

Prof. dr hab. inż. Barbara Pacewska
Politechnika Warszawska
Wydział Budownictwa, Mechaniki i Petrochemii
Instytut Chemii

Płock, dn. 17.10. 2018 r.

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr **Edyty Leyk**

pt.:

Ocena użyteczności różnicowej kalorymetrii skaningowej w analizie wybranych substancji czynnych w produktach leczniczych

wykonanej w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej Gdańskiego Uniwersytetu
Medycznego

Promotor rozprawy: prof. dr hab. Marek Wesołowski

Analiza termiczna, pojmowana jako rejestracja zmian fizykochemicznych badanej substancji w funkcji zmieniającej się temperatury, znajduje bardzo szerokie i coraz szersze zastosowanie jako metoda badawcza w wielu dziedzinach nauki i przemysłu. Ten sam trend można zaobserwować w farmacji. Wykorzystuje się ją zarówno w badaniach składników leków, w analizie jakości i kontroli procesu produkcyjnego wytwarzania leków, a także w badaniach ich finalnych właściwości, głównie w aspekcie potwierdzenia ich bezpiecznego działania terapeutycznego. Metoda ta jest szczególnie wykorzystywana do badania temperatur i efektów cieplnych przemian fazowych, takich jak topnienie, krystalizacja, rekrystalizacja czy amorfizacja struktury krystalicznej substancji czynnej. Ponadto metodę tę wykorzystuje się do identyfikacji składników, badania ich kompatybilności oraz przewidywania wzajemnej interakcji. Pozwala ona również na określenie czystości substancji przeznaczonych do celów farmaceutycznych, badania czynności optycznej, ilościowe oznaczanie wody krystalizacyjnej i wody zaabsorbowanej czy wyznaczenie stabilności termicznej substancji leczniczych. Przykładowo określenie stopnia amorficzności leku jest bardzo istotne w aspekcie jego biodostępności, a stabilność termiczna jest między innymi ważna w wyborze jego właściwej produkcji, a także w aspekcie sposobu bezpiecznego przechowywania leku.

Doktorantka, biorąc powyższe pod uwagę, słusznie i trafnie za cel pracy postawiła sobie sprawdzenie możliwości wykorzystania techniki DSC do opracowania nowych procedur analizy ilościowej badanych substancji leczniczych w handlowych preparatach farmaceutycznych. Słusznie, spodziewając się uzyskania pozytywnych wyników planowanych eksperymentów, zauważa, że nowo opracowana metoda analityczna byłaby szybka w wykonaniu, stosunkowo tania i co ważne zgodna z zasadami tzw. zielonej chemii oraz możliwością rozszerzenia jej zastosowania na kontrolę analityczną procesu wytwarzania produktu handlowego. Mgr Edyta Leyk podjęła się jednak bardzo trudnego zadania wykorzystania wartości entalpii topnienia substancji leczniczej w układach złożonych do ilościowego oznaczenia jej zawartości.

Z formalnego punktu widzenia praca liczy 217 stron, 33 rysunki i 34 tabele. Napisana jest w układzie klasycznym i zawiera: wstęp, część teoretyczną, cel pracy, część eksperymentalną, wyniki i ich dyskusję, wnioski oraz obszerny wykaz cytowanej literatury liczącej 184 pozycje, z czego blisko połowa z nich opublikowanych w ostatnich pięciu latach. Ponadto, na zakończenie pracy, Autorka przedstawiła streszczenia rozprawy w języku polskim i angielskim zawierając w nich w sposób przejrzysty zawartość merytoryczną pracy. Dodatkowo, przedstawiając na początku rozprawy wykaz używanych skrótów, bardzo ułatwiła jej czytanie.

W części teoretycznej krótko scharakteryzowała metody badawcze, tj. DSC a także spektroskopię w podczerwieni oraz Ramana. Opis technik kalorymetrycznych mógłby być pełniejszy zważywszy na fakt, że Doktorantka np. na str. 14 i 26 pracy nawiązuje do różnicowej kalorymetrii skaningowej z modulacją temperatury, a na str. 24 do metody DSC o wysokiej czułości pozwalającej na rejestrację niewielkich efektów cieplnych. Dalej w części teoretycznej omawia badanie substancji wykorzystywanych do celów farmaceutycznych i preparatów farmaceutycznych w aspekcie ich tożsamości, struktury krystalicznej, czystości, zawartości wody i solwatów, trwałości, interakcji pomiędzy składnikami, tworzenia kokryształów, badanie form pośrednich prowadzących do wytworzenia gotowego produktu. Część teoretyczną pracy kończy krótkim omówieniem analizy ilościowej substancji czynnej w preparatach farmaceutycznych ze szczególnym uwzględnieniem zastosowania do tego celu metod termoanalitycznych, problemu związanego z głównym celem pracy.

