naukowym publikacje są wynikiem prac wielodyscyplinarnego zespołu, w którym pełniłem wiodącą rolę.

Założyłem dwukierunkowy cel badań:

1. sprawdzenie możliwości wykorzystania informatycznych narzędzi opartych o teorię zbiorów przybliżonych w optymalizacji procesów technologicznych różnych postaci leku, tj. poszukiwaniu istotnych/krytycznych parametrów procesowych dla otrzymania postaci leku należytej jakości odpowiadającej wymaganiom farmakopealnym (prace H1, H2, H3);
2. poszukiwanie optymalnej struktury związków chemicznych z grupy kationowych związków powierzchniowo czynnych o najlepszym działaniu przeciwdrobnoustrojowym (prace H4, H5).

4.3.1.2. Analiza DRSA

Teoria zbiorów przybliżonych, opracowana w 1982 roku przez prof. Zdzisława Pawłaka, stanowi matematyczne podejście do analizy pojęć nieostrych. W odróżnieniu od klasycznych zbiorów definiowalnych, zbiory przybliżone opisuje się za pomocą dwóch granic: dolnego przybliżenia (obejmującego obiekty, które jednoznacznie należą do danego zbioru) oraz górnego przybliżenia (obejmującego obiekty, które mogą, ale nie muszą do niego należeć) [19-21]. Różnica między nimi tworzy tzw. brzeg zbioru, czyli obszar niepewności. Podejście to nie skupia się na analizie pojedynczych obiektów, lecz na klasach obiektów wzajemnie nierozróżnialnych lub podobnych. Jest to szczególnie istotne w sytuacjach, w których pojęcia nie mają jednoznacznych definicji i mogą być opisane jedynie w sposób przybliżony. Teoria zbiorów przybliżonych stała się podstawą do opracowania efektywnych metod analizy danych – umożliwia m.in. identyfikację zależności między danymi, redukcję liczby atrybutów, ocenę ich istotności oraz generowanie przejrzystych reguł decyzyjnych. Dzięki temu znalazła zastosowanie w wielu dziedzinach, takich jak farmacja, medycyna, ekonomia czy ochrona środowiska.

Rozszerzeniem klasycznej teorii jest *Dominance-based Rough Set Approach* (DRSA), która opiera się nie na relacjach równoważności, lecz na relacji dominacji – a więc porównywaniu obiektów pod względem „lepszości” lub „większości” wartości atrybutów. Metoda ta została zastosowana, ponieważ idealnie pasuje do analizy danych o charakterze jakościowym i ilościowym, bez konieczności ich dyskretyzacji. Dodatkowo DRSA dobrze radzi sobie z niespójnością danych i pozwala wykrywać zarówno lokalne, jak i globalne zależności monotoniczne pomiędzy atrybutami warunkowymi a decyzją.

Zaletą DRSA jest możliwość generowania reguł decyzyjnych, które wskazują zakresy wartości cech charakterystycznych dla konkretnych klas, np. klas aktywności biologicznej lub technologicznej. Reguły te są szczególnie przydatne na etapie projektowania formulacji lub procesów – np. przy planowaniu syntezy związków o określonej aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

Ponieważ analiza może wygenerować dużą liczbę reguł, konieczne jest ich usystematyzowanie i ocena. W tym celu stosuje się miary atrakcyjności reguł, które pozwalają określić ich użyteczność. Mogą mieć charakter probabilistyczny lub deterministyczny i odzwierciedlają siłę związku między przesłanką a konkluzją danej reguły. Dzięki temu możliwa jest selekcja najbardziej wartościowych zależności, które stanowią podstawę interpretacji wyników.

W celu zbadania związku pomiędzy strukturą chemiczną i właściwościami powierzchniowymi związków bis-imidazoliowych a ich aktywnością biologiczną lub związku pomiędzy parametrami charakteryzującymi postać leku a jej właściwościami, wykorzystano oprogramowanie jMAF (*Rough Set Data Analysis Framework*), bazujące na bibliotece jRS (java Rough Set), opracowane przez Zakład Inteligentnych Systemów Wspomagania Decyzji w Instytucie Informatyki Politechniki Poznańskiej. Program ten, bazujący na teorii zbiorów przybliżonych z wykorzystaniem relacji dominacji (*Dominance-based Rough Set Approach, DRSA*), posłużył do generowania reguł decyzyjnych.

Ranking atrybutów

Do utworzenia rankingu atrybutów zastosowano bayesowski współczynnik confirmacji s , zdefiniowany jako:

$$s(\varphi \rightarrow \psi) = \Pr(\psi \mid \varphi) - \Pr(\psi \mid \neg\varphi)$$

gdzie:

φ – przesłanka,

ψ – konkluzja/decyzja,

$\Pr$ – prawdopodobieństwo.

Wartość s odzwierciedla, w jakim stopniu obecność danego atrybutu w warunkowej części reguły przyczynia się do potwierdzenia lub obalenia decyzji. Współczynnik wzrasta, gdy reguły zawierające ten atrybut prowadzą do trafnych decyzji, a jego brak w regułach wiąże się z błędną klasyfikacją. W przeciwnym przypadku wartość s maleje. Współczynnik confirmacji przyjmuje wartości w zakresie od -1 do 1.

Kroswalidacja warstwowa

Warstwowa (stratyfikowana) kroswalidacja to metoda oceny modeli, polegająca na losowym podziale danych na zbiór uczący i testowy w taki sposób, aby proporcje klas pozostały niezmiennicze względem oryginalnego zestawu danych. W analizie każdy zestaw danych poddano losowemu podziałowi w odpowiednim stosunku (części uczące i część testowa). Następnie wygenerowane reguły decyzyjne były testowane na danych testowych. Proces ten powtarzano wielokrotnie. Najlepsze reguły ze wszystkich powtórzeń zostały uznane za końcowe.

System informacyjny

Do przeprowadzenia analizy SAR konieczne było przygotowanie systemu informacyjnego w postaci tabeli, zawierającej informacje o strukturze chemicznej, właściwościach powierzchniowych i aktywności biologicznej badanych związków lub odpowiednio o parametrach i właściwościach badanych formułacji farmaceutycznych. Każdy związek lub formułacja farmaceutyczna (obiekt) opisane były zestawem cech (atrybutów) – zarówno warunkowych, jak i decyzyjnych. Dane dotyczące właściwości powierzchniowych chlorków amoniowych oraz ich struktury, a także dane opisujące składy formułacji farmaceutycznych i parametry technologiczne stanowiły atrybuty warunkowe, natomiast aktywność przeciwdrobnoustrojowa lub parametr opisujący właściwości postaci leku pełniły rolę atrybutu decyzyjnego. W tabeli każdy wiersz reprezentował obiekt (związek chemiczny lub formułację farmaceutyczną), kolumny – atrybuty, a przecięcia zawierały konkretne wartości (deskryptory) przypisane danym obiektom.

Reguły decyzyjne

Na podstawie systemu informacyjnego wygenerowano reguły w postaci „jeśli ϕ , to ψ ”, gdzie ϕ stanowi zbiór warunków (przesłanka), a ψ jest decyzją lub przypisaniem do klasy. Reguły te są zbudowane z pojedynczych warunków, które przyjmują postać par: atrybut – wartość, powiązanych relacjami takimi jak $=$, $<$, $\leq$, $\geq$ lub $>$. Atrybuty decyzyjne pojawiają się wyłącznie po stronie konkluzji. Jeśli podział na atrybuty warunkowe i decyzyjne jest ustalony i niezmienny, reguły te określane są jako decyzyjne.

Reguły pokazują, w jaki sposób atrybuty warunkowe wpływają na decyzję oraz są pozbawione zbędnych informacji, które mogłyby zaciemniać analizę zależności przyczynowo skutkowych. Składają się wyłącznie z tych cech, które są istotne dla klasyfikacji obiektów. Zestaw reguł decyzyjnych to zwięzła reprezentacja systemu informacyjnego, zawierająca jedynie informacje mające wpływ na relacje między atrybutami. Ich jakość oceniana jest za pomocą współczynnika confirmacji s , który określa, w jakim stopniu warunki reguły wspierają jej część decyzyjną, czyli jak trafnie klasyfikują obiekty do odpowiednich klas.

Omówienie prac H1, H2 i H3

W kontekście rosnącego znaczenia podejścia QbD w rozwoju produktów farmaceutycznych zadaniem o kluczowym znaczeniu dla współczesnej technologii farmaceutycznej jest poszukiwanie nowych metod analizy złożonych danych technologicznych i odkrywania zależności między parametrami procesu a jakością produktu. Głównym celem podjętych badań w **pracy H1** *Optymalizacja procesu wytwarzania peletek z wykorzystaniem zbiorów przybliżonych* było zastosowanie metody DRSA do oceny krytycznych parametrów procesu wytwarzania peletek i odkrycia zależności między właściwościami peletek (skład, parametry technologiczne wytwarzania) a jakością produktu, zdefiniowaną przez współczynnik kształtu (*aspect ratio*, AR). Badania miały na celu identyfikację parametrów procesu i składu, które mają istotny wpływ na uzyskanie peletek o optymalnym, sferycznym kształcie, oraz zbadanie wpływu karagenu jako alternatywy dla celulozy mikrokrystalicznej (MCC) w formulacji peletek. Badania przeprowadzono na zbiorze danych opisujących parametry wytwarzania i jakość peletek, pochodzących z wcześniejszych badań zespołu prof. Kleinebudde [22-25]. Analiza dotyczyła wpływu różnych substancji pomocniczych i parametrów technologicznych na kształt peletek. Zbiór danych obejmował 227 formulacji. Każda formulacja (obiekt) została opisana przez zbiór atrybutów warunkowych i jeden atrybut decyzyjny (Tabela 1). Atrybuty warunkowe obejmowały skład ilościowy formulacji: zawartość substancji czynnej (paracetamol, teofilina, mesalazyna, hydrochlorotiazyd, fenacetyna, chloramfenikol, dimenhidramina, lidokaina), zawartość substancji pomocniczych (laktoza, mannitol, skrobia, fosforan dwuwapniowy, MCC, κ-karagen - Satiagel®, Gelcarin® GP 812 NF, Gelcarin® GP 911 NF, Genugel® X-930-03); właściwości API: logP, rozpuszczalność; parametry procesu produkcyjnego: ekstruzja (prędkość obrotu ślimaka, liczba otworów w matrycy), sferonizacja (prędkość obrotowa, czas, temperatura), temperaturę suszenia; stratę masy po suszeniu. Jako atrybut decyzyjny klasyfikujący obiekty na dwie klasy przyjęto współczynnik kształtu (AR), zdefiniowany jako stosunek maksymalnej długości peletki do jej szerokości mierzonej prostopadle. Wartości AR zostały zdyskretyzowane na podstawie obserwacji, że peletki o optymalnym kształcie mają $AR \leq 1.1$ (klasa 1), a peletki o kształcie nieprawidłowym (nieregularnym) mają $AR > 1.1$ (klasa 2).

Tabela 1. Fragment systemu informacyjnego peletki z pracy H1.

Lp.	API [%]	logP of API	rozpuszczalność [g/l]	laktoza [%]	Mannitol [%]	skrobia [%]	CaHPO ₄ [%]	Satiagel [%]	Gel812 [%]	Gel911 [%]	Genugel [%]	MCC [%]	prędkość śliamaka [rpm]	Liczba otworów matrycy	Prędkość sferonizacji [rpm]	Temperatura sferonizacji [°C]	Czas sferonizacji [s]	Temperatura suszenia [°C]	Strata masy po suszeniu [%]	AR
1	80	0.5	14.3	0	0	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	58.70	1.1545
2	80	0.5	14.3	0	0	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	64.40	1.1221
3	80	0.5	14.3	0	0	0	0	0	0	0	0	20	100	23	750	25	300	105	56.20	1.0697
4	80	0.5	14.3	0	0	0	0	0	0	0	0	20	100	23	750	25	300	105	53.00	1.0692
5	80	0.5	14.3	0	0	0	0	0	0	0	0	20	100	23	750	25	300	105	58.60	1.0681
6	60	0.5	14.3	20	0	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	85.20	1.0721
7	60	0.5	14.3	20	0	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	77.50	1.0949
8	60	0.5	14.3	20	0	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	74.30	1.1454
9	40	0.5	14.3	40	0	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	74.00	1.0839
10	40	0.5	14.3	40	0	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	67.00	1.1301
11	40	0.5	14.3	40	0	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	79.90	1.0878
12	20	0.5	14.3	60	0	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	75.23	1.1349
13	20	0.5	14.3	60	0	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	70.09	1.1717
14	20	0.5	14.3	60	0	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	81.20	1.1177

15	40	0.5	14.3	40	0	0	0	0	0	0	0	20	100	23	750	25	300	105	48.40	1.0742
16	40	0.5	14.3	40	0	0	0	0	0	0	0	20	100	23	750	25	300	105	50.50	1.0693
17	40	0.5	14.3	40	0	0	0	0	0	0	0	20	100	23	750	25	300	105	54.10	1.0784
18	60	0.5	14.3	0	20	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	79.00	1.0751
19	60	0.5	14.3	0	20	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	72.00	1.0806
20	60	0.5	14.3	0	20	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	66.00	1.0859
21	40	0.5	14.3	0	40	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	71.50	1.0702
22	40	0.5	14.3	0	40	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	65.60	1.0835
23	20	0.5	14.3	0	60	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	72.20	1.0669
24	20	0.5	14.3	0	60	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	65.20	1.0800
25	20	0.5	14.3	0	60	0	0	0	0	20	0	0	100	23	750	25	300	105	58.90	1.1166

Do analizy danych zastosowano metodę DRSA. Analizę przeprowadzono przy użyciu biblioteki jRS (java Rough Set) i oprogramowania jMAF (*java Multi-criteria and Multi-attribute Analysis Framework*). Reguły decyzyjne generowano za pomocą algorytmu VC-DomLEM. Niektóre atrybuty zostały poddane transformacji poprzez duplikację, tworząc dwie kopie: jedną zakładającą pozytywną (*gain*) monotoniczną zależność z klasą decyzyjną, a drugą zakładającą negatywną (*cost*) zależność. Pozwoliło to na odkrywanie zarówno globalnych, jak i lokalnych zależności monotonicznych. Generowano reguły decyzyjne w postaci “jeśli E, to H”, gdzie E jest koniunkcją warunków elementarnych dotyczących atrybutów warunkowych, a H jest przypisaniem do klasy decyzyjnej. Reguły charakteryzowano przez ich siłę (*support*) oraz miarę confirmacji *s*. Miara ta kwantyfikuje stopień, w jakim przesłanka reguły wspiera jej konkluzję. Wykorzystano ją również do utworzenia rankingu atrybutów warunkowych pod względem ich wpływu na poprawną klasyfikację peletek.

