

Załącznik 2A

Dr Wiesława Misiuk
Uniwersytet w Białymstoku
Wydział Biologiczno-Chemiczny
Instytut Chemii
Zakład Chemii Ogólnej i Nieorganicznej
ul. Hurtowa 1, 15-399 Białystok

AUTOREFERAT

do wniosku o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego

Białystok 2015

1. IMIĘ I NAZWISKO: Wiesława Misiuk

2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE – Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ICH ROKU UZYSKANIA

1972 - 1976 - I Liceum Ogólnokształcące w Białymstoku

1976 - 1980 - Studia magisterskie na Wydziale Matematyczno - Przyrodniczym, Uniwersytet Warszawski, Filia w Białymstoku,

17.07.1980 - magister chemii, specjalność nauczycielska, dyplom z wyróżnieniem

Tytuł pracy magisterskiej: „*Wykorzystanie dipikryloaminy do ekstrakcyjno-spektrofotometrycznego oznaczania chloropromazy i prometazy*”,

Promotor: dr hab. Mikołaj Tarasiewicz

13.06.1990 - stopień doktora nauk farmaceutycznych

Tytuł rozprawy doktorskiej:

„*Reakcje niektórych pochodnych fenotiazyny z jonami tytanu (IV), niobu (V), wanadu (V) i ich analityczne wykorzystanie*”,

Promotor: dr hab. Mikołaj Tarasiewicz

Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

1980 - 1981 - Stanowisko asystenta stażysty w Zakładzie Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku

1980 - 1984 - Stanowisko asystenta w Zakładzie Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku

1984 - 1989 - Stanowisko starszego asystenta w Zakładzie Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku

1989 - 1991 - Stanowisko naukowe specjalisty w Zakładzie Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku

1991 - 2009 - Stanowisko adiunkta w Zakładzie Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku

2009 - 2010 - Stanowisko starszego wykładowcy w Zakładzie Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku

2010 - 2015 - Stanowisko starszego specjalisty w Zakładzie Chemii Ogólnej i Nieorganicznej
Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku

4. NAUKOWE STAŻE ZAGRANICZNE

X 1987 - X 1988 - Uniwersytet im. Karola w Pradze, Czechy, Prof. J. Zyka

5. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO z ustawy z dnia 1 września 2011 r. (Dziennik Ustaw Nr 196, Poz. 1165) oraz z dnia 22 września 2011 r. (Dziennik Ustaw Nr 204, Poz. 1200)

5A. Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego:

Badanie połączeń wybranych leków psychotropowych i antybiotyków fluorochinolowych z cyklodekstrynami

5B. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

Materiałem źródłowym dotyczącym opisu moich osiągnięć naukowych są następujące prace:

A1. Misiuk W., Zalewska M., Investigation of inclusion complex of trazodone hydrochloride with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Carbohydrate Polymers* 77, 482-488 (2009). (IF=3,17)

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na sformułowaniu problem badawczego, wyborze metodyki badawczej, wykonaniu pomiarów spektroskopowych, ich interpretacji, dyskusji wyników FT-IR i NMR, przygotowaniu części literaturowej, napisaniu manuskryptu, funkcja autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 90%.

A2. Misiuk W., Zalewska M., Study on the inclusion interactions of β -cyclodextrin and its derivative with clomipramine by spectroscopy and its analytic application. *Analytical Letters* 41, 543-560 (2008). (IF=1,281)

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na zaplanowaniu badań, wykonaniu badań spektroskopowych, przeprowadzeniu obliczeń teoretycznych wraz z ich opracowaniem, interpretacji i dyskusji wyników, przygotowaniu części literaturowej, współudział w przygotowaniu manuskryptu, funkcja autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 80%.

A3. Misiuk W., Govil J.N., Cyclodextrins, structures and properties useful in treating diseases and revitalizing body systems. *Recent Progress in Medicinal Plants, volume 29, Drug Plants III, 159-181*, Eds. J.N. Govil & V.K. Singh, Studium Press LLC, USA 2010.

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na dokonaniu przeglądu literaturowego, dokonaniu analizy zebranego materiału, napisaniu manuskryptu oraz opracowaniu koncepcji wszystkich schematów, funkcja autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 80%.

A4. Misiuk W., The role of assay methods in characterizing the quality of bulk pharmaceuticals. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences 2, 88-92 (2010)*.

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na zebraniu materiału literaturowego i jego analizie, napisaniu rozdziałów manuskryptu, poprawa manuskryptu w odpowiedzi na recenzje, funkcja autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 100%.

A5. Misiuk W., Zalewska M., Spectroscopic investigation on the inclusion interaction between hydroxypropyl- β -cyclodextrin and bupropion. *Journal of Molecular Liquids 159, 220-225 (2011)*. (IF=1,58)

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na zaplanowaniu badań, wykonaniu pomiarów spektroskopowych, ich interpretacji, dyskusji wyników NMR, przygotowaniu rozdziałów manuskryptu, poprawa manuskryptu w odpowiedzi na recenzje, funkcja autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 85%.

A6. Misiuk W. Spectrofluorimetric study on inclusion interaction of β -cyclodextrin with duloxetine and its analytical application, *Indian Journal of Chemistry Sec. A 51, 2012, 1706-1710 (2012)*. (IF=0,79)

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na wykonaniu badań fluorymetrycznych, analizie, interpretacji i dyskusji wyników, przygotowaniu części literaturowej i napisaniu manuskryptu, funkcja autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 100%.

A7. Misiuk W. Jasiuk E., Study of the inclusion interaction of HP- γ -cyclodextrin with bupropion and its analytical application. *Journal of Molecular Structure 1060, 272-279 (2014)*. (IF=1,585)

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na wykonaniu i interpretacji badań części spektroskopowej i obliczeniowej, analizie, interpretacji i dyskusji wyników, przygotowaniu części literaturowej i napisaniu manuskryptu, funkcja autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 85%.