W części eksperymentalnej pracy Doktorantka przedstawiła wyniki obszernych badań kalorymetrycznych mających na celu sprawdzenie możliwości wykorzystania różnicowej kalorymetrii skaningowej do ilościowego oznaczenia składnika leczniczego w mieszaninach wzorcowych substancji czynnych (paracetamolu, kwasu acetylosalicylowego, kofeiny i

teofiliny) z wybranymi, najczęściej stosowanymi substancjami pomocniczymi w technologii otrzymywania stałych postaci leku, a także w wybranych preparatach handlowych. Do analizy ilościowej substancji czynnej mgr Edyta Leyk wykorzystała zależność entalpii topnienia substancji leczniczej od jej zawartości w badanym układzie. Trudno się nie zgodzić z Autorką, że poprawny wynik takiego ilościowego oznaczenia może mieć jedynie miejsce przy braku oddziaływań fizykochemicznych między składnikami badanego układu, co niejednokrotnie jest trudne do osiągnięcia. Przekonała się o tym Doktorantka, wnikliwie analizując otrzymane wyniki DSC. Mimo, że temperatury topnienia składników czynnych dla większości mieszanin były zgodne z danymi literaturowymi, wyniki badań kalorymetrycznych badanych układów nie były do końca zadowalające. Doktorantka dla większości badanych układów uzyskała liniową zależność wielkości entalpii topnienia substancji leczniczej od jej zawartości w próbce, ale w wielu przypadkach w niepełnym zakresie zawartości składnika czynnego. Ponadto w wielu przypadkach krzywa kalibracji nie przechodziła przez początek układu współrzędnych, co dowodziło występowania błędu systematycznego. Powszechnie wiadomo, że bez poznania przyczyny i wartości takiego błędu, oznaczenie ilościowe jest mocno ograniczone, a właściwie niemożliwe. Doktorantka, za danymi literaturowymi, przyczyn błędu systematycznego upatrywała w częściowej utracie krystaliczności substancji czynnej w zetknięciu z substancją pomocniczą, np. z hypromelozą. Omówiła przypuszczalne chemiczne i fizyczne przyczyny tego zjawiska. Przykładowo pokazała, że na zależność entalpii topnienia w funkcji składu ma pewien wpływ sposób homogenizacji próbek, co w niektórych przypadkach uwidacznia się zmniejszeniem wyrazu wolnego krzywej kalibracji przy mieszaniu próbek kartą celuloidową w porównaniu z mieszaniem pistlem. Doktorantka, analizując wyniki badań kalorymetrycznych preparatów farmaceutycznych, stwierdza ich ograniczoną przydatność do analiz ilościowych zawartości w preparacie składnika czynnego.

Godnym więc podkreślenia i słusznym jest fakt próby poznania przez Autorkę przyczyn wystąpienia błędu systematycznego. Do tego celu wykorzystała inne metody badawcze, tj. spektroskopię FTIR i Ramana oraz termomikroskopię. Celem wyjaśnienia przyczyn wystąpienia błędu systematycznego w oznaczeniach ilościowych badanych układów opracowała także diagramy fazowe pozwalające ocenić prawdopodobieństwo wzajemnego rozpuszczania składników w fazie stałej. Powyżej wskazane badania pozwoliły Doktorantce na głębsze poznanie oddziaływań chemicznych i fizycznych między składnikami badanego układu. Dobrym jednak uzupełnieniem byłaby łączna rejestracja z krzywymi DSC krzywych TG dająca możliwość potwierdzenia lub wykluczenia wpływu zmiany masy (np. podczas

rozkładu, sublimacji) na obserwowane na krzywych DSC efekty cieplne. Potwierdza to sama Autorka pisząc na str. 30, że: „Jeżeli proces topnienia przebiega z równoczesnym rozkładem, możliwe jest przeprowadzenie dekonwulsji [143]. Polega ona na rozdzieleniu na krzywej DSC pików związanych z topnieniem oraz degradacją. Detekcja temperatury, w której inicjowany jest rozkład substancji możliwa jest dzięki przeprowadzeniu badań TG w tych samych warunkach, w jakich prowadzone są badania DSC.”

