



UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY Z ODDZIAŁEM MEDYCZYNY
LABORATORYJNEJ
Zakład Chemii Leków
15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2D
Tel. (85) 748-57-06, FAX (85) 748-58-66
pal@amb.edu.pl

Prof. dr hab. n. farm. Jerzy Pałka

Białystok, 26.06.2015.

OCENA PRACY DOKTORSKIEJ

pt. „Wykorzystanie metod chemometrycznych w analizie produktów pochodzenia roślinnego oraz realizacji koncepcji Quality by Design w technologii farmaceutycznej” wykonanej przez mgr Joannę Ronowicz w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, UMK w Toruniu.

Niniejszą pracę doktorską stanowi cykl 4 publikacji z listy filadelfijskiej o łącznym IF=5,9. Przedmiotem badań stanowiących treść rozprawy doktorskiej jest ocena możliwości wykorzystania narzędzi chemometrycznych do opracowania metodologii zapewnienia jakości na przykładzie 3 procesów: i/ opracowywania postaci leku, ii/ optymalizacji procesu wytwarzania produktu oraz iii/ oceny jakościowej produktu.

Badania zawarte w publikacjach wpisują się w koncepcję nowoczesnej strategii zapewnienia jakości, określanej mianem *Quality by Design* oraz *Process Analytical Technology*. Podłożem tej strategii jest zapewnienie na każdym etapie projektowania, wytwarzania czy oceny jakości, pełnej realizacji procedur według *Standard Operation Procedures*. Tego typu strategia zapewnia jakość, a nie weryfikuje ją, bowiem jakość wpisana jest w produkt lub procedurę. Z tego względu w wytycznych ICH pojawiają się wymagania zdefiniowania krytycznych atrybutów jakościowych produktu, użytych materiałów, procesu wytwarzania, kryteriów akceptacji i innych. Z uwagi na ogromną ilość danych pomiarowych zachodzi potrzeba zastosowania efektywnych narzędzi analizy tych danych. Europejska Agencja ds. Produktów Leczniczych zaleca stosowanie technik chemometrycznych. Doktorantka zaproponowała zatem chemometryczną analizę danych przy opracowywaniu składu recepturowego zawiesiny węgla aktywnego poprzez zdefiniowanie krytycznego atrybutu jakościowego planowanego produktu, opracowanie metody RP-HPLC do oceny zdolności adsorpcyjnej węgla aktywnego oraz oceny wpływu substancji pomocniczych na ten proces. Pozwoliło to na optymalizację składu jakościowego i ilościowego zawiesiny węgla aktywnego oraz stworzenie modelu opisanego równaniem regresji wielorakiej do przewidywania zdolności adsorpcyjnej produktu finalnego.

Kolejnym wyzwaniem była optymalizacja procesu wytwarzania peletek na podstawie 224 receptur opisanych przez 14 zmiennych, poprzez poszukiwanie zależności pomiędzy składem mieszanin, parametrami technologicznymi i kształtem peletek. Analiza drzew decyzyjnych pozwoliła zdefiniować parametry o kluczowym znaczeniu dla jakości postaci leku.

W toku dalszych badań Doktorantka zastosowała metody chemometryczne do oceny jakościowej produktów pochodzenia roślinnego z liści *Ginkgo Biloba* i *Camellia Sinensis*. Dokonała analizy jakościowej związków polifenolowych metodą chromatografii *fingerprint*, oznaczyła ich całkowitą zawartość, aktywność antyoksydacyjną oraz dokonała chemometrycznej analizy podobieństwa pomiędzy badanymi ekstraktami surowców z wykorzystaniem analizy głównych składowych i algorytmów segmentacji bezwzorcowej. Pozwoliło to zbudować model regresyjny do przewidywania aktywności antyoksydacyjnej ekstraktu na podstawie chromatogramu *fingerprint*.

Cykl badań przeprowadzonych przez Doktorantkę stanowi instrukcję do zarządzania ogromnym zbiorem danych analitycznych uzyskiwanych na etapie projektowania, wytwarzania, optymalizacji czy oceny produktu. Doktorantka przedstawiła hierarchię obróbki danych poprzez analizę chemometryczną i zaawansowaną wielowymiarową analizę statystyczną w celu oceny relacji ilościowych i jakościowych pomiędzy składnikami produktu leczniczego, oceny krytycznych etapów wytwarzania i oceny jakości. Zastosowana technologia badawcza wymaga użycia wielu nowoczesnych narzędzi analitycznych, obliczeniowych, specjalistycznych programów oraz biegłej znajomości metod statystycznych i specjalistycznej wiedzy farmaceutycznej.