A8. Misiuk W., Study of the inclusion behavior of β -cyclodextrin with ziprasidone and its pharmaceutical application. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 7, 463-466 (2015). (IF= 1,59)

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na zaplanowaniu badań, przeprowadzeniu pomiarów, wykonaniu części obliczeniowej, analizie, interpretacji i dyskusji wyników, przygotowaniu części literaturowej i napisaniu manuskryptu, funkcja autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 100%.

A9. Misiuk W., Józefowicz M., Study on a host-guest interaction of hydroxypropyl- β -cyclodextrin with ofloxacin. *Journal of Molecular Liquids* 202, 101-106 (2015). (IF=2,515)

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na określeniu problemu badawczego, wykonaniu pomiarów spektroskopowych, przeprowadzeniu obliczeń, analizie, interpretacji i dyskusji wyników FT-IR, przygotowaniu części literaturowej i współudział w przygotowaniu manuskryptu, poprawa manuskryptu w odpowiedzi na recenzje, funkcja autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 85%.

Sumaryczny IF publikacji A1-A9 zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 12,511.

Pracę badawczą w przedstawionych publikacjach wykonano w latach 2008-2015 w Zakładzie Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Wydziału Biologiczno-Chemicznego, Uniwersytetu w Białymstoku. Badania były finansowane z prac własnych i statutowych Uniwersytetu w Białymstoku.

5C. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WW. PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA

WPROWADZENIE

Rozwój cywilizacji na świecie, zwłaszcza w krajach uprzemysłowionych, przyczynia się do ciągłego wzrostu zachorowań na choroby psychiczne. Ostatnio coraz częściej mówi się o

społecznych następstwach chorób psychicznych. Nieracjonalnie zorganizowany wypoczynek, szybkie tempo życia, jego nieregularność, zmechanizowane, monotonne czynności wykonywane w czasie pracy prowadzą do napięć psychicznych przekraczających zdolności adaptacyjne organizmu.

Ponadto każdy organizm żywy, w tym człowiek narażony jest na działanie różnych patogenów drobnoustrojowych. Obserwuje się wzrost zapotrzebowania na nowe antybiotyki umożliwiające leczenie zakażeń opornych na inne antybiotyki i charakteryzujące się niską toksycznością. Nauki medyczne i chemiczne nastawione są na poszukiwanie nowych skuteczniejszych leków, które mogłyby przynieść ulgę pacjentom.

Oceniając aktualny stan badań nad lekami psychotropowymi i antybiotykami fluorochinolowymi należy podkreślić, iż bardzo szybki rozwój przemysłu farmaceutycznego i pojawienie się nowych substancji leczniczych oraz nowych postaci leków stwarza konieczność rozwoju metod badania ich jakości z wykorzystaniem osiągnięć współczesnych technik badawczych, takich jak spektroskopowe, fluorymetryczne, immunologiczne, chromatograficzne, elektrochemiczne, przepływowe umożliwiające automatyzację procedur oraz mikroskopii elektronowej.

Zapewnienie odpowiedniej jakości produktów leczniczych jest ważnym i złożonym problemem. W dziedzinie tej obserwuje się dynamiczny rozwój. Producenci jak i agencje rządowe wykazują coraz większą troskę o wytwarzanie skutecznych oraz bezpiecznych leków. Istotnym elementem zapewnienia odpowiedniej jakości produktu leczniczego jest stworzenie właściwych warunków produkcji oraz opracowanie odpowiednich metod dla potwierdzenia właściwej jakości wytworzonego leku i jego zgodności z zatwierdzoną specyfikacją. Skuteczna kontrola parametrów mających wpływ na jakość gotowej postaci leku wymaga metod specyficznych, odtwarzalnych, precyzyjnych, pewnych i nie generujących wysokich kosztów.

Ciągła troska i zainteresowanie przemysłu farmaceutycznego w produkowaniu bezpiecznych leków wymaga przestrzegania zasad dobrej praktyki wytwarzania (GMP) oraz zasad dobrej praktyki laboratoryjnej (GLP). Zauważono, że jakość leków zależy przede wszystkim od właściwej kontroli całego procesu wytwarzania i stosowanych metod badania w ocenie całego procesu produkcji i gotowych produktów leczniczych.

W krajach Unii Europejskiej i w Polsce rejestracja oraz dopuszczenie do obrotu produktów leczniczych i wyrobów medycznych związane z ich jakością, bezpieczeństwem i skutecznością terapeutyczną jest kreowane przez Europejską Agencję Oceny Leków (EMA, CPMP), Europejski Dyrektoriat Jakości Leków (EDQM) i Międzynarodową Konferencję Harmonizacji Wymagań dla Leków (ICH, EU/USA/Japonia). Dokumentem opisującym te wymagania jest

Eudralex (The Rules Governing Medicinal Products in the European Union) wraz z aktualizacjami poszczególnych dokumentów oraz Farmakopea Europejska [1].

Kontrola jakości leków w nowoczesnym rozumieniu jest złożonym systemem analizującym, oceniającym i kontrolującym wszystkie etapy - począwszy od syntezy związku, uznania go za lek w oparciu o wielodyscyplinarne badania, jego dystrybucję i właściwe ordynowanie, aż do ciągłego monitorowania efektywności terapeutycznej i działań ubocznych. Sprostanie tym wymogom jest możliwe dzięki postępowi w naukach chemicznych w zakresie wykorzystania nowoczesnej aparatury kontrolno-pomiarowej, komputeryzacji i automatyzacji procesów, prowadzenia badań interdyscyplinarnych, jak również wdrażania naukowych opracowań do zastosowań praktycznych. Wielokierunkowość badań nad lekiem wymaga uwzględnienia wielu dziedzin naukowych, które zmierzają do wspólnego celu jakim jest jego jakość, bezpieczeństwo stosowania i skuteczność terapeutyczna [2,3].