Tabela 2. Reguły decyzyjne dla klasy 1 w zbiorze peletki.

lp.	API [%]	logP	rozpuszczalność [g/l]	Laktoza [%]	Skrobia [%]	Gel911 [%]	Gel812 [%]	Liczba otworów matrycy	Strata masy po suszeniu [%]	Liczba obiektów	Siła reguły	Miara confirmacji <i>s</i>
1			≤0.8						≥82.7	50	0.2202	0.52
2		≤0.5			≤20			≥23	≥70.9	46	0.2026	0.51
3			≤0.8						≥85.1	46	0.2026	0.51
4	≥40	≤0.5				≥20		≥23	≥74.0	45	0.1982	0.52
5			≤0.7						82.51–116	44	0.1938	0.51
6			≤0.7						79.0–109.84	43	0.1894	0.58
7									85.1–97.18	43	0.1894	0.51
8			≤0.7						82.51–106.3	40	0.1762	0.51
9									86.2–97.53	38	0.1674	0.52
10	≤40	≤0.5		≤40	≤0			≥23		37	0.1629	0.51
11									86.3–97.53	36	0.1585	0.51
12			≤0.7						86.92–106.3	35	0.1541	0.51
13			≤0.7						82.7–102.38	35	0.1541	0.51
14			≤0.7						86.92–104.3	34	0.1497	0.51
15			≥8.33		≤40				≥77.5	32	0.1409	0.51
16			≤0.7			≥20			≥77.9	31	0.1365	0.51
17			≤0.7				≤0		81.0 -102.38	30	0.1321	0.51
18		≤0.5			≤0			≥23	≥79.0	28	0.1233	0.51
19			≤0.7						89.36–109.8	28	0.1233	0.51
20			≤0.7			≥20			81.0–121.77	26	0.1145	0.51

W pracy zastosowano procedurę 5-krotnej stratyfikowanej walidacji krzyżowej, powtórzoną 1000 razy, w połączeniu z techniką VC-bagging, aby ocenić dokładność predykcyjną reguł i

zwiększyć wiarygodność wyników. Wygenerowano zestaw reguł decyzyjnych dla klasy 1 (Tabela 2). Reguły te wskazują na cechy prowadzące do uzyskania peletek o optymalnym, sferycznym kształcie ($AR \leq 1.1$). Najsilniejsze reguły wskazują, że optymalny kształt peletek można uzyskać, gdy formułacja charakteryzuje się następującymi cechami:

- rozpuszczalność $API \leq 0.8$ g/l i strata masy po suszeniu $\geq 82.7\%$;
- $\log P \text{ API} \leq 0.5$ i zawartość skrobi $\leq 20\%$, liczba otworów w matrycy ekstrudera sporządzanej formułacji ≥ 23 , strata masy po suszeniu $\geq 70.9\%$.

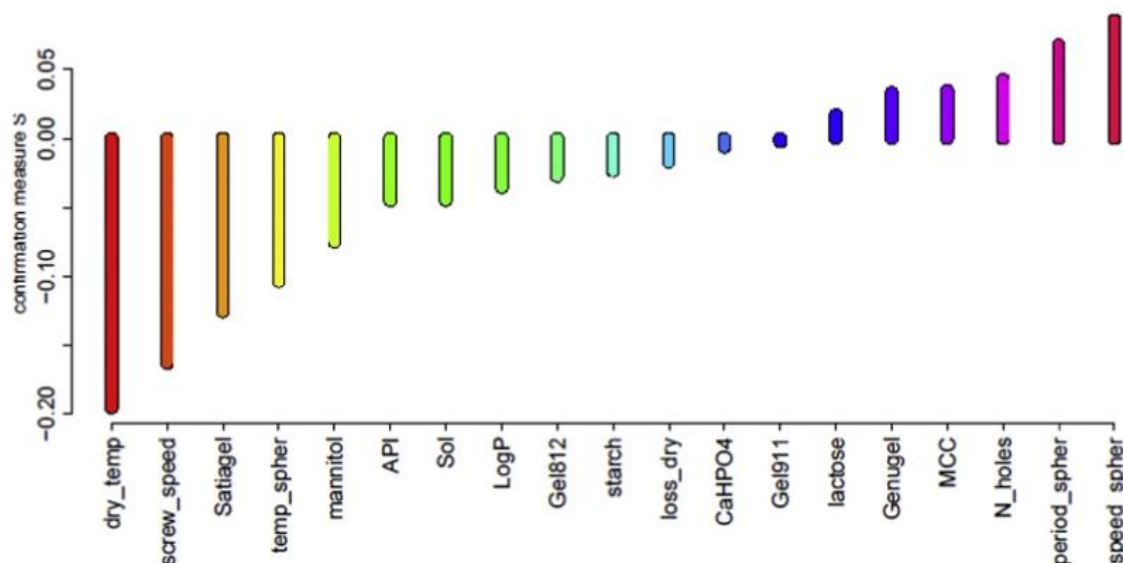
Korzystnie na prawidłowy kształt peletek wpływają również cechy formułacji wygenerowane w słabszych regułach decyzyjnych:

- zawartość $API \geq 40.0\%$, $\log P \text{ API} \leq 0.5$, zawartość κ -karagenu (Gel911) $\geq 20.0\%$, liczba otworów w matrycy ekstrudera sporządzanej formułacji ≥ 23 , strata masy po suszeniu $\geq 74\%$;
- rozpuszczalność $API \leq 0.7$ g/l i strata masy po suszeniu w zakresie 79–109.84%.

Wygenerowano również zestaw reguł decyzyjnych dla klasy 2, które dostarczają informacji o atrybutach i ich wartościach, które niekorzystnie wpływają na kształt peletek ($AR > 1.1$), tj. o składzie i parametrach procesu, których należy unikać. Najsilniejsze reguły w tej klasie wskazują, że do uzyskania peletek o nieprawidłowym kształcie prowadzą m.in.:

- liczba otworów w matrycy ekstrudera ≤ 13 , prędkość obrotowa ≤ 750 rpm, strata masy po suszeniu $\leq 82.1\%$;
- rozpuszczalność $API \leq 0.8$ g/l, prędkość obrotu ślimaka ≤ 125 rpm, liczba otworów w matrycy ekstrudera ≤ 13 , prędkość obrotowa ≤ 750 rpm, strata masy po suszeniu $\leq 82.1\%$;
- rozpuszczalność $API \leq 0.8$ g/l; liczba otworów w matrycy ≤ 13 , prędkość obrotowa ≤ 750 rpm, temperatura sferonizacji ≤ 30 °C i strata masy po suszeniu $\leq 82.1\%$.

Wpływ atrybutów warunkowych występujących w regułach decyzyjnych na klasyfikację obiektów przedstawiono na Ryc. 1. Im wyższa wartość miary confirmacji s atrybutu, tym większy jego wpływ na poprawną klasyfikację obiektów. Największy wpływ na poprawną klasyfikację obiektów miały atrybuty związane z ekstruzją i sferonizacją, tj. czas i prędkość sferonizacji oraz liczba otworów w matrycy. Z kolei wśród substancji pomocniczych istotnie wpływających na klasyfikację obiektów znajdują się ilość MCC, Genugelu oraz laktozy.



Ryc. 1. Istotność atrybutów predykcyjnych w procesie wytwarzania peletek.

Dokładność klasyfikacji uzyskana w analizie DRSA z techniką VC-bagging była wysoka, osiągając średnio 84.6% dla klasy 1 i 81.1% dla klasy 2. Wyniki te potwierdzają wiarygodność wygenerowanych reguł decyzyjnych. Analiza wykazała także, że strata masy po suszeniu (*loss on drying*, LOD), odzwierciedlająca zawartość wody w ekstrudacie, jest istotnym czynnikiem wpływającym na kształt peletek. Optymalne zakresy LOD różnią się w zależności od składu formulacji, w szczególności od obecności MCC lub karagenu oraz rozpuszczalności API i substancji pomocniczych. Dla formulacji z karagenem wymagana jest wyższa zawartość wody (LOD w zakresie 81-117%) w porównaniu do formulacji z MCC (LOD $\leq 44\%$ i $\leq 56\%$). Różnica w wymaganej zawartości wody wynika z różnej rozpuszczalności składników i ich zdolności do wiązania wody [26, 27].

Rozpuszczalność i logP substancji czynnej mają także istotny wpływ na proces peletyzacji. Substancje dobrze rozpuszczalne w wodzie mogą tworzyć lepkie roztwory podczas ekstruzji, utrudniając sferonizację i prowadząc do powstawania dużych peletek. Z kolei substancje hydrofobowe (wysoki logP) mogą wymagać specyficznych warunków procesu. Rodzaj i ilość substancji pomocniczych, takich jak laktoza, mannitol, skrobia, CaHPO₄, MCC i różne typy karagenu, wpływają na właściwości ekstrudatu i ostateczny kształt peletek. Reguły decyzyjne wskazują na konkretne kombinacje substancji pomocniczych sprzyjające lub utrudniające uzyskaniu sferycznych peletek. Istotnym parametrem technologicznym wytwarzania peletek okazała się liczba otworów w matrycy ekstrudera. Większa liczba otworów (≥ 23) sprzyjała uzyskaniu peletek o optymalnym kształcie, podczas gdy mniejsza liczba (≤ 13) często

przewodziła do otrzymywania peletek nieregularnych. Inne parametry procesu, jak prędkość obrotu ślimaka czy prędkość obrotowa sferonizatora, miały mniejsze znaczenie w analizowanym zakresie, co może wynikać z ich wcześniejszej optymalizacji [28, 29].

W pracy Ronowicz et. al. [30] autorzy również wskazali na krytyczną rolę warunków procesu – takich jak prędkość i czas sferonizacji, liczba otworów w matrycy oraz zawartość wody w ekstrudacie – jako głównych determinantów kształtu peletek. Co istotne, w przeciwieństwie do przedstawionych tu wyników, w której substancje pomocnicze i API miały istotny wpływ na klasyfikację obiektów, model CART (*Classification and Regression Trees*) Ronowicz i wsp. nie uwzględnił tych zmiennych jako istotnych — zostały one odrzucone przez algorytm jako nieistotne statystycznie. Wyniki uzyskane w ramach badań są spójne z wcześniejszymi doniesieniami literaturowymi, m.in. Bornhöft et al. [31], co dodatkowo potwierdza wiarygodność opracowanego modelu. Ponadto, badania prowadzone przez Mendyka i wsp. [32] z wykorzystaniem sieci neuronowych i analizy czułości również wykazały istotność parametrów sferonizacji, takich jak prędkość obrotowa i czas trwania procesu, jako czynników determinujących jakość peletek. Jednocześnie podkreślono, że zmienne dotyczące składu formulacji mają mniejsze znaczenie niż właściwie zaprojektowana technologia przygotowania. Różnice te mogą wynikać z odmiennego charakteru zastosowanych metod. Analiza DRSA umożliwia precyzyjne formułowanie reguł decyzyjnych i ocenę wpływu zmiennych na podstawie dominacji cech i ich udziału w poprawnej klasyfikacji, podczas gdy CART skupia się na przewidywaniu wartości wyjściowej (kształtu) na podstawie algorytmicznego podziału przestrzeni danych. W efekcie, metoda DRSA może lepiej uwzględniać subtelne interakcje pomiędzy formulacją a warunkami procesu, które niekoniecznie manifestują się jako istotne w modelach regresyjnych. Z kolei sztuczne sieci neuronowe, wykorzystane w badaniach Mendyka, reprezentują odmienne podejście: skupiają się na odwzorowaniu złożonych, nieliniowych zależności między zmiennymi, jednak ich działanie ma charakter „czarnej skrzynki” i jest trudniejsze do bezpośredniej interpretacji. Choć skutecznie identyfikują zmienne kluczowe dla określonych właściwości peletek (np. kształtu), nie oferują tak przejrzystych reguł jak DRSA czy CART. Mimo to, analiza wrażliwości przeprowadzona w ramach modelowania neuronowego potwierdziła, że czas i prędkość sferonizacji należą do najważniejszych czynników kształtujących właściwości peletek.