Podjęcie przez Doktorantkę niniejszego tematu badawczego uważam za uzasadnione i niezwykle ważne z punktu widzenia zarówno metodologicznego jak i aplikacyjnego. Działalność badawcza w tym zakresie jest innowacyjnym i twórczym wkładem do nowoczesnego systemu zapewnienia jakości, który od kilku lat stanowi wymóg ICH przy wniosku rejestracyjnym leku. W ostatnich latach zagadnienia te stanowią przedmiot intensywnych badań. Świadczy o tym aktualna literatura dotycząca tych zagadnień, zamieszczona w piśmiennictwie rozprawy doktorskiej. Na jej podstawie Doktorantka opracowała syntetyczny wstęp.

Wiarygodność swoich badań Doktorantka potwierdziła szeregiem testów istotności statystycznej. Stosując wielowymiarową analizę statystyczną – analizę głównych składowych (PCA) oraz analizę drzew decyzyjnych CART, Doktorantka zbudowała modele charakteryzujące się dużym potencjałem poznawczym i predykcyjnym.

Treść pracy doktorskiej została przedstawiona w postaci 4 publikacji. Stanowią one obszerną dokumentację ogromu pracy doświadczałnej i koncepcyjnej Doktorantki. Szczególną uwagę zwraca opanowanie nowoczesnego i innowacyjnego warsztatu badawczego, doświadczenie i profesjonalizm badawczy, które pozwoliły zapewnić wysoką jakość i rzetelność badań. Opis publikacji zawiera elementy „Dyskusji” które doskonale interpretują uzyskane wyniki badań na podstawie badań własnych i aktualnej literatury przedmiotu. Pozwala to bardzo pozytywnie ocenić specjalistyczną wiedzę Doktorantki, umiejętność rozwiązywania problemów badawczych, korzystania z literatury stanowiącej przedmiot pracy oraz interpretacji wyników.


Na podstawie wyników obszernych badań Doktorantka sformułowała 3 wnioski podsumowujące. Odzwierciedlają one najistotniejsze elementy poznawcze pracy i wyznaczają standardy dokumentacji zapewniającej jakość produktu leczniczego czy procesu technologicznego.

Niemniej jednak niektóre zagadnienia zamieszczone w opublikowanych pracach nie są jasno sformułowane, rodzą pytania lub mogą stanowić przedmiot dyskusji, na przykład:

1. Acta Pharm. 65 (2015), Str. 85. Tabela I (przedstawia 14 formułacji, z których 1 i 9, 2 i 10, 3 i 11, 6 i 8 oraz 12 i 13 są jednakowe. Podobnie jest w Tabeli II na str. 86. Brak w treści pracy wyjaśnienia celu takiego zestawienia. Autorka opisuje analizę 14 różnych formułacji, tymczasem doliczyłem się 9.
2. Cent. Eur. J. Chem. 12 (2014) Tabela I nie podaje zawartości ekstraktu w produkcji, co uniemożliwia porównanie ilościowe składników uwidoczniionych na chromatogramie (Ryc.1) zwłaszcza, że DS2 zawiera koncentrat a DS5 standaryzowany ekstrakt. Czy nie należało sprowadzić tych preparatów do porównywalnych zawartości ekstraktu?
3. Cent. Eur. J. Chem. B4 (2013), str. 376, rozdział 2.2.2. Jakie były kryteria wyboru pików? Nie wyjaśniono bowiem na jakiej podstawie wytypowano 11 pików z chromatogramów jeśli ich nie zidentyfikowano.
4. Str. 75 rozprawy, wniosek 3 jest ogólnikowy i nie precyzyjny. Brak analizy jakościowej pików chromatograficznych w prezentowanej pracy uniemożliwia ocenę zanieczyszczeń preparatu bądź zafalszowań.

Reasumując, uważam, że rozprawa doktorska mgr Joanny Ronowicz jest pracą wartościową, poprawnie przygotowaną warsztatowo i wnosi nowe elementy poznawcze w zakresie wykorzystania narzędzi chemometrycznych w analizie i technologii farmaceutycznej.

Upoważnia mnie to do wystąpienia z wnioskiem do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, o dopuszczenie mgr Joanny Ronowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Chemii Leków

prof. dr hab. Jerzy Półka