Na uwagę zasługuje fakt, że aktywna substancja farmaceutyczna charakteryzuje się nieco innymi niż substancja chemiczna cechami i powinna spełniać określone wymagania jakości [4]. Wymagania jakości substancji aktywnych znajdują się w wytycznych EMEA/CVMP/1069/02, CHMP/QWP/297/97- *Guideline on summary of requirements for active substances in the quality part of the dossier*. Należy również zwrócić uwagę na nowe wymagania dotyczące stabilności substancji aktywnej i postaci farmaceutycznej. Odpowiednie dane znajdują się w *Note for Guidance on stability testing of existing active substances and related finished products* (EMEA/CVMP/846/99, CPMP/QWP/122/02) i w Farmakopei Europejskiej 6 w monografii ogólnej „Substancje do użytku farmaceutycznego”. Szczegóły dotyczące procesu wytwarzania substancji aktywnych, kontroli jakości i procesu walidacji są przedstawione w wytycznych - *Guideline active substance master file procedure* EMEA/CVMP/134/02 lub CPMP/QWP/227/02.

W badaniach substancji leczniczych istotny jest również aspekt ekonomiczny i finansowy. Implikacje wynikające z błędów analiz substancji leczniczych są bardziej dalekosiężne, niż tylko koszty powtórzenia spowodowane błędami. W Unii Europejskiej niezależna od producenta kontrola jakości leków jest istotnym problemem. EDQM przygotował raport dla Parlamentu Europejskiego (dokument PA/PH/OMCL/2002/16) przedstawiający narastające problemy związane z niewłaściwą jakością leków obecnych na rynku europejskim, przede wszystkim wzrastającą liczbą nieprawidłowo wyprodukowanych gotowych postaci farmaceutycznych, obecnością niedozwolonych zanieczyszczeń, pomyłkami podczas procesu wytwarzania oraz podkreślając rolę, jaką w systemie kontroli odgrywają rządowe laboratoria (Regulatory Role of OMCL). W Polsce za weryfikację bezpieczeństwa i jakości produktów leczniczych oraz wyrobów

medycznych odpowiedzialny jest statutowo Narodowy Instytut Leków, który wykonuje je w ramach sprawowanej przez resort zdrowia kontroli.

Zgodnie z wymaganiami europejskimi leki kontrolowane są podczas wytwarzania i wprowadzania do obrotu oraz w uzasadnionych przypadkach podczas procesu rejestracji. W badaniach tych uwagę należy zwrócić na ustalenie formy polimorficznej, od której może zależeć biodostępność leku oraz na analizę śladową zanieczyszczeń. Prowadzona jest również wyrównoważona kontrola leków obecnych na rynku oraz wszystkich serii produktów leczniczych wytworzonych poza Unią Europejską. Metody analizy stosowane w tych badaniach muszą być poddane walidacji, badane próbki powinny być reprezentatywne (problem homogeniczności serii produkcyjnych), uzyskane wyniki opracowane statystycznie z oszacowaną niepewnością. Przy wyborze odpowiedniej techniki i procedury badania rozważa się zasadniczo dwa rodzaje kryteriów - decydujące o jakości wyniku analizy oraz dotyczące kosztów inwestycyjnych i eksploatacyjnych uwarunkowane możliwościami osobowymi oraz potrzebami. Współczesne metody chemiczne stosowane w badaniach leków umożliwiają oznaczenie praktycznie każdego analitu w różnych matrycach. Rozmaitość analizowanych układów powoduje, że konieczne jest modyfikowanie dotychczas znanych procedur analitycznych oraz ich udoskonalanie. Sytuacja jest trudna, gdy zachodzi potrzeba opracowania postępowania dotyczącego analizy jakości dla układu, który nie był dotychczas badany [5,6].

Rozwiązywanie problemów związanych z chemiczną oceną jakości aktywnych związków leczniczych jest ważne w aspekcie zbadania przydatności tych substancji do sporządzania leków i potrzeb farmakoterapii. Podstawowe wymagania jakości produktów leczniczych oraz użytych substancji pomocniczych zawarte są w Farmakopei, oficjalnym, urzędowym, obowiązującym w danym państwie, zbiorze podstawowych wymagań odnoszących się do składu i jakości środków farmaceutycznych, metod badania surowców i preparatów farmaceutycznych oraz wybranych wyrobów medycznych. Farmakopea stanowi integralną część ogólnego systemu zapewnienia należytej jakości leków. Ogólne metody określania jakości produktów leczniczych zawarte są w monografiach farmakopealnych środka leczniczego. Sposób badania zawartości aktywnej substancji leczniczej występującej w postaci stałej i płynnej opisują monografie szczegółowe zawarte w farmakopei [7, 8].

W kompleksowej ocenie jakości aktywnych substancji leczniczych istotne są badania ich zanieczyszczeń, ze względu na bezpieczeństwo pacjenta [9,10]. Znane są przypadki wycofania produktów leczniczych, ze względu na działania niepożądane, których przyczyną było zanieczyszczenie obecne w ilościach śladowych.

Postęp myśli naukowej i technik badania leków umożliwia otrzymywanie substancji aktywnych o wysokiej czystości. Farmakopea Europejska wprowadziła nowy element zwany „przejrzystością monografii”, który dotyczy identyfikacji zanieczyszczeń i ustaleń dopuszczalnych ich poziomów. Listy zanieczyszczeń określone metodami opisanymi w monografii, zostały rozszerzone na nowe rodzaje zanieczyszczeń, pojawiające się, np. przy zmianie sposobu syntezy substancji leczniczej lub z innych przyczyn. W przypadku nowych surowców farmaceutycznych, informacje o zanieczyszczeniach Komisja Farmakopei Europejskiej uzyskuje od producentów. Dla substancji pod ochroną patentową, informacje o zanieczyszczeniach nie są publikowane, lecz przechowywane w banku danych Sekretariatu Komisji Farmakopei Europejskiej. Farmakopea Europejska określiła oznaczanie zanieczyszczeń indywidualnie monitorowanych, charakterystycznych, których obecność została zaakceptowana przez władze dopuszczające leki do obrotu oraz zanieczyszczeń wykrywalnych (potencjalnych), które nie były określone przy opracowywaniu monografii, ale ich obecność można teoretycznie przewidzieć i mogą się pojawić, np. podczas unowocześniania procesu technologicznego.