Wygenerowane reguły decyzyjne dostarczają więc wyraźnych, jednoznacznych wskazówek otrzymanych w analizie badanych formulacji i mogą być bezpośrednio wykorzystane do

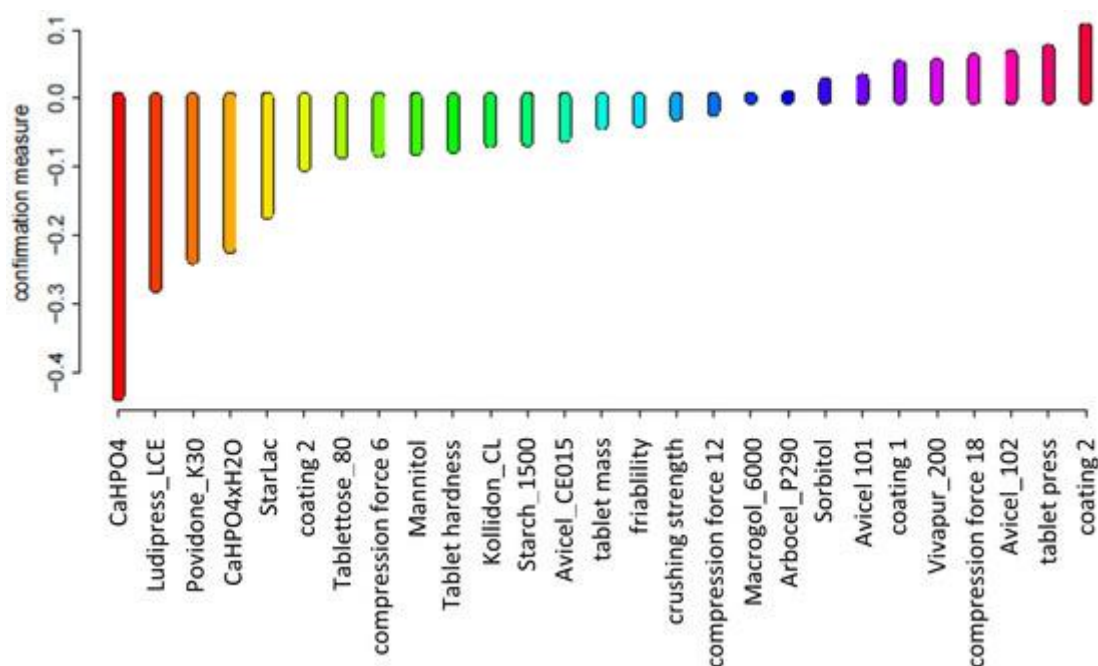
optymalizacji procesu wytwarzania peletek, minimalizując liczbę potrzebnych eksperymentów i przyspieszając rozwój produktu zgodnie z zasadami QbD.

Głównym celem podjętych badań w **pracy H2** *Zastosowanie opartego na zbiorach przybliżonych podejścia dominacji w optymalizacji procesu tabletkowania peletek* było zastosowanie podejścia DRSA do eksploracji i odkrywania zależności występujących między danymi opisującymi skład, właściwości i parametry procesu, czyli atrybutami warunkowymi a jakością tabletek otrzymanych w procesie kompresji peletek z chlorowodorkiem werapamilu jako substancją czynną, czyli atrybutem decyzyjnym, wyrażonym jako współczynnik podobieństwa f_2 . Badania miały na celu identyfikację kluczowych parametrów wpływających na profil uwalniania substancji czynnej z peletek po procesie tabletkowania oraz opracowanie wytycznych do optymalizacji składu i parametrów procesu tabletkowania. Badania przeprowadzono na zbiorze danych opisujących parametry procesu tabletkowania peletek, skład masy tabletkowej i właściwości tabletek, pochodzących z wcześniejszych badań zespołu prof. Sawickiego [33-35]. W badaniach tych analizowano wpływ różnych substancji pomocniczych i parametrów technologicznych na proces otrzymywania tabletek zawierających peletki. Stworzono system informacyjny w postaci tabelarycznej, w której zbiór obiektów (formulacje tabletek z peletkami) został opisany przez zbiór atrybutów warunkowych i jeden atrybut decyzyjny klasyfikujący otrzymane tabletki na dwie klasy w zależności od wartości współczynnika podobieństwa f_2 . System informacyjny składał się ze 180 formulacji/obiektów. Każda formulacja była scharakteryzowana przez atrybuty warunkowe opisujące: skład masy tabletkowej, właściwości tabletek, typ użytej tabletkarki, siłę kompresji oraz rodzaj otoczki polimerowej peletek. Głównymi polimerami tworzącymi otoczkę były: Eudragit NE (*coating* 1), etyloceluloza (*coating* 2) lub szelak (*coating* 3). Jako atrybut decyzyjny klasyfikujący obiekty przyjęto współczynnik podobieństwa f_2 profili uwalniania substancji czynnej z tabletek. Współczynnik ten jest jedną z podstawowych metod oceny podobieństwa profili uwalniania substancji czynnej w warunkach in vitro z tabletek wytwarzanych w procesie kompresji peletek [36]. Jest to łatwa w interpretacji miara, której wartości mieszczą się w przedziale od 0 do 100. Przyjęto, że wartość f_2 większa niż 50 świadczy o istotnym podobieństwie profili uwalniania API z tabletek w porównaniu z uwalnianiem API z peletek. Zarówno Europejska Agencja Leków, jak i FDA uznają taki wynik za wystarczający dowód na porównywalność uwalniania substancji leczniczej [37, 38]. Współczynnik f_2 obliczono przy użyciu *DDSolver*, gdzie formulacją referencyjną były peletki powlekane polimerem przed tabletkowaniem, a formulacją testową

były peletki po tabletkowaniu. W trakcie analizy wartości f_2 zostały zdyskretyzowane następująco: tabletki z profilem uwalniania substancji czynnej podobnym do peletek - $f_2 \geq 50$ - klasa 1; tabletki z profilem uwalniania substancji czynnej różnym od peletek - $f_2 < 50$ - klasa 2.

Wygenerowano zestaw 20 najsilniejszych reguł decyzyjnych dla klas 1 i 2. Reguły dla klasy 1 identyfikują cechy formulacji i parametry procesowe, które sprzyjają uzyskaniu podobnych profili uwalniania substancji czynnej przed i po tabletkowaniu ($f_2 \geq 50$). Najsilniejsze z nich przedstawiają najistotniejsze parametry prowadzące do otrzymania tabletek o najlepszych profilach uwalniania API z tabletek i są to: brak otoczki etylocelulozowej peletek, obecność Eudragitu NE, siła kompresji powyżej 6 kN, twardość tabletek ($\geq 42,4$ N), brak niektórych substancji pomocniczych (np. Avicel 101, Povidone K30, Mannitol) oraz obecność Avicelu 102. Reguły dla klasy 2 wskazują natomiast na kombinacje cech, które prowadzą do niekorzystnego profilu uwalniania API po tabletkowaniu. Do takich czynników należą: użycie tabletkarki rotacyjnej, zbyt niska wytrzymałość na zgniatanie, brak otoczki z Eudragitu NE, niska siła kompresji oraz obecność substancji takich jak Kollidon Cl w wysokim stężeniu.

W analizie wpływu atrybutów warunkowych na klasyfikację obiektów wyrażonej miarą confirmacji s (Ryc. 2) wykazano, że największy wpływ na klasyfikację (wysokie wartości miary confirmacji s) mają następujące atrybuty: typ otoczki, obecność określonych substancji pomocniczych (Avicel 101 i 102, Vivapur 200), siła kompresji oraz rodzaj zastosowanej tabletkarki.



Ryc. 2. Istotność atrybutów predykcyjnych w procesie tabletkowania peletek.

Dane dotyczące tabletkowania peletek zostały również przeanalizowane z wykorzystaniem dwóch metod porównawczych: *Random Forest* oraz regresji logistycznej. Wyniki klasyfikacji uzyskane metodą DRSA okazały się porównywalne, a w niektórych przypadkach lepsze niż w analizach z użyciem metod referencyjnych. Dla metody *Random Forest* średnia dokładność klasyfikacji wynosiła 82,72% dla klasy 1 oraz 80,24% dla klasy 2. W przypadku regresji logistycznej dokładność była niższa – odpowiednio 78,34% dla klasy 1 i 78,32% dla klasy 2. Metoda DRSA osiągnęła ogólną średnią dokładność klasyfikacji równą 82,74%, co potwierdza jej wysoką skuteczność. Dodatkowo, wartość średniej precyzji dla DRSA wynosiła 82,75%, co jest zbliżone do *Random Forest* (83,12%) i wyższe niż dla regresji logistycznej (78,40%). Wyniki te wskazują, że DRSA może być skuteczną i zarazem transparentną metodą wspierającą projektowanie i ocenę jakości formulacji farmaceutycznych, oferując przy tym zrozumiałe reguły decyzyjne, w przeciwieństwie do tzw. metod czarnej skrzynki.

Uzyskane reguły decyzyjne mogą być wykorzystane do optymalizacji składu i procesu tabletkowania peletek, w celu uzyskania odpowiedniego profilu uwalniania substancji czynnej. Metoda DRSA okazała się po raz kolejny efektywnym narzędziem do analizy danych technologicznych w farmacji i może wspierać wytwarzanie formulacji zgodnie z podejściem QbD. Wnioski mają zarówno wartość teoretyczną, w kontekście nowych metod analizy danych porównanych z innymi narzędziami stosowanymi w odkrywaniu wiedzy ukrytej w danych, jak

i praktyczną – wspierając optymalizację procesów wytwarzania wielozbiornikowych systemów peletkowych, co przekłada się na jakość i skuteczność terapeutyczną produktu końcowego.

Praca H3 *Zastosowanie metody zbiorów przybliżonych opartych na relacji dominacji w optymalizacji dopochwowych postaci leku*, koncentruje się na dopochwowych postaciach leku, takich jak tabletki i globulki. Głównym celem podjętych badań była identyfikacja kluczowych związków przyczynowo-skutkowych występujących pomiędzy składem i parametrami technologicznymi tych postaci leku a ich jakością, mierzoną wartością pH uzyskiwaną w środowisku pochwy po aplikacji.

W pracy wykorzystano metodę zbiorów przybliżonych opartą na relacji dominacji (DRSA), stanowiącą rozszerzenie klasycznej teorii zbiorów przybliżonych (RST). Wybór tej metody podyktowany był jej unikalnymi zaletami wspomnianymi już wcześniej w części 4.3.1.1. Każdy atrybut opisujący proces technologiczny został zduplikowany i potraktowany zarówno jako atrybut typu zysk, jak i koszt. Analizę przeprowadzono przy użyciu specjalistycznego oprogramowania jRS i jMAF, bazującego na metodologii DRSA.

Badania przeprowadzono na zbiorze danych obejmującym 123 formułacje dopochwowe (tabletki i globulki), pochodzących z wcześniejszych badań zespołu Małolepszej-Jarmołowskiej, dotyczących wpływu substancji pomocniczych na zmiany kwasowości pochwy i uzyskanie przedłużonego uwalniania kwasu mlekowego (LA) z kompleksów z chitozanem lub Eudragitem E-100 [39-42]. Każda formułacja (obiekt) została szczegółowo scharakteryzowana za pomocą atrybutów warunkowych: rodzaj postaci leku (tabletki/globulki), zawartość procentowa metylocelulozy (0–89.46%), glicerolu (0–25%), kwasu mlekowego (1.40–6.73%), rodzaj polimeru kompleksującego (Eudragit lub chitozan), stosunek kwasu mlekowego do polimeru (1:1, 2:1, 3:1, 4:1) oraz lepkość po spęczeniu (η_{sp}/c 19–877 mPa·s). Atrybutem decyzyjnym/wynikowym klasyfikującym obiekty były wartości pH uzyskane w pochwie po aplikacji, na podstawie których dokonano dyskretyzacji, dzieląc formułacje na dwie klasy: “dobra” (klasa 1: pH pochwy w fizjologicznym zakresie 3,5–4,4) oraz “zła” (klasa 2: pH pochwy <3,5 lub >4,4).

Zastosowanie metody DRSA pozwoliło na wygenerowanie reguł decyzyjnych w postaci “JEŻELI [takie wartości atrybutów warunkowych] TO [taka klasa decyzyjna]”. Reguły te opisują najistotniejsze zależności między składem i parametrami technologicznymi formułacji, a ich zdolnością do utrzymywania fizjologicznego pH pochwy. W celu oceny istotności atrybutów warunkowych dla klasyfikacji obiektów i siły reguł decyzyjnych wykorzystano miary konfirmacji, uwzględniające interakcje między

atrybutami. Walidacja modelu została przeprowadzona z wykorzystaniem procedury 10-krotnej stratyfikowanej walidacji krzyżowej (podział na zbiór uczący (treningowy) i testowy w stosunku 9:1), powtórzonej 20-krotnie dla zapewnienia powtarzalności wyników. Zastosowano również technikę VC-bagging do generowania zestawów reguł. Uzyskana wysoka dokładność predykcyjna potwierdziła wiarygodność i użyteczność wygenerowanych reguł. Analiza wygenerowanych reguł decyzyjnych oraz ocena istotności atrybutów dokonana za pomocą miar konfirmacji wskazały, że kluczowe znaczenie dla utrzymania fizjologicznego pH pochwy (klasa 1) ma zawartość kwasu mlekowego (LA) oraz stosunek LA do polimeru (LA:P) formulacji. Przykładowo, w klasie 1 otrzymano reguły decyzyjne wskazujące na najskuteczniej działające formułacje zawierające niskie stężenia kwasu mlekowego (2,24-2,80%) lub niski stosunek LA:P (1:1, 2:1) w powiązaniu z określoną lepkością formulacji. Badania potwierdziły korzystny wpływ chitozanu jako polimeru kompleksującego na zdolność formulacji do fizjologicznej regulacji pH środowiska pochwy. Reguły dla klasy 2 (pH pochwy poza zakresem fizjologicznym) często wiązały się z wyższymi stężeniami kwasu mlekowego (LA) (np. $\geq 4.48\%$), wyższym stosunkiem LA:P (np. 3:1, 4:1) oraz zastosowaniem Eudragitu jako polimeru, w połączeniu z niższymi wartościami lepkości formulacji. Ponadto w analizie wykazano, że rodzaj postaci leku (tabletki czy globulki) nie miał wpływu na klasyfikację formulacji pod względem ich zdolności do utrzymywania fizjologicznego pH.

W pracy przedstawiono nowatorskie zastosowanie DRSA do rozwiązywania problemów technologicznych i optymalizacji parametrów wytwarzania w technologii stałych postaci leku dopochwowych. Opracowane i zwalidowane reguły decyzyjne dostarczają cennych wskazówek dla przemysłu farmaceutycznego, opartych na danych eksperymentalnych, umożliwiając bardziej racjonalne i efektywne projektowanie formułacji dopochwowych stałych postaci leku o pożądanych właściwościach fizykochemicznych i terapeutycznych, w szczególności zdolności do utrzymania fizjologicznego pH pochwy. Wyniki badań przyczyniają się do głębszego zrozumienia złożonych interakcji między składem formulacji a ich funkcjonalnością, co jest kluczowe dla rozwoju skutecznych i bezpiecznych leków dopochwowych.