Uzyskane przez Autorkę wyniki badań spektroskopowych pozwoliły Jej na stwierdzenie braku oddziaływań chemicznych pomiędzy składnikami badanych układów (brak w widmach nowych pasm), a także w większości mieszanin nieobecność oddziaływań fizycznych skutkujących przesunięciem charakterystycznych pasm dla składników leczniczych. Pod tym względem, wskazany przez Autorkę wyjątek mieszaniny ASA z HPMC, spowodowany częściową deacetylacją substancji czynnej, mógłby być zilustrowany wynikami uzyskanymi przez jednoczesną rejestrację krzywych TG i DSC tych mieszanin. Tym bardziej byłoby to wskazane, zważywszy na fakt, że Doktorantka podsumowując wyniki badań termomikroskopowych (str. 87) mówi o nasilającej się deacetylacji w „podwyższonej” temperaturze. W badaniach termomikroskopowych nie zaobserwowano tworzenia nowych kryształów lub cząstek amorficznych składnika czynnego. Natomiast niepokoi stwierdzenie dotyczące „intensywnej” sublimacji niektórych składników badanych mieszanin (np. str. 83 i 87). Jeżeli określenie „intensywnej” sublimacji jest nieco przesadzone, to przy wykonywaniu pomiarów DSC w warunkach dynamicznych niewielka sublimacja nie powinna znacząco wpływać na uzyskany wynik wartości entalpii topnienia. W przeciwnym razie powinna być zbadana kinetyka tego procesu ze wskazaniem zakresu temperaturowego jego przebiegu.

Opracowane na podstawie obliczeń diagramy fazowe, pokazujące stan równowagi mieszanin zawierających krystaliczną substancję leczniczą (PAR, TF, KOF, ASA) i bezpostaciową substancję pomocniczą (HPMC), pozwoliły Doktorantce wyjaśnić fakt obniżenia wartości entalpii topnienia (wyznaczonej metodą DSC) substancji leczniczej w mieszaninach wzorcowych w porównaniu z entalpią czystej substancji leczniczej. Zjawisko to tłumaczy wzajemnym rozpuszczaniem i mieszaniem składników badanego układu. W tym miejscu należy podkreślić, że obliczona przez Autorkę wzajemna rozpuszczalność i mieszalność paracetamolu z HPMC nie była dotychczas znana w literaturze.

Należy także zauważyć, że analiza diagramów fazowych pozwoliła Autorce na sformułowanie głównego wniosku pracy, że rozpuszczalność i mieszalność substancji czynnych z polimerem (powodujące częściową utratę krystaliczności substancji czynnej) jest

przyczyną niepowodzenia wykorzystania techniki DSC do oznaczeń ilościowych substancji czynnych we wzorcowych mieszaninach tabletkowych i preparatach farmaceutycznych.

Ponadto godnym podkreślenia jest, że Autorka słusznie zauważa, że na rozpuszczalność i mieszalność składników w handlowych preparatach farmaceutycznych mają wpływ (trudny do określenia) parametry technologiczne ich wytwarzania, co może stanowić jedną z głównych, ale nie tylko, przyczyn błędnych wyników ich analizy ilościowej.

Przedstawione przeze mnie wcześniej uwagi, mogące stanowić temat do dyskusji, nie zmniejszają wartości rozprawy jako całości. Doktorantka podjęła się bardzo trudnego zadania opracowania nowej metody analitycznej wykorzystującej technikę DSC do analizy składu handlowych preparatów farmaceutycznych. Nie uzyskując w wielu przypadkach zadowalających wyników analiz, podjęła trud wyjaśnienia przyczyn tego zjawiska wykorzystując do tego celu nowoczesne techniki badawcze. Zgromadziła i wnikliwie przeanalizowała bogaty materiał doświadczalny. Opracowała dobrze udokumentowane wnioski.

W podsumowaniu stwierdzam, że praca mgr Edyty Leyk spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Wnioskuje o jej przyjęcie i dopuszczenie do publicznej obrony.