METODY STOSOWANE W BADANIACH JAKOŚCI LEKÓW

System jakości w laboratoriach kontrolujących leki powinien być zgodny z normą ISO/IEC 17025:2001 – *Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących* oraz z wymaganiami EDQM powstającymi w ramach European Network of Official Medicines Control Laboratories (OMCLs). Zalecenia dotyczące kryteriów oceny i akceptacji wyników, ze szczególnym omówieniem wyników nie odpowiadających specyfikacji zawarte są w *Evaluation and reporting of results*, dokumentach PA/PH/OMCL(2000)52 i PA/PH/OMCL(2003)25.

Norma ISO 17025 zawiera wszystkie wymagania, jakie muszą spełniać laboratoria badawcze i wzorcujące, jeżeli chcą wykazać, że stosują system jakości, są kompetentne technicznie i zdolne do uzyskiwania wyników merytorycznie istotnych. Prawidłowość funkcjonowania i biegłość analityczna laboratoriów w krajach wspólnoty europejskiej kontrolowana jest poprzez audyty i badania między laboratoryjne organizowane przez OMCL (European Directorate for the Quality of Medicines).

W ocenie jakości leków stosuje się najczęściej metody związane z rozdzielaniem składników - wysokosprawną chromatografię cieczową HPLC, chromatografię cienkowarstwową TLC, elektroforezę kapilarną CE i techniki identyfikacji - spektroskopowe w zakresie nadfioletu i widzialnym UV/VIS, w podczerwieni z transformacją Fouriera FT-IR, magnetycznego rezonansu jądrowego NMR, spektroskopię mas MS, fluorymetryczne, elektrochemiczne,

dyfrakcję rentgenowską do analizy związków polimorficznych oraz mikroskopię elektronową do badania morfologii powierzchni.

Zastosowanie technik łączonych w analizie leków umożliwia uzyskanie więcej informacji niż można otrzymać z każdej techniki stosowanej z osobna oraz przyczynia się do zaoszczędzenia czasu i zwiększenia wydajności analizy. Techniki te jednak nie są pozbawione wad. Przykładowo zastosowanie spektrometrii mas jako detektora w technikach łączonych powoduje destrukcję próbki, substancji wyjściowej nie można odzyskać. Ponadto związki blisko spokrewnione ze względu na podobną fragmentację dają widma mas bardzo zbliżone.

Techniki łączone są użyteczne przede wszystkim w badaniu zanieczyszczeń substancji leczniczych metalami toksycznymi. Metody te stają się coraz istotniejszym narzędziem analizy specyficzynej, gdzie rozdzielanie oznaczanych form pierwiastków zachodzi zwykle w układzie chromatograficznym – chromatografii gazowej czy wysokosprawnej chromatografii cieczowej lub elektroforezy kapilarnej, jako detektory stosowane są natomiast powszechnie wykorzystywane dla oznaczeń całkowitej zawartości pierwiastków metody spektroskopowe.

Z kolei metoda elektroforezy kapilarnej jest mało skuteczna w przypadku rozdziału cząsteczek leków psychotropowych czy antybiotyków o podobnych masach. Zastosowanie techniki łączonej CE-MS wymaga często stosowania różnych rodzajów interfejsów, np. połączenia z płynem osłonowym lub bez płynu osłonowego. Wadą połączenia z płynem osłonowym, który wyrównuje nierówności przepływu i wspomaga jonizację, jest konieczność rozcieńczania rozdzielanych substancji, co niekorzystnie wpływa na czułość detekcji. Połączenie bez płynu osłonowego, by przeciwdziałać zaburzeniom przepływu osmotycznego, wymaga zastosowania modyfikacji wewnętrznej powierzchni kapilary, co jest problematyczne i ogranicza wykorzystanie tej metody w badaniach leków.

Nowoczesne techniki pomiarowe dostarczają w krótkim czasie dużej ilości danych, których analiza możliwa jest dzięki zastosowaniu chemometrii. Chemometria wykorzystuje metody matematyczne, głównie dziedziny i działy oparte na rachunku prawdopodobieństwa, statystyce matematycznej, teorii informacji, teorii planowania doświadczeń i optymalizacji. Metody chemometryczne są często stosowane w analizie wieloczynnikowej, kalibracji, walidacji, badaniu efektów interferencyjnych czy identyfikowaniu połączeń chemicznych; stosuje się je w analizie farmaceutycznej w ocenie jakości substancji leczniczych i postaci farmaceutycznych [11-15].

Prowadzone przeze mnie badania dotyczące procesów kompleksowania inkluzyjnego pochodnych dibenzoazepiny, triazolopirydyny, fenyloetyloaminy, piperazyny, tienylopropanaminy i fluorochinolonu przy użyciu cyklodekstryn realizowałam metodami spektroskopowymi FT-IR,

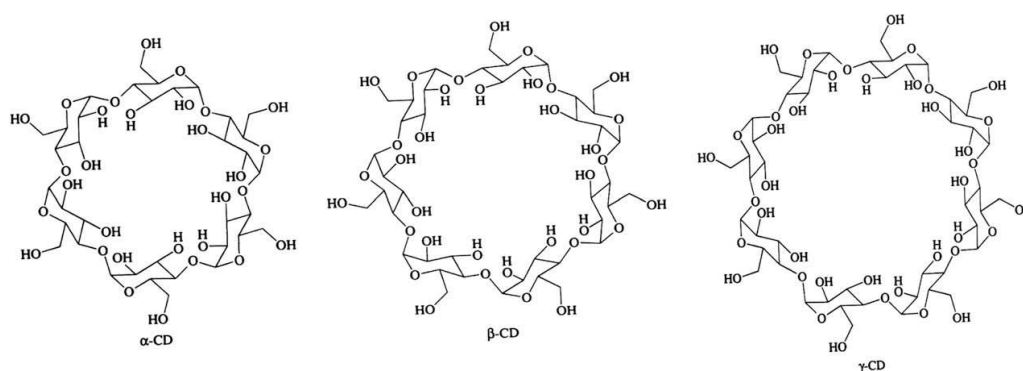
NMR, UV/VIS i fluorymetrycznymi. Spektroskopia FT-IR, jednowymiarowa 1D i dwuwymiarowa 2D NMR oraz UV/VIS, zastosowane w moich badaniach to techniki pomiarowe, które współcześnie przeszły ogromną ewolucję wraz z rozwojem technologii w zakresie nowych materiałów i technik obróbki danych. Metody te charakteryzują się dużą uniwersalnością, czułością i wysoką precyzją; są stosowane w analizie ilościowej i w badaniach podstawowych. Metody spektroskopowe z powodzeniem można stosować do identyfikacji substancji i badań strukturalnych. Do zalet tych metod należy dostępność i stosunkowo niski koszt analizy w stosunku do innych technik instrumentalnych. Wprowadzenie spektrometrów wyposażonych w mikroprocesory umożliwiające szybką matematyczną obróbkę widm spowodowało olbrzymi rozwój tych metod.