4.3.2. *Badania związane z analizą struktura-aktywność (z poszukiwaniem nowych związków chemicznych o spodziewanym działaniu przeciwdrobnoustrojowym).*

4.3.2.1. Wprowadzenie

Narastająca oporność drobnoustrojów na dostępne leki przeciwdrobnoustrojowe stanowi jedno z najpoważniejszych zagrożeń dla zdrowia publicznego w XXI wieku. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), antybiotykooporność jest obecnie jednym z dziesięciu najważniejszych globalnych zagrożeń dla zdrowia ludzkości. Szacuje się, że infekcje wywołane przez lekooporne patogeny powodują rocznie około 700 000 zgonów na świecie, a liczba ta może wzrosnąć do 10 milionów do 2050 roku, jeśli nie zostaną podjęte zdecydowane działania. Koszty ekonomiczne związane z leczeniem infekcji wywołanych przez oporne szczepy są ogromne i stale rosną, obciążając systemy opieki zdrowotnej na całym świecie [43, 44]. Zjawisko antybiotykooporności jest złożonym problemem o charakterze biologicznym, medycznym, społecznym i ekonomicznym. Przyczyną jest nadużywanie i niewłaściwe stosowanie antybiotyków w medycynie, weterynarii i rolnictwie, niewystarczająca kontrola zakażeń w placówkach opieki zdrowotnej, ograniczony dostęp do czystej wody, urządzeń sanitarnych i szczepionek w krajach rozwijających się, a także brak nowych klas antybiotyków wprowadzanych na rynek. Szczególnie niepokojący jest wzrost liczby wielolekoopornych szczepów bakteryjnych, które są oporne na większość dostępnych antybiotyków. Do najgroźniejszych patogenów wielolekoopornych należą: *Staphylococcus aureus* oporny na metycylinę (MRSA), *Enterococcus faecium* oporny na wankomycynę (VRE), *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* wytwarzające karbapenemazy (CRE) oraz *Mycobacterium tuberculosis* oporne na wiele leków przeciwgruźliczych (MDR-TB) i o rozszerzonej oporności (XDR-TB). W odpowiedzi na ten kryzys, WHO opublikowała w 2017 roku listę priorytetowych patogenów, dla których pilnie potrzebne są nowe antybiotyki. Lista ta obejmuje 12 rodzin bakterii podzielonych na trzy kategorie według potrzeby opracowania nowych leków: krytyczna, wysoka i średnia. W kategorii krytycznej znalazły się bakterie Gram-ujemne, w tym *Pseudomonas aeruginosa*, które są oporne na wiele antybiotyków i mogą powodować ciężkie, często śmiertelne zakażenia, szczególnie u pacjentów hospitalizowanych z obniżoną odpornością [45].

Współczesne strategie poszukiwania nowych środków przeciwdrobnoustrojowych obejmują:

1. Modyfikacje istniejących klas antybiotyków w celu przezwyciężenia mechanizmów oporności, poprawy właściwości farmakokinetycznych lub zmniejszenia toksyczności [46, 47].
2. Poszukiwanie nowych celów molekularnych w komórkach bakteryjnych, które nie są atakowane przez istniejące antybiotyki, co może prowadzić do odkrycia związków o nowych mechanizmach działania [48, 49].
3. Badanie niekonwencjonalnych źródeł związków bioaktywnych, takich jak ekstremalne środowiska (głębiny oceaniczne, gorące źródła), rzadkie mikroorganizmy, rośliny lecznicze czy związki syntetyczne [50, 51].
4. Racjonalne projektowanie nowych związków w oparciu o znajomość struktury celu molekularnego (*target-based drug design*) lub analizę zależności struktura-aktywność (SAR) [52, 53].
5. Kombinatoryczne podejście do syntezy chemicznej, umożliwiające tworzenie i badanie dużych bibliotek związków o zróżnicowanej strukturze [54, 55].
6. Repozycjonowanie leków stosowanych w innych wskazaniach, które wykazują również działanie przeciwdrobnoustrojowe [56, 57].
7. Poszukiwanie alternatywnych strategii zwalczania infekcji, takich jak terapie fagowe, immunomodulacja, probiotyki czy związki zakłócające *quorum sensing* bakterii [58, 59].

Wśród różnych klas związków badanych pod kątem potencjalnego działania przeciwdrobnoustrojowego, szczególne zainteresowanie budzą kationowe związki powierzchniowo czynne, w tym czwartorzędowe sole amoniowe (QAC), ze względu na ich zdolność do interakcji z ujemnie naładowanymi błonami komórkowymi bakterii. Związki te działają głównie poprzez zaburzenie integralności błony komórkowej, co prowadzi do wycieku składników cytoplazmatycznych i śmierci komórki. Ten mechanizm działania jest odmienny od mechanizmów konwencjonalnych antybiotyków, co może zmniejszać ryzyko rozwoju oporności krzyżowej [60].

Wśród różnych typów czwartorzędowych soli amoniowych, związki zawierające pierścień imidazoliowy wyróżniają się jako szczególnie obiecująca klasa potencjalnych środków przeciwdrobnoustrojowych. Imidazol jest pięciocłonowym heterocyklicznym związkiem aromatycznym zawierającym dwa atomy azotu w pozycjach 1 i 3. Jego pochodne, zwłaszcza sole imidazoliowe, charakteryzują się szerokim spektrum aktywności biologicznej, w tym przeciwbakteryjnej, przeciwgrzybiczej, przeciwwirusowej i przeciwnowotworowej [61].

Związki imidazoliowe posiadają szereg cech, które czynią je atrakcyjnymi kandydatami na nowe środki przeciwdrobnoustrojowe:

1. Łatwość syntezy i modyfikacji strukturalnych - pierścień imidazolowy może być łatwo funkcjonalizowany w różnych pozycjach, co umożliwia tworzenie bibliotek związków o zróżnicowanej strukturze i właściwościach.
2. Zdolność do tworzenia wiązań wodorowych - imidazol może działać zarówno jako donor, jak i akceptor wiązań wodorowych, co umożliwia różnorodne interakcje z celami biologicznymi.
3. Aromatyczność i płaskość pierścienia - te cechy sprzyjają interakcjom typu π - π z aromatycznymi resztami aminokwasowymi w białkach.
4. Właściwości amfifilowe - odpowiednio podstawione związki imidazoliowe mogą wykazywać właściwości amfifilowe, co sprzyja ich interakcji z błonami biologicznymi.
5. Stabilność w warunkach fizjologicznych - pierścień imidazolowy jest stabilny w szerokim zakresie pH i w obecności różnych enzymów [62-64].

Szczególnie interesującą podgrupą związków imidazoliowych są ciecze jonowe (*Ionic Liquids*, ILs) oparte na kationie imidazoliowym. Ciecze jonowe to sole, które są ciekłe w temperaturze poniżej 100°C, a często nawet w temperaturze pokojowej. Charakteryzują się unikalnymi właściwościami fizykochemicznymi, takimi jak niska prężność par, wysoka stabilność termiczna i chemiczna, dobre przewodnictwo elektryczne oraz zdolność do rozpuszczania szerokiej gamy związków organicznych i nieorganicznych. Te właściwości, w połączeniu z możliwością projektowania cieczy jonowych poprzez odpowiedni dobór kationu i anionu, czynią je atrakcyjnymi kandydatami na nowe środki przeciwdrobnoustrojowe o potencjalnie niższej toksyczności i lepszych właściwościach farmakokinetycznych niż konwencjonalne antybiotyki [65-67].

Inną ważną grupą związków imidazoliowych są surfaktanty gmini, składające się z dwóch identycznych fragmentów amfifilowych połączonych łącznikiem (*spacer*). W przypadku surfaktantów gmini opartych na imidazolu, dwa kationy imidazoliowe są połączone łącznikiem o różnej długości i strukturze. Związki te wykazują znacznie niższe krytyczne stężenie micelowania (CMC) niż odpowiadające im surfaktanty monomerowe, co przekłada się na ich wyższą aktywność powierzchniową i potencjalnie silniejsze działanie przeciwdrobnoustrojowe [68].

Mechanizm działania przeciwdrobnoustrojowego związków imidazoliowych, podobnie jak innych czwartorzędowych soli amoniowych, opiera się głównie na ich oddziaływaniu z błonami komórkowymi mikroorganizmów. Proces ten można podzielić na kilka etapów:

1. Adsorpcja na powierzchni komórki - kationowe związki imidazoliowe są przyciągane elektrostatycznie do ujemnie naładowanej powierzchni komórek bakteryjnych, która zawiera

fosfolipidy, lipopolisacharydy (u bakterii Gram-ujemnych) i kwasy tejchojowe (u bakterii Gram-dodatnich).

2. Dyfuzja przez ścianę komórkową - po adsorpcji na powierzchni, związki te dyfundują przez ścianę komórkową. Ten etap jest łatwiejszy w przypadku bakterii Gram-dodatnich, które mają grubsza, ale bardziej porowatą ścianę komórkową zbudowaną głównie z peptydoglikanu. Bakterie Gram-ujemne posiadają dodatkową błonę zewnętrzną, która stanowi barierę dla wielu związków hydrofobowych i kationowych, co tłumaczy ich ogólnie wyższą oporność na te związki.

3. Wiązanie z błoną cytoplazmatyczną - po przejściu przez ścianę komórkową, związki imidazoliowe wiążą się z błoną cytoplazmatyczną. Część hydrofobowa cząsteczki (łańcuchy alkilowe) wnika w dwuwarstwę lipidową, podczas gdy część kationowa (pierścień imidazoliowy) oddziałuje z ujemnie naładowanymi grupami fosfolipidów.

4. Dezorganizacja błony i zwiększenie jej przepuszczalności - wbudowanie związków imidazoliowych w błonę prowadzi do zaburzenia jej struktury i funkcji, zwiększenia przepuszczalności i utraty potencjału błonowego.

5. Wyciek składników cytoplazmatycznych - zwiększona przepuszczalność błony prowadzi do wycieku jonów (K^+ , PO_4^{3-}), aminokwasów, nukleotydów i innych składników cytoplazmatycznych.

6. Degradacja białek i kwasów nukleinowych - w wyższych stężeniach, związki te mogą również wnikać do wnętrza komórki i powodować precypitację białek oraz degradację DNA i RNA.

7. Śmierć komórki - kumulacja tych efektów prowadzi ostatecznie do śmierci komórki bakteryjnej [69, 70].

Warto zauważyć, że mechanizm działania związków imidazoliowych jest niespecyficzny i wielokierunkowy, co utrudnia rozwój oporności bakterii. W przeciwieństwie do konwencjonalnych antybiotyków, które zwykle działają na konkretne cele molekularne (np. syntezę ściany komórkowej, syntezę białek, replikację DNA), związki te atakują integralność błony komórkowej, która jest niezbędna dla przeżycia wszystkich rodzajów bakterii. Rozwój oporności na takie związki wymagałby znaczących zmian w strukturze i składzie błony komórkowej, co jest mało prawdopodobne bez istotnego wpływu na żywotność i funkcje komórki. Jednakże, ten niespecyficzny mechanizm działania może również prowadzić do toksyczności wobec komórek eukariotycznych, co stanowi wyzwanie w rozwoju tych związków jako leków. Dlatego kluczowe znaczenie ma optymalizacja struktury związków

imidazoliowych w celu zwiększenia ich selektywności wobec komórek bakteryjnych przy jednoczesnym zmniejszeniu toksyczności wobec komórek gospodarza.

Analiza zależności struktura-aktywność (*Structure-Activity Relationship*, SAR) jest kluczowym narzędziem w racjonalnym projektowaniu nowych związków bioaktywnych. W przypadku związków imidazoliowych, liczne badania wykazały, że ich aktywność przeciwdrobnoustrojowa jest silnie zależna od szeregu czynników strukturalnych i fizykochemicznych, w tym:

1. Długości i struktury łańcuchów alkilowych - długość łańcucha alkilowego przyłączonego do atomu azotu w pierścieniu imidazoliowym ma krytyczny wpływ na aktywność przeciwdrobnoustrojową. Ogólnie, aktywność wzrasta wraz z długością łańcucha do pewnego optymalnego punktu (zwykle 12-16 atomów węgla), po czym zaczyna spadać. Jest to związane z równowagą między hydrofilowością a hydrofobowością cząsteczki, która wpływa na jej zdolność do penetracji błony komórkowej.
2. Rodzaju i pozycji podstawników - wprowadzenie różnych grup funkcyjnych (np. hydroksylowych, karboksylowych, aminowych) do łańcucha alkilowego lub pierścienia imidazoliowego może znacząco modyfikować aktywność biologiczną związku poprzez wpływ na jego właściwości fizykochemiczne, takie jak rozpuszczalność, lipofilowość czy zdolność do tworzenia wiązań wodorowych.
3. Rodzaju przeciwjonu (anionu) - w przypadku cieczy jonowych opartych na kationie imidazoliowym, rodzaj anionu może istotnie wpływać na aktywność przeciwdrobnoustrojową. Aniony organiczne, zwłaszcza te zawierające grupy funkcyjne zdolne do tworzenia wiązań wodorowych lub oddziaływań hydrofobowych, mogą modyfikować interakcje związku z błoną komórkową.
4. Struktury łącznika w surfaktantach gemini - w przypadku bis-imidazoliowych surfaktantów gemini, długość i struktura łącznika między dwoma kationami imidazoliowymi ma istotny wpływ na aktywność przeciwdrobnoustrojową. Łączniki o odpowiedniej długości (zwykle 6-12 atomów węgla) zapewniają optymalną geometrię cząsteczki dla interakcji z błoną komórkową.
5. Właściwości powierzchniowo czynnych - parametry takie jak krytyczne stężenie micelowania (CMC), napięcie powierzchniowe przy CMC, nadmiar powierzchniowy czy powierzchnia molekularna pojedynczej cząsteczki są ściśle związane z aktywnością przeciwdrobnoustrojową związków imidazoliowych, szczególnie tych o charakterze surfaktantów [71, 72].