Dzięki zastosowaniu komputerów w procedurach spektroskopowych uzyskuje się lepszą zdolność rozdzielczą i precyzję, co wpływa na zwiększenie pewności pomiarów analitycznych. Dokładność, precyzję i selektywność zwiększa zastosowanie lepszych funkcji analitycznych oraz poprawek uwzględniających wpływ czynników zakłócających. Sprzężenie spektrometrów z komputerem przynosi wiele korzyści, takich jak rejestrację dużej liczby danych pomiarowych, rejestrację wielkości szybko zmieniających się, sterowanie pracą przyrządu prowadzące do zautomatyzowania pomiaru, programowe wygładzanie i filtrowanie sygnału poprawiające czułości oznaczeń, przetwarzania sygnału analogowego w cyfrowy, diagnostyki przyrządu, w tym sprawdzania prawidłowości działania podzespołów, korekcji parametrów pomiarowych, obliczania i wyświetlania wyników, porównywania wyników z danymi odniesienia przechowywanymi w pamięci, magazynowania danych. Metody spektroskopowe są szczególnie łatwe do automatyzacji w zakresie obróbki wyników i przeprowadzania operacji analitycznych.

Ze względu na moje dotychczasowe zainteresowania teoretyczne i praktyczne różnymi metodami stosowanymi w badaniach leków psychotropowych i antybiotyków z zastosowaniem cyklodekstryn podjęłam studia przeglądowe na temat najnowszych trendów w tej dziedzinie. W wyniku tych studiów powstała praca przeglądowa „*The role of assay methods in characterizing the quality of bulk pharmaceuticals*” [A4] prezentująca najnowsze osiągnięcia zastosowania metod spektroskopowych, chromatograficznych i mikroskopii elektronowej w badaniach leków. W analizie kompleksów cyklodekstryn z substancjami aktywnymi leków przeciwdepresyjnych i przeciwpsychotycznych oraz antybiotyków fluorochinolowych ważną techniką badawczą jest NMR, FT-IR i mikroskopia elektronowa. W oparciu o analizę danych tych metod można potwierdzić tworzenie się kompleksów inkluzyjnych oraz określić ich strukturę, sposób orientacji molekuly „gościa” we wnętrzu cyklodekstryny- molekuly „gospodarza”.

ZASTOSOWANIE CYKLODEKSTRYN DO ZMIANY WŁAŚCIWOŚCI I TRWAŁOŚCI SUBSTANCJI CZYNNYCH

Budowa cyklodekstryn (CD), ich właściwości fizykochemiczne i biologiczne przyczyniły się do szerokiego wykorzystania tych związków w badaniach leków. Cyklodekstryny to naturalne cykliczne oligosacharydy zbudowane z cząsteczek α -D-glukopiranozy połączonych wiązaniem α -1,4-glikozydowym, otrzymywane w wyniku enzymatycznej degradacji skrobi [16]. Związki te, których cząsteczki zbudowane są z sześciu, siedmiu i ośmiu reszt α -D-glukopiranozy nazywane są odpowiednio α -CD, β -CD i γ -CD [17-19]. Strukturę cyklodekstryn przedstawia rysunek poniżej

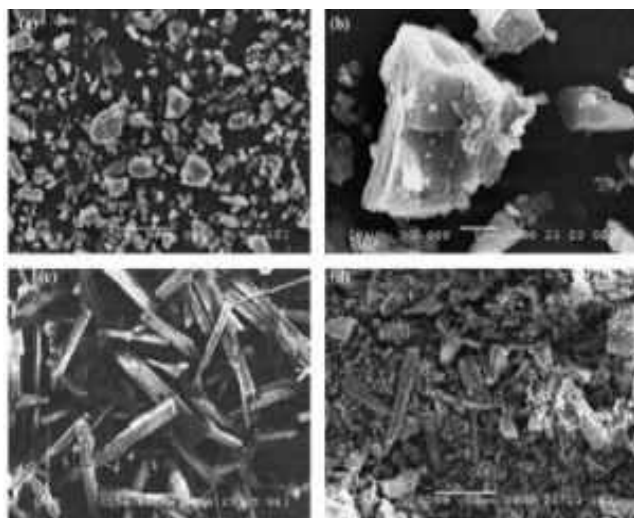


Budowa cząsteczki cyklodekstryny przypomina torus, którego część wewnętrzna wykazuje charakter hydrofobowy, natomiast zewnętrzna hydrofilowy [20,21].

Kompleksy inkluzyjne

Charakter hydrofobowo/hydrofilowy cząsteczek cyklodekstryn nadaje im zdolności do rozpoznawania molekularnego w wyniku tworzenia kompleksów typu „gospodarz-gość” z całym szeregiem reagentów. W kompleksach tych cząsteczka „gościa” umieszczona zostaje we wnęce cząsteczki „gospodarza”-cyklodekstryny [18]. Tworzenie się kompleksów inkluzyjnych zależy od różnych czynników, przede wszystkim ładunku i natury liganda oraz charakteru wzajemnych niekowalencyjnych oddziaływań substrat-ligand [22]. Tylko cząsteczka „gościa” posiadająca odpowiedni kształt i wielkość może ulec inkluzji we wnęce cyklodekstryny. Ze zjawiskiem częściowej inkluzji mamy do czynienia, gdy cząsteczka „gościa” nie może w całości wniknąć do wnętrza „gospodarza”. Wówczas we wnęce cyklodekstryny mogą znajdować się grupy hydrofobowe cząsteczki, a hydrofilowe pozostają na zewnątrz i mogą łączyć się z cząsteczkami rozpuszczalnika oraz hydrofilowymi grupami cyklodekstryny [21,23].

Struktura cyklodekstryn, ich właściwości fizykochemiczne i biologiczne są bardzo użyteczne w wielu dziedzinach ludzkiego życia. Związki te są szeroko wykorzystywane w medycynie, farmacji, chemii, rolnictwie, itp. Badanie mechanizmu inkluzji różnych cząsteczek odgrywa istotną rolę w chemii supramolekularnej [A3]. Przy użyciu współczesnych technik mikroskopowych, m. in. skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) możliwe jest badanie morfologii i struktury kompleksów inkluzyjnych cyklodekstryn otrzymywanych w fazie stałej. Przykładowe zdjęcia SEM β -cyklodekstryny (β -CD) i jej kompleksów z L-tyrozyną przedstawiono na rysunku poniżej



Zdjęcie skaningowej mikroskopii elektronowej: (a) β -CD x 500, (b) β -CD x 3000, (c) L-tyrozyna (TYR), (d) kompleks TYR- β -CD [A3]

5 D. CEL, ZAKRES BADAŃ I OMÓWIENIE NAJWAŻNIEJSZYCH WYNIKÓW

Cyklodekstryny i ich pochodne mogą być wykorzystane w produkowaniu nanocząstek i nanokapsuł stosowanych przede wszystkim jako nośniki leków, genów, przeciwciał, fotouczulaczy w terapii ukierunkowanej oraz jako cząstki o właściwościach przeciwbakteryjnych czy przeciwwirusowych. W związku z interesującymi perspektywami zastosowań terapeutycznych tych struktur wymagana jest analiza ich wpływu na związki biologicznie aktywne leków i ocenę ich toksyczności.

Głównym moim celem naukowym była synteza i badanie kompleksów inkluzyjnych cyklodekstryn i ich pochodnych z substancjami biologicznie aktywnymi wybranych leków jako układów stabilizujących. Badane były leki przeciwdepresyjne i neuroleptyki nowej generacji oraz antybiotyki fluorochinolowe, w postaci kompleksów z cyklodekstrynami. Związki czynne tych leków są wrażliwe na działanie różnych czynników utleniających, hydrolizujących, polimeryzujących niekorzystnie wpływających na właściwości fizykochemiczne substancji

aktywnych oraz działanie terapeutyczne. Przeprowadzone przeze mnie badania umożliwiają głębsze poznanie mechanizmów oddziaływań inkluzyjnych związków aktywnych wybranych leków z cyklodekstrynami oraz ich wpływu na właściwości fizykochemiczne i funkcjonalne badanych substancji leczniczych.

Postępujący rozwój przemysłu farmaceutycznego, pojawienie się nowych substancji leczniczych i nowych form leków psychotropowych oraz antybiotyków powoduje konieczność opracowania nowszych, ujednoliconych wymagań dotyczących jakości produktu końcowego. Podstawą oceny jakości leku są normy obejmujące odpowiednie wymagania i metody badawcze [1,3,4]. Problemy, z którymi stykamy się podczas analizy substancji leczniczych uzmysławiają, że można je rozwiązać dzięki zastosowaniu cyklodekstryn, których obecność wpływa na zmianę właściwości i trwałość substancji czynnych leków.

Obecnie dąży się do syntezy leków psychotropowych oraz antybiotyków fluorochinolowych, które obok skutecznego działania terapeutycznego wywoływałyby znikomy wpływ uboczny. Wśród tych leków dostępnych na rynku farmaceutycznym, jedynie część z nich odgrywa istotne znaczenie w terapii chorób, inne pełnią rolę uzupełniającą [24-30].

W swoich publikacjach [A1,A2,A5-A9] przedstawiłam badania substancji leczniczych z grupy pochodnych dibenzoazepiny (PD) - kломipraminy, trazodonu - z grupy triazolopirydyny (TRP), bupropionu - z grupy fenyloetyloaminy (PEA), zyprazydonu - z grupy piperazyny (PIP), duloksetyny - z grupy tienylopropanaminy (TPA) i ofloksacyny z grupy fluorochinolonu (FCH) z β - i γ -cyklodekstrynami. W związku z realizacją wyznaczonego celu przeprowadziłam badania dotyczące:

- otrzymania kompleksów inkluzyjnych cyklodekstryna - związek biologicznie aktywny i zbadania ich właściwości fizykochemicznych,
- zbadania struktury supramolekularnej tych kompleksów, sposobu orientacji molekuly „gościa” we wnętrzu cyklodekstryny- molekuly „gospodarza”,
- określenia mechanizmu kompleksowania inkluzyjnego wybranych pochodnych dibenzoazepiny, triazolopirydyny, fenyloetyloaminy, piperazyny, tienylopropanaminy i fluorochinolonu z β -, γ - cyklodekstrynami i ich hydroksypropylo-pochodnymi,
- zastosowania otrzymanych kompleksów inkluzyjnych do opracowania spektroskopowych i fluorymetrycznych metod oznaczania wybranych związków aktywnych na poziomie $\mu\text{g/ml}$ i ng/ml w próbce.

Przedmiotem badań były grupy związków różniących się budową, umożliwiło to dyskusję wpływu poszczególnych grup funkcyjnych na właściwości fizykochemiczne i trwałość ich kompleksów z cyklodekstrynami.