Zrozumienie tych zależności jest kluczowe dla racjonalnego projektowania nowych związków imidazoliowych o lepszej aktywności przeciwdrobnoustrojowej i zmniejszonej toksyczności. Tradycyjne podejście do analizy SAR opiera się na syntezie i badaniu serii analogów strukturalnych, a następnie jakościowej ocenie wpływu poszczególnych modyfikacji na aktywność biologiczną. Jednakże, w ostatnich latach coraz większą rolę odgrywają zaawansowane metody obliczeniowe i techniki eksploracji danych, które umożliwiają bardziej systematyczne i ilościowe podejście do analizy SAR [73-75].

W erze *big data* i sztucznej inteligencji, zaawansowane metody analizy danych stają się coraz bardziej istotnym narzędziem w badaniach nad nowymi związkami bioaktywnymi, w tym środkami przeciwdrobnoustrojowymi. Metody te umożliwiają efektywne przetwarzanie i analizę dużych zbiorów danych eksperymentalnych, identyfikację nieoczywistych zależności między strukturą a aktywnością oraz przewidywanie właściwości nowych, jeszcze niesyntezowanych związków.

Wśród różnych technik analizy danych stosowanych w badaniach nad związkami przeciwdrobnoustrojowymi, szczególnie użyteczne są:

1. Metody uczenia maszynowego - algorytmy takie jak sieci neuronowe, maszyny wektorów nośnych (SVM), drzewa decyzyjne czy metoda *Random Forest* mogą być wykorzystywane do budowy modeli predykcyjnych, które na podstawie struktury chemicznej przewidują aktywność biologiczną związków.
2. Metody oparte na zbiorach przybliżonych - teoria zbiorów przybliżonych (Rough Set Theory, RST), zaproponowana przez Zdzisława Pawłaka, oraz jej rozszerzenia, takie jak metoda zbiorów przybliżonych oparta na relacji dominacji (DRSA), są szczególnie przydatne w analizie danych klasyfikacyjnych, które są częściowo niespójne lub niepełne, co jest częstym przypadkiem w badaniach biologicznych.
3. Metody chemii obliczeniowej - techniki takie jak teoria funkcjonału gęstości (*Density Functional Theory*, DFT), mechanika molekularna czy dynamika molekularna umożliwiają obliczanie różnych deskryptorów molekularnych, które mogą być wykorzystywane w analizie SAR.
4. Metody dokowania molekularnego - techniki te pozwalają na przewidywanie sposobu wiązania liganda (np. związku imidazoliowego) z celem molekularnym (np. białkiem bakteryjnym) i ocenę siły tego wiązania, co może dostarczyć cennych informacji o mechanizmie działania i potencjalnej aktywności związku.
5. Metody QSAR/QSPR - Ilościowe zależności struktura-aktywność (*Quantitative Structure-Activity Relationship*, QSAR) i ilościowe zależności struktura-właściwość

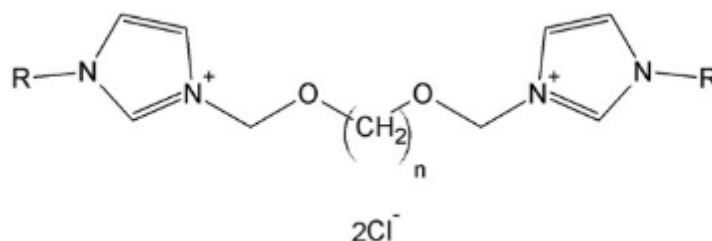
(*Quantitative Structure-Property Relationship*, QSPR) wykorzystują metody statystyczne i uczenia maszynowego do budowy modeli matematycznych, które wiążą strukturę chemiczną z aktywnością biologiczną lub właściwościami fizykochemicznymi [76-78].

Szczególnie interesującą metodą analizy danych w kontekście badań nad związkami przeciwdrobnoustrojowymi jest DRSA. Metoda DRSA, scharakteryzowana szczegółowo w rozdziale 4.3.1.2., umożliwia indukcję reguł decyzyjnych, które są łatwo interpretowalne przez człowieka i mogą dostarczyć cennych wskazówek dotyczących projektowania nowych związków bioaktywnych. Metoda ta jest szczególnie przydatna w analizie danych klasyfikacyjnych, które są częściowo niespójne, co jest częstym przypadkiem w badaniach biologicznych, gdzie dwie podobne struktury mogą wykazywać różną aktywność biologiczną ze względu na subtelne różnice w mechanizmie działania lub interakcji z celem molekularnym. Zastosowanie zaawansowanych metod analizy danych w badaniach nad związkami przeciwdrobnoustrojowymi może znacząco przyspieszyć proces odkrywania i optymalizacji nowych leków, zmniejszyć koszty badań oraz zwiększyć szanse na identyfikację związków o pożądanych właściwościach biologicznych i farmakologicznych.

Prace ujęte w tej części Osiągnięcia naukowego są wynikiem kontynuacji badań, które były podstawą mojej pracy doktorskiej obronionej w 2015 roku. Zastosowaną metodykę badań przedstawiłem w rozdziale 4.3.1.2. Jednym z punktów wyjścia dla realizowanych badań była koncepcja analizy zależności między strukturą a aktywnością biologiczną związków organicznych z wykorzystaniem teorii zbiorów przybliżonych. Metoda ta, zapoczątkowana w pracach prof. J. Krysińskiego w latach 90. XX wieku, okazała się skutecznym narzędziem wspomagającym modelowanie zależności struktura–aktywność nowych związków chemicznych [79-82].

Celem badań przeprowadzonych w **pracy H4** *Zależności struktura-aktywność związków imidazoliowych wobec *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa** była analiza zależności struktura–aktywność (SAR) grupy 140 chlorków 3,3'-(α,ω -dioksaalkan)bis(1-alkiloimidazoliowych), testowanych wobec szczepów *Staphylococcus aureus* (SAU) oraz *Pseudomonas aeruginosa* (PAE), reprezentujących dwa odmienne typy mikroorganizmów pod względem wrażliwości na substancje przeciwdrobnoustrojowe. Badania miały na celu identyfikację i porównanie właściwości strukturalnych, powierzchniowo czynnych oraz molekularnych, które w największym stopniu wpływają na aktywność antybakteryjną badanych związków.

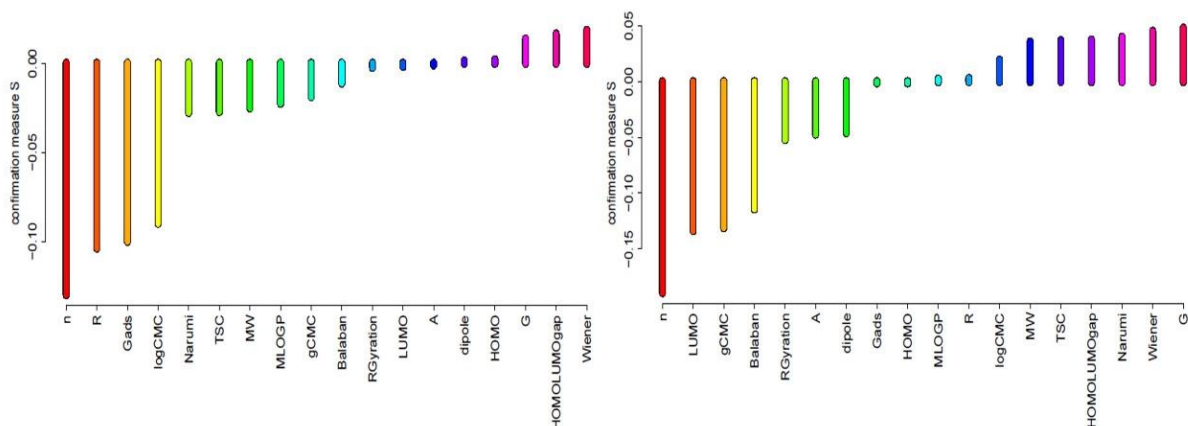
Zbadano 140 chlorków bis-imidazoliowych, których zróżnicowanie strukturalne obejmowało zmienną długość łącznika ($n = 1-16$ atomów węgla) oraz podstawników alkilowych ($R = CH_3$ do $C_{16}H_{33}$). Dla wszystkich związków oznaczono minimalne stężenie hamujące (MIC) wobec obu szczepów bakterii. Wartości graniczne MIC dla poszczególnych klas aktywności określono na podstawie aktywności przeciwdrobnoustrojowej związków referencyjnych: chlorku benzalkoniowego oraz chlorku didecyldimetyloamoniowego. Następnie badane związki zaklasyfikowano do trzech klas aktywności (atribut decyzyjny): dobra (klasa 1), średnia (klasa 2) i słaba (klasa 3). Strukturę chemiczną badanych związków przedstawiono na Ryc. 3.



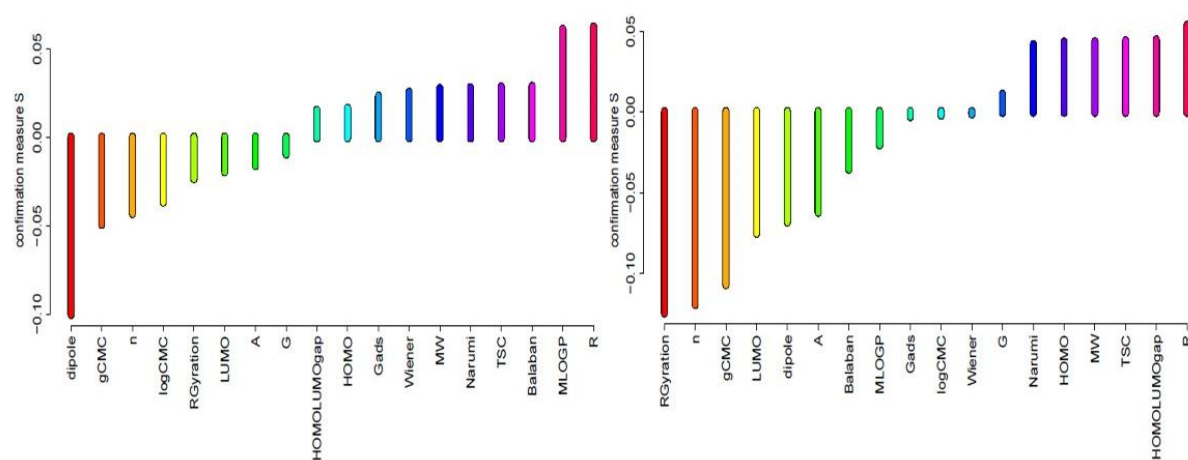
Ryc. 3. Struktura chemiczna badanych chlorków bis-imidazoliowych.

Właściwości powierzchniowo czynne określono za pomocą pięciu parametrów: logCMC (krytyczne stężenie micelowania), γ CMC (napięcie powierzchniowe przy CMC), nadmiar powierzchniowy (Γ), powierzchnia molekularna (A) oraz swobodna energia adsorpcji (ΔG_{ads}). Geometrię cząsteczek zoptymalizowano przy użyciu metody DFT (*Density Functional Theory* – teoria funkcjonału gęstości elektronowej) z wykorzystaniem funkcjonału B3LYP i bazy podstawowej 6-31G, w obecności modelu PCM (*Polarizable Continuum Model* – model ciągłego ośrodka polaryzowalnego) symulującego środowisko wodne. Tak przeprowadzona optymalizacja umożliwiła wyznaczenie odpowiednich deskryptorów molekularnych, opisujących właściwości fizykochemiczne badanych związków. Atrybutami warunkowymi w systemie informacyjnym były: zmienne strukturalne, wartości parametrów powierzchniowych oraz deskryptory molekularne. Do analizy SAR wykorzystano metodę DRSA (VC-DRSA), która pozwala uwzględniać w analizie obiekty częściowo zgodne z regułami decyzyjnymi. Wygenerowano reguły decyzyjne wskazujące na najistotniejsze zależności pomiędzy strukturą i właściwościami fizykochemicznymi a aktywnością przeciwbakteryjną. Reguły oceniano według siły (liczby wspierających obiektów) oraz miary konfirmacji s (przydatność reguły w

poprawnej klasyfikacji). Na podstawie tych miar skonstruowano rankingi atrybutów, które wskazały najważniejsze cechy wpływające na aktywność związków.



Ryc. 4. Ranking atrybutów warunkowych dla *S. aureus* dla klasy 1 (po prawej) i 3 (po lewej).



Ryc. 5. Ranking atrybutów warunkowych dla *P. aeruginosa* dla klasy 1 (po prawej) i 3 (po lewej).

Badania wykazały wyraźne różnice w aktywności związków wobec badanych szczepów. MIC dla szczepu SAU były niższe niż dla PAE, co zgodne jest z różnicami w budowie ściany komórkowej (Gram-dodatnie vs Gram-ujemne). Zależność ta stawała się silniejsza wraz ze wzrostem długości łącznika i podstawnika R. Wygenerowane reguły decyzyjne wskazały na najistotniejsze zależności między strukturą, właściwościami powierzchniowymi i aktywnością przeciwdrobnoustrojową. Dla dobrej aktywności związków wobec SAU kluczowe były:

nadmiar powierzchniowy $\Gamma \leq 2,47 \text{ mol/m}^2$, długość $R = 7\text{--}11$ atomów węgla oraz masa cząsteczkowa. Związki o słabej aktywności wobec SAU cechowały się wyższym napięciem powierzchniowym ($\gamma_{\text{CMC}} \geq 50,3 \text{ mN/m}$) i nadmiarem powierzchniowym ($\Gamma \geq 2,57 \text{ mol/m}^2$). W przypadku PAE, skuteczne związki charakteryzowały się: długością podstawnika $R \geq 6$ atomów węgla, długością łącznika $n \geq 6$ atomów węgla, masą cząsteczkową $MW \leq 603$ oraz powierzchnią molekularną $A \leq 83 \times 10^{-20} \text{ m}^2$. Z kolei niska aktywność przeciw PAE związana była z długością łącznika ≤ 7 atomów węgla i długością podstawnika $R \leq 3$ atomy węgla. Właściwości powierzchniowo czynne, takie jak napięcie powierzchniowe, nadmiar powierzchniowy i swobodna energia adsorpcji, miały także istotny wpływ na aktywność związków. Najlepszą aktywność wobec SAU wykazywały cząsteczki o niskim napięciu powierzchniowym (37–41 mN/m), co związane jest z dłuższymi, bardziej hydrofobowymi podstawnikami R, ułatwiającymi penetrację błon komórkowych bakterii Gram-dodatnich.