Badania prowadziłam metodami spektroskopowymi NMR, FT-IR, UV/VIS i fluorymetrycznymi. Wśród technik spektroskopowych badania kompleksów inkluzyjnych cyklodekstryn z molekułami „gościa” na uwagę zasługuje magnetyczny rezonans jądrowy ze względu na swoje zalety. Technika MNR została wykorzystana przeze mnie do badania kompleksów inkluzyjnych wybranych leków psychotropowych i antybiotyków fluorochinolowych z cyklodekstrynami. NMR jest bardzo wartościową i dogodną techniką badania oddziaływań pomiędzy molekułami cyklodekstryn i molekułami „gościa”. Żadna inna technika spektroskopowa nie dostarcza tylu informacji na temat badanego układu supramolekularnego. Widma NMR pozwalają określić strukturę kompleksu inkluzyjnego oraz dostarczają specyficznej informacji na temat orientacji i usytuowania geometrycznego molekuly „gościa” we wnętrzu cyklodekstryny. Podczas, gdy inne techniki spektroskopowe, m.in. UV/VIS czy fluorymetryczne mogą jedynie w sposób pośredni informować o tworzeniu się i strukturze kompleksów inkluzyjnych. Przy użyciu badań NMR bardzo szybko uzyskujemy informacje o inkluzji molekuly „gościa” do wnętrza CD w oparciu o zmianę wartości przesunięć chemicznych (ppm) atomów ^1H i atomów ^{13}C . Otrzymane wyniki dostarczają informacji na temat tworzenia się kompleksu, jego stechiometrii, trwałości i geometrii. Dzięki technice ^1H i ^{13}C NMR uzyskuje się dane o częściowej lub całkowitej inkluzji molekuly „gościa” do wnętrza cyklodekstryny. Badania 2D NMR dostarczają szczegółowej informacji o oddziaływaniu „gość-gospodarz”, dynamice molekuly „gościa” we wnętrzu cyklodekstryny. Technika NMR z uwagi na swoje zalety na tle innych technik instrumentalnych rokuje wzrost popularności w laboratoriach kontroli jakości leków.

Zastosowanie cyklodekstryn w farmacji i medycynie

Realizacja prezentowanych przeze mnie badań przedstawionych w publikacjach naukowych [A1-A9] wypływa z zapotrzebowania wykazywanego przez rynek na nowe innowacyjne leki i ich preparaty z wykorzystaniem cyklodekstryn. Dzięki wykorzystaniu kompleksów inkluzyjnych cyklodekstryn z substancjami czynnymi leków przeciwdepresyjnych i przeciwpsychotycznych oraz antybiotyków fluorochinolowych zapewnione zostaną dla pacjentów właściwości dotychczas niedostępne. W branży farmaceutycznej istnieje duże zapotrzebowanie na nowe, innowacyjne leki posiadające mało skutków ubocznych, wpisujące się w nurt terapii celowanej. Jest to duża szansa dla tych badań, szczególnie w kontekście trendów rozwoju całej branży. Czynnikiem sprzyjającym rozwojowi rynku farmaceutycznego jest starzenie się społeczeństwa polskiego oraz eksport na inne rynki. Do roku 2020 w Polsce przybędzie osób powyżej 60 roku życia. Ponadto władze naciskają na niższe koszty opieki zdrowotnej poprzez

zmniejszenie cen leków. Z kolei organy regulacyjne są bardziej wymagające pod względem skuteczności, jakości i bezpieczeństwa leków, które w połączeniu z postępowaniem doprowadziły do wzrostu kosztów badań w przemyśle farmaceutycznym. Aby stać się konkurencyjnym podmiotem w tym sektorze, firmy farmaceutyczne muszą doskonalić się w strategii przewidywania i identyfikowania kluczowych wydarzeń w rozwoju tej dziedziny. Muszą być również zdecydowane na odkrywanie innowacyjnych rozwiązań i stosować najnowsze technologie.

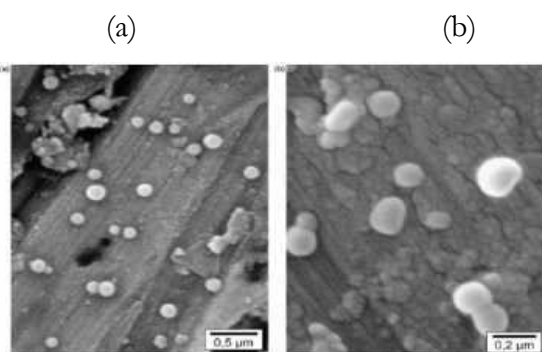
Obecnie kompleksy inkluzyjne cyklodekstryn z substancjami zarejestrowanymi jako leki są bardzo intensywnie badane. Substancje aktywne inkludowane we wnęce cyklodekstryny wykazują inne właściwości fizykochemiczne niż wolne cząsteczki. Podawanie pacjentom leku w postaci kompleksu z cyklodekstryną ma korzystny wpływ na metabolizm danej substancji w organizmie. Korzyści wynikające z zastosowania leków w postaci kompleksów z cyklodekstrynami to przede wszystkim podwyższenie bioaktywności, redukcja efektów niepożądanych i zwiększanie stabilności. Cyklodekstryny niwelują również niekorzystny smak i zapach podawanych leków. Ponadto farmaceutyki, w których wykorzystuje się kompleksy z cyklodekstrynami są mniej narażone na wilgoć, co istotne jest przede wszystkim przy wysoce higroskopijnych substancjach czynnych. Związki te są ochraniające tym samym przed czynnikami utleniającymi, powodującymi ich polimeryzację czy hydrolizę. Niektóre, trudno rozpuszczalne w wodzie substancje czynne stają się rozpuszczalne po podaniu w kompleksie z cyklodekstryną. Ponadto po podaniu doustnym, w krótszym czasie osiągane jest większe stężenie leku we krwi w porównaniu z lekiem podawanym bez cyklodekstryny. Farmaceutyki są więc skuteczniejsze.