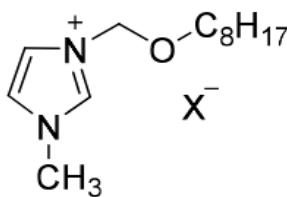
Ponadto ranking atrybutów wykazał, że w grupie chlorków 3,3'-(ω, ω' -dioksaalkan)bis(1-alkiloimidazoliowych), w odniesieniu do szczepu SAU, w klasie 1 (czyli związków o dobrej aktywności przeciwdrobnoustrojowej) najważniejszymi atrybutami warunkowymi są: wartość nadmiaru powierzchniowego (G), wskaźnik Wienera, topologiczny indeks Narumiego, różnica energetyczna HOMO–LUMO, całkowita powierzchnia cząsteczki (TSC) oraz masa cząsteczkowa (MW). Natomiast przypisanie związków do klasy 3 (czyli związków o słabej aktywności) warunkowane jest przez takie cechy, jak: energia najwyżej położonego zapełnionego orbitalu (HOMO), moment dipolowy, powierzchnia pojedynczej cząsteczki oraz energia najniżej położonego niezapełnionego orbitalu (LUMO). Jednak w przypadku tej klasy wartości miary konfirmacji reguł są bardzo niskie, co może ograniczać ich wiarygodność.

Z kolei dla szczepu PAE, w klasie 1 (dobra aktywność biologiczna) kluczowymi atrybutami są: długość łańcucha R, różnica energii HOMO–LUMO, TSC, masa cząsteczkowa, energia HOMO oraz indeks Narumiego. Przypisanie związków do klasy 3 (słaba aktywność) w przypadku tego szczepu zależy głównie od: długości łańcucha R, współczynnika podziału oktanol–woda wg Moriguchiego, indeksu Balabana, TSC, indeksu Narumiego oraz masy cząsteczkowej. W celu oceny skuteczności predykcyjnej DRSA przeprowadzono walidację krzyżową oraz porównano wyniki klasyfikacji metodą *Random Forest* i regresją logistyczną. VC-bagging dawał wyniki porównywalne z *Random Forest* i przewyższał regresję logistyczną, zwłaszcza w przypadku klasyfikacji związków o słabej aktywności.

Otrzymane wyniki badań mają istotne znaczenie zarówno teoretyczne, jak i praktyczne. W wymiarze teoretycznym praca wnosi nową wiedzę na temat zależności pomiędzy strukturą chemiczną a aktywnością biologiczną surfaktantów bis-imidazoliowych. Z praktycznego

punktu widzenia, uzyskane reguły decyzyjne mogą stanowić podstawę do projektowania nowych, skutecznych związków przeciwdrobnoustrojowych, co jest szczególnie istotne w obliczu narastającej oporności bakterii na stosowane obecnie antyseptyki i środki do dezynfekcji.

Praca H5 *Przeciwdrobnoustrojowa i cytotoksyczna aktywność nowych imidazoliowych cieczy jonowych*, koncentruje się na syntezie i kompleksowej ocenie właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych nowej grupy cieczy jonowych opartych na kationie imidazoliowym. Ciecze jonowe, dzięki swojej unikalnej strukturze i możliwości precyzyjnej modyfikacji właściwości fizykochemicznych i biologicznych poprzez dobór odpowiedniego kationu i anionu, stanowią obiecującą klasę związków w tym obszarze. Przeprowadzone wcześniej badania SAR kationowych związków powierzchniowo-czynnych zaowocowały praktycznym, doświadczalnym sprawdzeniem metody DRSA w analizie SAR. W badaniach wykazano, że optymalne właściwości przeciwdrobnoustrojowe posiadają chlorki bis-imidazoliowe o określonej długości łącznika ($\geq 5-7$ atomów węgla) oraz grupie alkilowej R w zakresie C7–C13 oraz chlorki imidazoliowe z resztą alkilową C7–C12. Istotne znaczenie prognostyczne miały również parametry powierzchniowe związków, takie jak $-\log\text{CMC}$ (2,51–2,86) oraz nadmiar powierzchniowy Γ (2,07–2,47 mol/m²) [83, 84]. Wysoka aktywność przeciwdrobnoustrojowa wybranych pochodnych, zwłaszcza wobec bakterii Gram-dodatnich, stanowiła podstawę poszerzenia badań o nowe związki o zmodyfikowanej strukturze anionu. Na podstawie analiz SAR kationowych związków powierzchniowo czynnych zaproponowano kation 1-metylo-3-oktyloksymetyloimidazoliowy do syntezy serii związków z anionami organicznymi, jako ciecze jonowe. Głównym celem podjętych badań była synteza serii 10 nowych pochodnych 1-metylo-3-oktyloksymetyloimidazoliowych z różnorodnymi anionami oraz kompleksowa ocena ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej wobec reprezentatywnych szczepów bakterii i grzybów, aktywności cytotoksycznej wobec linii komórkowej czerniaka oraz właściwości powierzchniowo czynnych. Badania miały na celu określenie zależności między związkami ze stałym kationem i zmiennym anionem a aktywnością biologiczną i właściwościami fizykochemicznymi, co pozwoliłoby na identyfikację najbardziej obiecujących struktur do dalszego rozwoju jako potencjalnych środków przeciwdrobnoustrojowych.



Ryc. 6. Ogólna struktura nowych cieczy jonowych.

Przeprowadzono syntezę 10 nowych cieczy jonowych, w których wspólnym elementem był kation 1-metylo-3-oktyloksymetyloimidazoliowy (Ryc. 6), natomiast zróżnicowano część anionową, wprowadzając następujące aniony: 4-hydroksybenzenosulfonian (FE-1), benzenosulfonian (BE-2), karwakroloksyoctan (OR-3), chlorek (CL-4), mrówczan (MR-5), propionian (PR-6), tymoloksyoctan (TY-7), wanilinoksyoctan (VA-8), eugenoloksyoctan (EV-9) oraz trimetylooctan (TR-10). Przeprowadzono badania właściwości termicznych metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), wyznaczając temperatury przejść fazowych: temperaturę zeszklenia (T_g), temperaturę krystalizacji (T_c) i temperaturę topnienia (T_m). Wszystkie związki charakteryzowały się temperaturą topnienia poniżej 100°C , co potwierdza ich klasyfikację jako cieczy jonowe. Zbadano także stabilność termiczną metodą termograwimetrii (TGA). Najwyższą stabilność termiczną wykazywały sulfoniany (FE-1 i BE-2), które były trwałe do $135\text{--}138^\circ\text{C}$. Fenoksyoctany (OR-3, TY-7, VA-8, EV-9) zaczynały się rozkładać w temperaturze około $112\text{--}118^\circ\text{C}$, natomiast najniższą stabilność termiczną wykazywały karboksylany (MR-5, PR-6, TR-10), które zaczynały się rozkładać już w temperaturze $85\text{--}102^\circ\text{C}$.

Aktywność przeciwdrobnoustrojową badano wobec sześciu szczepów drobnoustrojów: bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212), bakterii Gram-ujemnych (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* ATCC 25922) oraz drożdżaka (*Candida albicans* ATCC 10231). Dla każdego związku wyznaczono minimalne stężenie hamujące wobec poszczególnego szczepu. Jako substancje referencyjne zastosowano chlorek didecyldimetyloamoniowy i chlorek benzalkoniowy.

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa zależała od gatunku drobnoustroju oraz struktury związku. Najwyższe wartości MIC (najniższa aktywność) uzyskano dla bakterii Gram-ujemnych, szczególnie *Pseudomonas aeruginosa* z wartościami MIC w zakresie $3,1763\text{--}27,8195\text{ mM/L}$. Najniższe wartości MIC (najwyższa aktywność) uzyskano dla bakterii Gram-dodatnich, szczególnie *Staphylococcus aureus*, z wartościami MIC w zakresie

0,0508-1,7248 mM/L, oraz dla drożdżaka *Candida albicans*, z wartościami MIC w zakresie 0,1016-1,7248 mM/L. Spośród badanych związków, tymoloksyoctan wykazywał najwyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec prawie wszystkich badanych szczepów, z najlepszymi wynikami dla *S. aureus* i *E. faecalis* (MIC = 0,0508 mM/L). Z kolei 4-hydroksybenzenosulfonian wykazywał najniższą aktywność biologiczną (MIC ok. 1,72 mM/L dla większości szczepów). Cytotoksyczność oceniano wobec linii komórkowej mysiego czerniaka (B16 F10) za pomocą testu MTT, wyznaczając wartość IC₅₀ (stężenie powodujące inhibicję wzrostu 50% komórek). Wszystkie badane związki wykazały znaczącą cytotoksyczność wobec komórek czerniaka B16 F10, z wartościami IC₅₀ w zakresie 0,0101-0,0197 mM/L. W badaniach właściwości powierzchniowych wyznaczono krytyczne stężenie micelowania (CMC), napięcie powierzchniowe przy CMC (γ CMC), maksymalne stężenie nadmiarowe ($\Gamma_{\max}$), zmianę energii swobodnej adsorpcji (ΔG_{ads}) oraz powierzchnię przypadającą na cząsteczkę na granicy faz. Związki wykazywały zróżnicowane właściwości powierzchniowo czynne, z wartościami CMC w zakresie od 0,72 do 32,35 mmol/L. Wartości energii swobodnej adsorpcji były ujemne dla wszystkich badanych cieczy jonowych, co wskazuje na spontaniczny charakter procesu adsorpcji na granicy faz ciecz-powietrze.

W pracy wykazano wyraźny wpływ rodzaju anionu na siłę działania przeciwdrobnoustrojowego. Najwyższą aktywność wobec większości badanych szczepów, jak wspominałem wyżej, wykazał związek z anionem tymoloksyoctanowym, osiągając najniższe wartości MIC dla *S. aureus* i *E. faecalis* (0,0508 mM/L). Wysoką aktywność wykazywały również związki z anionami eugenoloksyoctanowym i karwakroloksyoctanowym, co sugeruje korzystny wpływ anionów pochodzących od naturalnych fenoli. Z kolei najniższą aktywność biologiczną wykazał związek z anionem 4-hydroksybenzenosulfonianowym. Wszystkie badane związki wykazywały wyższą aktywność wobec bakterii Gram-dodatnich i grzybów w porównaniu do bakterii Gram-ujemnych, co jest zgodne z mechanizmem działania czwartorzędowych soli amoniowych. Wszystkie badane związki wykazały silne działanie cytotoksyczne wobec komórek czerniaka B16 F10, z wartościami IC₅₀ w zakresie 0,0101-0,0197 mM/L. Wynik ten wskazuje na potencjalne zastosowanie przeciwnowotworowe, ale jednocześnie wymaga dalszych badań nad selektywnością działania i mechanizmem cytotoksyczności.

Wykazano także, że właściwości powierzchniowo czynne, w szczególności wartości CMC, korelują z aktywnością przeciwdrobnoustrojową badanych związków. Związki o niższych wartościach CMC wykazywały tendencję do wyższej aktywności przeciwdrobnoustrojowej, co jest zgodne z mechanizmem działania polegającym na interakcji z błonami biologicznymi.

Na podstawie uzyskanych wyników, związki zawierające aniony pochodzące od naturalnych fenoli, tj. tymoloksyoctan i eugenoloksyoctan, zostały zidentyfikowane jako najbardziej obiecujące struktury wiodące do dalszych badań jako potencjalne nowe środki przeciwdrobnoustrojowe lub surfaktanty o działaniu biologicznym.

Mechanizm działania przeciwdrobnoustrojowego badanych cieczy jonowych jest ściśle związany z ich strukturą chemiczną i właściwościami fizycznymi. Kationy imidazoliowe oddziałują elektrostatycznie z ujemnie naładowanymi powierzchniami komórek drobnoustrojów, a związki powierzchniowo czynne łatwo penetrują przez błony biologiczne białkowo-lipidowe, powodując zaburzenia w ich spójności strukturalnej i funkcjonalnej. Denaturacja białek bakteryjnych, rozpad kompleksów nukleoproteiny i reakcje z grupami aminowymi prowadzą do trwałego uszkodzenia i śmierci komórek patogenów.

W przeciwieństwie do niektórych danych literaturowych, które sugerują, że aktywność przeciwdrobnoustrojowa cieczy jonowych zależy głównie od struktury kationu, w niniejszym badaniu wykazano istotny wpływ rodzaju anionu na aktywność biologiczną [85-90]. Aniony mogą oddziaływać z cząsteczkami wody i dwuwarstwą fosfolipidową błony komórkowej. Małe aniony hydrofilowe nie mogą przenikać przez błonę komórkową (głównie ze względu na ładunek), podczas gdy bardziej hydrofobowe aniony mogą tworzyć cienką warstwę na granicy faz lipid-woda lub wbudowywać się w hydrofobowe ogony lipidów błonowych, dezorganizując układ fosfolipidów. W kontekście narastającej oporności drobnoustrojów na dostępne leki, opracowanie nowych związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym jest zadaniem o kluczowym znaczeniu. Badane ciecze jonowe, szczególnie te zawierające aniony pochodzące od naturalnych fenoli (tymol, eugenol), wykazują obiecującą aktywność przeciwdrobnoustrojową, zwłaszcza wobec bakterii Gram-dodatnich i grzybów, co czyni je interesującymi kandydatami do dalszych badań.

Wyniki badań potwierdzają potencjał cieczy jonowych opartych na kationie imidazoliowym jako źródła nowych związków o znaczącej aktywności przeciwdrobnoustrojowej i cytotoksycznej. Zróżnicowanie części anionowej pozwala na modyfikację siły i spektrum działania biologicznego.

Podsumowanie

Kluczowym osiągnięciem całego cyklu prac jest przedstawienie wszechstronności, skuteczności i możliwości zastosowania *Dominance Rough Sets Approach* w różnych dziedzinach nauk farmaceutycznych. Metoda ta, dzięki zdolności do analizy danych porządkowych bez dyskretyzacji, radzenia sobie z niespójnościami, odkrywania monotonicznych zależności oraz generowania interpretowalnych reguł decyzyjnych "jeśli-to", okazała się cennym narzędziem. W pracach H1-H3 przedstawiono jej zastosowanie w optymalizacji procesów wytwarzania peletek, w tabletkowaniu peletek oraz optymalizacji formulacji dopochwowych postaci leku. We wszystkich tych badaniach zidentyfikowano krytyczne atrybuty opisujące skład analizowanych formulacji i parametry procesowe, dostarczając praktycznych wskazówek dla farmaceutów technologów.

Rozszerzając zakres zastosowań, prace H4 i H5 skupiły się na modelowaniu SAR nowych pochodnych imidazoliowych o potencjalnym działaniu biologicznym. W tych pracach również wykorzystano metodę DRSA do przewidywania aktywności biologicznej na podstawie struktury chemicznej i właściwości fizykochemicznych kationowych związków powierzchniowo czynnych. W pracach przedstawiono wskazówki dla technologów chemicznych, które mogą być pomocne w projektowaniu i syntezie nowych, skutecznych związków o spodziewanym działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Praca H5 jest praktycznym sprawdzeniem metody opartej na teorii zbiorów przybliżonych. Zaproponowana struktura nowych cieczy jonowych zbadanych na ich aktywność przeciwdrobnoustrojową i antynowotworową wynika z analiz SAR wielu struktur kationowych związków powierzchniowo czynnych metodą DRSA.

Przedstawiony cykl prac potwierdza potencjał metod opartych na metodach obliczeniowych i uczeniu maszynowym, a w szczególności DRSA, w naukach farmaceutycznych. Zastosowanie tych narzędzi pozwala na efektywniejsze projektowanie leków, optymalizację procesów ich wytwarzania, redukcję liczby eksperymentów, skrócenie czasu rozwoju produktu oraz lepsze zrozumienie skomplikowanych interakcji na poziomie formulacji i procesu. Generowane modele i reguły decyzyjne stanowią podstawę do podejmowania świadomych decyzji, co jest kluczowe w kontekście wymagań regulacyjnych i dążenia do zapewnienia najwyższej jakości produktów leczniczych. Cykl ten wnosi istotny wkład w implementację zasad QbD oraz PAT w praktyce farmaceutycznej, pokazując, jak eksploracja danych może prowadzić do odkrywania wiedzy ukrytej w dużych zbiorach eksperymentalnych danych. Przedstawione w Osiągnięciu naukowym publikacje potwierdzają także przydatność metody DRSA w analizie struktura-aktywność związków chemicznych.

Bibliografia

1. Al-Achi A., Gupta M.R., Stagner W.C. *Integrated Pharmaceuticals: Applied Preformulation, Product Design, and Regulatory Science*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons; 2022: 1–796.
2. Miller S., Moos W., Munk B., Munk S., Hart C., Spellmeyer D. *Managing the Drug Discovery Process: Insights and Advice for Students, Educators, and Practitioners*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press; 2023: 1–639.
3. Arboretti R., Ceccato R., Pegoraro L., Salmaso L. Design of experiments and machine learning for product innovation: A systematic literature review. *Qual. Reliab. Eng. Int.* 2022; **38**(2): 1131–1156.
4. Patterson S., Jones B. *Bioequivalence and Statistics in Clinical Pharmacology*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2017: 1–434.
5. Asim M.N., Asif T., Mehmood F., Dengel A. Peptide classification landscape: A systematic review. *Comput. Biol. Med.* 2025; **188**: 109821.
6. Uno M., Nakamaru Y., Yamashita F. Application of machine learning in population PK/PD modeling. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2024; **56**: 101004.
7. Bonakdari H., Ebtehaj I., Ladouceur J.D. *Machine Learning in Earth, Environmental and Planetary Sciences: Theoretical and Practical Applications*. Amsterdam: Elsevier; 2023: 1–370.
8. Błaszczyński J., Greco S., Słowiński R. Multi-criteria classification – A new scheme for application of dominance-based decision rules. *Eur. J. Oper. Res.* 2007; **181**(3): 1030–1044.
9. Greco S., Matarazzo B., Słowiński R. Rough approximation by dominance relations. *Int. J. Intell. Syst.* 2002; **17**(2): 153–171.
10. Gil-Herrera E., Aden-Buie G., Yalcin A., et al. Rough set theory based prognostic classification models for hospice referral. *BMC Med. Inform. Decis. Mak.* 2015; **15**(1): 98.
11. Stańczyk U., Zielosko B. On combining discretisation parameters and attribute ranking for decision rules selection. *Lect. Notes Comput. Sci.* 2017; **10313**: 329–349.
12. Raza M., Qamar U. *Understanding and Using Rough Set Based Feature Selection: Concepts, Techniques and Applications*. 2nd ed. Singapore: Springer; 2019: 1–236.
13. Inuiguchi M., Yoshioka Y., Kusunoki Y. Variable-precision dominance-based rough set and attribute reduction. *Int. J. Approx. Reason.* 2009; **50**(8): 1199–1214.
14. Atteya T.E.M., Chakhar S., Labib A., et al. Estimating relative importance of criteria by post-processing dominance-based rough set outputs. *Eur. J. Oper. Res.* 2024; **315**(3): 1096–1122.

15. Chakhar S., Ishizaka A., Thorpe A., et al. Calculating relative importance of condition attributes: Application to crowdfunding. *Eur. J. Oper. Res.* 2020; **286**(2): 689–712.
16. Błaszczyński J., Greco S., Słowiński R., Szeląg M. Monotonic variable consistency rough set approaches. *Int. J. Approx. Reason.* 2009; **50**(7): 979–999.
17. Dembczyński K., Greco S., Słowiński R. Rough set approach to multi-criteria classification with imprecise assignments. *Eur. J. Oper. Res.* 2009; **198**(2): 626–636.
18. Greco S., Matarazzo B., Słowiński R. Dominance-based rough set approach to interactive multiobjective optimization. *Lect. Notes Comput. Sci.* 2008; **5252**: 121–155.
19. Pawlak Z. Rough sets. *Int. J. Comput. Inf. Sci.* 1982; **11**(5): 341–356.
20. Pawlak Z., Skowron A. Rudiments of rough sets. *Inf. Sci.* 2007; **177**(1): 3–27.
21. Pawlak Z., Skowron A. Rough sets: Some extensions. *Inf. Sci.* 2007; **177**(1): 28–40.
22. Thommes M., Kleinebudde P. κ -carrageenan in extrusion/spheronization. II. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2006; **63**: 68–75.
23. Thommes M., Kleinebudde P. κ -carrageenan in extrusion/spheronization. I. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2006; **63**: 59–67.
24. Thommes M., Kleinebudde P. Process parameters in pellet manufacturing. *AAPS PharmSciTech.* 2007; **8**: 101–108.
25. Thommes M., Kleinebudde P. Carrageenans in pelletization. *Pharm. Dev. Technol.* 2008; **13**: 27–35.
26. Caramella C.M., Bonferoni M.C., Giunchedi P. Patent WO 03000224A1: Controlled release of lactic acid at vaginal level. 2003.
27. Gardiner E.J., Gillet V.J. Knowledge discovery in chemoinformatics. *J. Chem. Inf. Model.* 2015; **55**(9): 1781–1803.
28. Włosnewski J.C., Kumpugdee-Vollrath M., Sriamornsak P. Drying technique and disintegrant effect on pellets. *Chem. Eng. Res. Des.* 2010; **88**: 100–108.
29. Sawicki W., Lunio R., Walentynowicz O., Kubasik-Juraniec J. Cellulose type in stomach-targeted dosage forms. *Acta Pol. Pharm.* 2007; **64**: 81–88.
30. Ronowicz J., Thommes M., Kleinebudde P., Krysiński J. A data mining approach to optimize pellets manufacturing process based on a decision tree algorithm. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2015; **68**: 1–11.
31. Bornhöft M., Thommes M., Kleinebudde P. Preliminary assessment of carrageenan as excipient for extrusion/spheronisation. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2005; **59**: 127–139.

- 32.** Mendyk A., Kleinebudde P., Thommes M., Yoo A., Szlęk J., Jachowicz R. Analysis of pellet properties with use of artificial neural networks. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2010; **41**(3–4): 421–429.
- 33.** Lunio R., Sawicki W., Skoczen P., et al. Compressibility of gastroretentive pellets. *Pharm. Dev. Technol.* 2008; **13**: 323–331.
- 34.** Lunio R., Sawicki W. Kollicoat SR effect on floating pellets. *Pharmazie.* 2008; **63**: 731–735.
- 35.** Sawicki W., Lunio R. Tableting of floating pellets. *Acta Pol. Pharm.* 2010; **67**: 103–106.
- 36.** Noce L., Gwaza L., et al. f2 similarity bootstrap platform comparison. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2020; **146**: 105259.
- 37.** Moore J.W., Flanner H.H. Curve comparison in dissolution testing. *Pharm. Technol.* 1996; **20**(6): 64–74.
- 38.** Muselík J., Komersová A., et al. Statistical methods in dissolution profile comparison. *Pharmaceutics.* 2021; **13**(10): 1703.
- 39.** Małolepsza-Jarmołowska K. Studies on gynaecological hydrophilic lactic acid preparations: Part 7: Use of chitosan as lactic acid carrier in intravaginal tablets. *Pharmazie.* 2006; **61**(9): 780–782.
- 40.** Małolepsza-Jarmołowska K. Studies on gynecological hydrophilic lactic acid preparations: Part 8: Use of chitosan as lactic acid carrier in intravaginal tablets. *Acta Pol. Pharm.* 2007; **64**: 69–72.
- 41.** Małolepsza-Jarmołowska K., Kubis A.A., Hirnle L. Studies on gynaecological hydrophilic lactic acid preparations. Part 5: Use of Eudragit® E-100. *Pharmazie.* 2003; **58**(4): 260–262.
- 42.** Małolepsza-Jarmołowska K., Kubis A.A., Hirnle L. Studies on gynaecological hydrophilic lactic acid preparations: Part 6. *Pharmazie.* 2003; **58**(5): 334–336.
- 43.** Mancuso G., Midiri A., et al. Critical bacterial pathogens and resistance. *Pathogens.* 2021; **10**(10): 1310.
- 44.** Zhou N., Cheng Z., et al. Global AMR via One Health Index. *Infect. Dis. Poverty.* 2022; **11**(1): 92.
- 45.** Sweileh W.M. Research trends on WHO emerging pathogens. *Glob. Health.* 2017; **13**(1): 9.
- 46.** Bellucci M.C., Romani C., et al. Antibiotic–peptide conjugates. *Antibiotics.* 2024; **13**(8): 783.
- 47.** Poole K. Multidrug resistance in Gram-negatives. *Curr. Opin. Investig. Drugs.* 2003; **4**(2): 128–139.

48. Cantillon D., Goff A., et al. Open drug discovery for *M. chimaera*. *Lancet Microbe*. 2022; **3**(5): e382–e391.
49. Zhang Y., Agresti J.J., et al. Microfluidic screening of restriction enzymes. *Analyst*. 2024; **149**(13): 3575–3584.
50. Nurkolis F., Romano R., et al. Insect metabolic blueprint for diabetes. *Diabetol. Metab. Syndr*. 2025; **17**(1): 200.
51. Adeyemo-Eleyode V.O., et al. Mycotoxins in cancer therapy. In: *Biotoxins in Food*. Elsevier; 2025: 260–278.
52. Hamad H.T. Anti-cancer sulfur heterocycles. *Results Chem*. 2025; **15**: 102182.
53. Kharatyan L., Gevorgyan S., et al. Chemical signatures against influenza. *BMC Chem*. 2025; **19**(1): 159.
54. Yue S.-J., Liu Y., et al. Metabolic design for phenazine production. *Metab. Eng*. 2025; **91**: 217–227.
55. Liu Y.S., Zhang C., et al. Dual-species proteomics in infection. *J. Adv. Res*. 2025; **73**: 397–410.
56. Desai R.J., Varma V.R., et al. DREAM study in Alzheimer's. *Clin. Pharmacol. Ther*. 2025; **117**(4): 1039–1050.
57. Shah F.A., Qadir H., et al. Drug repositioning in Alzheimer's. *Neuroscience*. 2025; **576**: 167–181.
58. Poluri K.M., et al. *Protein–Protein Interactions*. 2nd ed. Cambridge, MA: Academic Press; 2023: 1–428.
59. Yarahmadi A., Najafiyani H., et al. Post-antibiotic resistance strategies. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2025; **15**: 1493915.
60. Andersson D.I., Hughes D., Kubicek-Sutherland J.Z. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Drug Resist. Updat*. 2016; **26**: 43–57.
61. Zhang L., Peng X.-M., Damu G.L.V., Geng R.-X., Zhou C.-H. Comprehensive review in current developments of imidazole-based medicinal chemistry. *Med. Res. Rev*. 2014; **34**(2): 340–437.
62. Walsh S.E., Maillard J.-Y., et al. Biocidal agents and mechanisms. *J. Appl. Microbiol*. 2003; **94**: 240–247.
63. Borrego P., Calado R., et al. HIV-2 entry inhibitors. *Antivir. Ther*. 2012; **17**: 565–570.
64. Bharate S.B., Thompson C.M. Pyridinium antimicrobials. *Chem. Biol. Drug Des*. 2010; **76**: 546–551.

65. Huddleston J.G., Visser A.E., et al. Ionic liquids comparison. *Green Chem.* 2001; **3**: 156–164.
66. Marenich A.V., Cramer C.J., Truhlar D.G. Universal solvation model. *J. Phys. Chem. B.* 2009; **113**: 6378–6396.
67. Wasserscheid P., Keim W. Ionic liquids in catalysis. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2000; **39**: 3772–3789.
68. Hallett J.P., Welton T. Ionic liquids for synthesis and catalysis. *Chem. Rev.* 2011; **111**: 3508–3576.
69. Lu G., Mu M., Shu Q., Zhang Y. Gemini surfactants comparison. *Colloids Surf. A.* 2024; **683**: 133023.
70. Hao J., Qin T., Zhang Y., et al. Gemini pyridinium surfactants. *Colloids Surf. B.* 2019; **181**: 814–821.
71. Alam M.S., Siddiq A.M., Natarajan D., Kiran M.S., Baskar G. Physicochemical properties and bioactivity studies of synthesized counterion coupled (COCO) gemini surfactant, 1,6-bis(N,N-hexadecyldimethylammonium) adipate. *J. Mol. Liq.* 2019; **273**: 16–26.
72. Tawfik S.M., Abd-Elaal A.A., Shaban S.M., Roshdy A.A. Surface, thermodynamic and biological activities of some synthesized Gemini quaternary ammonium salts based on polyethylene glycol. *J. Ind. Eng. Chem.* 2015; **30**: 112–119.
73. Gonçalves A.R.P., Paredes X., et al. Toxicity of ionic liquids. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; **22**: 561.
74. Sani N.M., Talaee M., et al. SA01-OmpA bioemulsifiers. *Microbiol. Spectr.* 2024; **12**(2).
75. Shen Y., Li F., et al. Foam features of ionic liquids. *Colloid Polym. Sci.* 2023; **301**(12): 1421–1436.
76. Amerkhanova S.K., Voloshina A.D., et al. Cytotoxic imidazolium geminis. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; **22**(23): 13148.
77. Voloshina A.D., Gumerova S.K., et al. SAR of imidazolium surfactants. *BBA Gen. Subj.* 2020; **1864**(12): 129728.
78. Dutta S., Sarkar R., et al. Therapeutic potential of *Amaranthus*. *Phytochem. Rev.* 2025. (in press).
79. Krysiński J. Rough sets approach to analysis of relationship between structure and activity of quaternary pyridinium compounds. *Pharmazie.* 1991; **46**(12): 878–881.
80. Krysiński J. Application of the rough sets theory to the analysis of structure-activity-relationships of antimicrobial pyridinium compounds. *Pharmazie.* 1995; **50**(9): 593–597.

- 81.** Krysiński J., Rough sets approach to the analysis of the structure-activity relationship of quaternary imidazolium compounds. *Arzneimittel-Forschung/Drug Res.* 1990; **40**(7): 795–799.
- 82.** Krysiński J., Rough sets in the analysis of the structure–activity relationships of antifungal imidazolium compounds. *J. Pharm. Sci.* 1995; **84**(2): 243–248.
- 83.** Pałkowski Ł., Błaszczyński J., et al. Gemini imidazolium chlorides. *Chem. Biol. Drug Des.* 2014; **83**: 278–288.
- 84.** Pałkowski Ł., Błaszczyński J., et al. Antifungal activity prediction. *Biomed Res. Int.* 2015; **2015**: 392326.
- 85.** Garcia M.T., Gathergood N., et al. Biodegradable ionic liquids. *Green Chem.* 2005; **7**: 9–14.
- 86.** Lee S.-M., Chang W.-J., et al. Ionic liquids and *E. coli*. *Korean J. Chem. Eng.* 2005; **22**: 687–690.
- 87.** Pernak J., Sobaszkiewicz K., Mirska I. Antimicrobial ionic liquids. *Green Chem.* 2003; **5**: 52–56.
- 88.** Pernak J., Goc I., Mirska I. Protic ionic liquids with lactate. *Green Chem.* 2004; **6**: 323–329.
- 89.** AL-Ghamdi S. Ni(II) and Cu(II) complexes with antibacterial activity. *Chem. Biodivers.* 2025; **22**(5): e202402540.
- 90.** Gao P., Nasution A.K., et al. Anti-bacterial Ayurvedic products. *Pharmaceuticals.* 2025; **18**(2): 192.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

5.1. Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych

Pracę naukową rozpocząłem w 2006 roku po ukończeniu studiów farmaceutycznych na Akademii Medycznej w Gdańsku (aktualnie Gdański Uniwersytet Medyczny), które zakończyłem pracą magisterską dotyczącą właściwości bioadhezyjnych polimerów i mikropeletek. Bezpośrednio po uzyskaniu dyplomu odbyłem miesięczną praktykę w dziale R&D firmy Polpharma, która dała mi pierwsze doświadczenia w projektowaniu i ocenie nowych postaci leku w warunkach przemysłowych.

Od 2006 roku rozpocząłem pracę w Katedrze Technologii Postaci Leku Collegium Medicum UMK, początkowo na stanowisku asystenta. W tym okresie prowadziłem badania nad związkami imidazoliowymi i ich aktywnością przeciwdrobnoustrojową. Pod kierunkiem prof. Jerzego Krysińskiego rozpocząłem współpracę z prof. Romanem Słowińskim i dr. Jerzym Błaszczyńskim (Politechnika Poznańska, Instytut Informatyki), koncentrując się na zastosowaniu teorii zbiorów przybliżonych w analizie zależności struktura–aktywność nowych związków chemicznych oraz w optymalizacji procesów technologicznych. Wyniki tych prac były podstawą do powstania pierwszych publikacji, które w dużej mierze wyznaczyły kierunek mojej dalszej kariery badawczej.

W okresie przed doktoratem brałem aktywny udział w konferencjach naukowych, m.in. na 7th International Conference on Rough Sets and Knowledge Technology (RSKT 2012, Chengdu, Chiny), gdzie moje wystąpienie zostało nagrodzone tytułem Best Paper Award. Jednocześnie uczestniczyłem w licznych kursach i szkoleniach (m.in. BASF ChemTrade Seminar, Gattefossé Pharmaceutical Seminar, Letnia Szkoła Technologii Farmaceutycznej GUMed), które pozwalały mi poszerzać kompetencje w zakresie technologii farmaceutycznej, Quality by Design, metod obliczeniowych i prezentacji wyników badań.

5.2. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych

W 2015 roku obroniłem rozprawę doktorską i uzyskałem stopień doktora nauk farmaceutycznych. Po doktoracie kontynuowałem badania nad związkami powierzchniowo czynnymi i ich potencjalnym zastosowaniem jako środków przeciwdrobnoustrojowych, równocześnie rozwijając zastosowania metod sztucznej inteligencji i DRSA w technologii

postaci leku. Moje badania koncentrują się na dwóch głównych obszarach: optymalizacji procesów i formulacji farmaceutycznych z wykorzystaniem metod sztucznej inteligencji oraz podejścia *Quality by Design*, a także projektowaniu i ocenie nowych kationowych środków powierzchniowo czynnych, w tym cieczy jonowych i pochodnych imidazoliowych. Efektem tych prac jest szereg publikacji w czasopismach międzynarodowych, takich jak *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *Pharmaceutics*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Molecules* czy *Journal of Molecular Liquids*.

Jestem współautorem patentu krajowego nr 245724 pt. Ciecze jonowe z kationem 1-metylo-3-oktyloksymetyloimidazoliowym i zmiennym rodzajem anionu, sposób ich otrzymywania i zastosowanie jako środków przeciwdrobnoustrojowych (zgłoszenie P.440297 z 03.02.2022, udzielony 15.07.2024, publikacja WUP 30.09.2024). Współuczestniczyłem również w opracowaniu zgłoszeń patentowych dotyczących nowych esterquatów i amidquatów na bazie kwasu kaprylowego (P.448166, P.448165, P.448164, P.448163, P.448162, P.448161).

Ważnym aspektem mojej działalności była także współpraca z przemysłem. W 2014 roku odbyłem staż w firmie ANWIPHARMA sp. z o.o. w ramach projektu „Z nauki do biznesu”. Współpracowałem również przy projektach finansowanych ze środków UE (vouchery badawcze), obejmujących opracowanie pediatrycznych postaci leku, kropli do uszu zawierających antybiotyków chinolonowy i steroid oraz preparatów aerozolowych o działaniu przeciwbólowym stosowanych po zabiegach laryngologicznych.

Kolejnym elementem mojej działalności naukowej jest współpraca międzynarodowa. Odbyłem staż naukowy w *Eshelman School of Pharmacy, University of North Carolina*, Chapel Hill, NC, USA (13.11.2023 – 09.12.2023) pod opieką prof. Alexandra Tropsha, poświęcony zastosowaniu metod chemoinformatycznych i uczenia maszynowego w projektowaniu nowych leków, w tym potencjalnych związków przeciwnowotworowych. Staż ten zaowocował nawiązaniem ścisłej współpracy naukowej i przyczynił się do uzyskania finansowania w ramach grantu NCN Miniatura. W 2017 roku odbyłem również krótkoterminowy staż naukowy w *Institute of Pharmacy and Food Chemistry*, University of Würzburg pod opieką prof. Ulrike Holzgrabe, ukierunkowany na poszukiwanie nowych związków o potencjalnym działaniu przeciwdrobnoustrojowym.

Istotną częścią mojego rozwoju była także aktywność w programach europejskich. W latach 2018–2022 uczestniczyłem w projekcie *The European Network on Understanding Gastrointestinal Absorption-related Processes* (UNGAP, COST Action CA16205), w ramach którego brałem udział w warsztatach i szkoleniach w Leuven, Helsinkach i Lizbonie, poświęconych m.in. nowoczesnym metodom spektroskopowym w badaniach nad systemami

dostarczania leków, wyzwaniom w badaniach wchłaniania doustnego oraz modelowaniu danych i korelacjom in vitro–in vivo. Jestem również członkiem grupy naukowej, która złożyła wniosek o grant *European Antiviral Network* (koordynator: Javier Sánchez-Céspedes, Institute of Biomedicine of Seville, University Hospital Virgen del Rocío, Hiszpania); projekt jest obecnie w trakcie oceny.

Równolegle rozwijam współpracę z ośrodkami krajowymi. Od wielu lat współpracuję z prof. Romanem Słowińskim i dr. Jerzym Błaszczyńskim (Politechnika Poznańska, IBS PAN), koncentrując się na rozwoju metod DRSA i ich zastosowaniu w technologii postaci leku i analizach SAR. Współpracuję także z Wydziałem Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej (grupa prof. Katarzyny Materny), gdzie prowadzone badania nad właściwościami powierzchniowymi związków imidazoliowych zaowocowały wspólnymi publikacjami i zgłoszeniami patentowymi.

Moja aktywność obejmuje także prace eksperckie. Od 2019 roku uczestniczę w pracach *European Pharmacopoeia Commission* (EDQM, Strasburg), a od 2024 roku jestem członkiem grupy eksperckiej Farmakopei Polskiej ds. Postaci Leku i Leków Aptecznych. Ponadto pełnię funkcję eksperta w NCBR (od 2017 r.) oraz w PARP (od 2024 r.), opiniując projekty badawczo-rozwojowe i wdrożeniowe.

Integralną częścią mojej pracy jest działalność dydaktyczna. Prowadzę zajęcia z technologii postaci leku i przemysłowej produkcji kosmetyków oraz sprawuję opiekę dydaktyczną nad studentami farmacji w trakcie praktyk wakacyjnych i obowiązkowego stażu w aptekach. Moim celem jest łączenie wiedzy teoretycznej z praktyką zawodową, tak aby przygotować studentów do wymagań współczesnej farmacji i pracy z pacjentem.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

Prowadziłem zajęcia dydaktyczne dla studentów kierunku farmacja z przedmiotów: opieka farmaceutyczna, farmacja praktyczna, technologia postaci leku na III, IV i V roku kierunku farmacja.

Aktualnie jestem koordynatorem przedmiotów:

Technologia Postaci Leku I, II i III dla studentów kierunku farmacja (prowadzę laboratoria i wykłady) oraz Przemysłowa Produkcja Kosmetyków dla studentów kierunku kosmetologia (prowadzę laboratoria i wykłady).

Byłem promotorem 5 prac magisterskich studentów kierunku farmacja Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika (2021-2025).

Byłem promotorem pomocniczym pracy doktorskiej dr. Sławomira Wileńskiego pt. Ocena profilu bezpieczeństwa leczenia uzupełniającego raka okrężnicy u osób ze współistniejącą cukrzycą typu II (2024, promotor prof. dr hab. Krzysztof Koper)

Byłem członkiem Rady Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w latach 2012-2016, 2016-2020 oraz Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne w latach 2020-2024.

Byłem członkiem Senatu Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w latach 2020-2024.

Jestem członkiem Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne w kadencji 2024-2028.

Biorę aktywny udział w działaniach popularyzujących osiągnięcia Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Mikołaja Kopernika poprzez udział w prowadzeniu praktycznych warsztatów dla uczniów liceów.

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

W roku 2024 otrzymałem 2 nagrody zespołowe III stopnia JM Rektora UMK za osiągnięcia uzyskane w dziedzinie naukowej.

W roku 2025 otrzymałem 1 nagrodę zespołową III stopnia oraz 1 nagrodę zespołową II stopnia JM Rektora UMK za osiągnięcia uzyskane w dziedzinie naukowej.

.....
(podpis wnioskodawcy)