Przedstawione w moich publikacjach [A1-A3,A5-A9] badania wypływają z zapotrzebowania rynku na nowe farmaceutyki w leczeniu różnych zaburzeń psychicznych, przede wszystkim depresji i schizofrenii oraz różnych infekcji. Ocenia się, że w populacji osób dorosłych rozpowszechnienie depresji na świecie stanowi 12% i wykazuje tendencję zwyżkową. Dużą grupę zaburzeń psychicznych stanowią psychozy, w tym schizofrenia w ok. 1% populacji ludzkiej oraz zaburzenia nerwicowe z występowaniem lęku i często bezsennością. Badane antybiotyki fluorochinolowe [A9] to ważna pod względem terapeutycznym grupa leków. Każdy organizm żywy, w tym człowiek narażony jest na działanie patogenów drobnoustrojowych. Antybiotyki fluorochinolowe umożliwiają leczenie ciężkich infekcji oraz zakażeń opornych na inne antybiotyki i charakteryzują się małą toksycznością. Biodostępność leków psychotropowych i antybiotyków fluorochinolowych ogranicza często ich mała rozpuszczalność w wodzie. Można to poprawić poprzez zastosowanie odpowiednio dobranych cyklodekstryn. Obecnie obserwuje się wzrost zapotrzebowania na leki psychotropowe i antybiotyki fluorochinolowe trwalsze

chemicznie i o skuteczniejszym działaniu terapeutycznym. Nauki medyczne i chemiczne, wobec powyższego nastawione są na poszukiwanie nowych, skuteczniejszych leków, które mogłyby przynieść ulgę pacjentom.

Cyklodekstryny w biomedycynie wykorzystywane są również w produkowaniu hydrożeli stosowanych jako skuteczny i bezpieczny system podawania leków [31-33]. Przykładowo hydrożele zawierające hydroksypropylo- β -cyklodekstrynę (HP- β -CD) wykazują zdolność do związania i kontrolowanego uwalniania diklofenaku, estradiolu i sertaconazolu [33]. Wysoka rozpuszczalność γ -cyklodekstryny umożliwia przygotowanie hydrożeli zawierających jej znaczne ilości, co w konsekwencji prowadzi do poprawy zdolności kompleksowania lipofilowych cząsteczek leków.

Struktury supramolekularne bazujące na cyklodekstrynach i polimerach wpływają na postęp w badaniach materiałów do projektowania leków i genów. Nowe koncepcje systemów nośnych oparte na modyfikowanych cyklodekstrynach są wykorzystywane w preparowaniu nanocząstek i nanokapsuł stosowanych jako nośniki leków w potencjalnej chemioterapii [34]. Zdjęcia SEM modyfikowanych cyklodekstryn wykorzystywanych w produkowaniu nanosfer przedstawia rysunek poniżej



Zdjęcie SEM amfofilnych β -cyklodekstryn: (a) nanosfery typu β -CD21C6, (b) nanosfery typu β -CD14C6 [A3]

Kompleksy cyklodekstryn z substancjami aktywnymi wybranych leków

Leki przeciwdepresyjne i przeciwpsychotyczne oraz antybiotyki fluorochinolowe oprócz ich skutecznego działania terapeutycznego charakteryzuje występowanie wielu efektów ubocznych. W celu uniknięcia niepożądanych skutków można by stosować podawanie substancji aktywnej w formie kompleksów inkluzyjnych z cyklodekstrynami.

Związanie cząsteczki leku przeciwdepresyjnego, przeciwpsychotycznego lub antybiotyku fluorochinolowego w kompleks z cyklodekstryną i jego kontrolowane uwalnianie do organizmu niesie za sobą różne korzyści, przede wszystkim:

- niepożądane skutki uboczne zostają ograniczone, bowiem ilość leku rzeczywiście wolna i dostępna w medium może być niższa od stosowanej dawki,
- czas działania leku może zostać przedłużony, jest to istotne, ponieważ charakteryzuje je szybki początek działania, a następnie krótki okres półtrwania,
- w konsekwencji liczba dawek i częstotliwość podania leku może zostać zmniejszona, co może wpłynąć na ilość i intensywność efektów niepożądanych [35].

W przemyśle farmaceutycznym optymalizacja właściwości terapeutycznych leku jest ważnym celem. Przykładowo paroksetyna stosowana w przemyśle farmaceutycznym w krystalicznej postaci chlorowodoru jest słabo rozpuszczalna w wodzie. Ogranicza to możliwości przygotowania płynnych postaci farmaceutycznych o określonym stężeniu składnika aktywnego. Stałe formy farmaceutyczne tego leku wykazują ograniczoną biodostępność [36]. W celu zwiększenia rozpuszczalności chlorowodoru paroksetyny można stosować kompleksy z cyklodekstrynami lub ich pochodnymi.

W przypadku fluoksetyny (FLU), występującej jako „Prozac”, aby zmniejszyć niepożądane działania leku wykorzystuje się cyklodekstryny jako związki do ciągłego uwalniania substancji aktywnej [37]. Geczy [38] stwierdził, że spośród badanych cyklodekstryn (α -CD, β -CD, γ -CD, HP- β -CD, G2- β -CD) γ -CD może zostać wykorzystana jako środek kompleksujący zwiększający dostępność biologiczną FLU.

Cyklodekstryny zastosowano również do zwiększenia biodostępności oraz zmniejszenia działań niepożądanych antybiotyku kloksacyliny. Chao i wsp. [39] analizowali kompleksy inkluzyjne kloksacyliny z β -cyklodekstryną w celu wykorzystania tych badań do opracowania nowych postaci farmaceutycznych leku.

Badane przeze mnie substancje aktywne leków psychotropowych i antybiotyków fluorochinolowych to związki organiczne, które dzięki charakterystycznej strukturze wykazują szereg interesujących właściwości fizykochemicznych i analitycznych. Na podstawie przeprowadzonych badań wstępnych stwierdzono, że β - i γ -cyklodekstryny tworzą połączenia inkluzyjne z trazodonem (TRD), kломipraminą (CLOM), bupropionem (BUP), duloksetyną (DUL), zyprazydonem (ZIP) i ofloksacyną (OFL). Z przeglądu światowego piśmiennictwa naukowego wynikało, że układy te nie były wcześniej badane. Kompleksy pochodnych dibenzoazepiny, triazolopirydyny, fenyloetyloaminy, piperazyny, tienylopropanaminy i fluorochinolonu z cyklodekstrynami chronią również substancję aktywną przed potencjalnymi zanieczyszczeniami. Niewątpliwie może to wpływać na jakość substancji leczniczych, zwiększyć ich trwałość i stabilność oraz rozpuszczalność w roztworach wodnych, ułatwić wnikanie do płynów ustrojowych i tkanek pacjenta. Zbadano wpływ hydroksypropylo- β -cyklodekstryny na

rozpuszczalność substancji czynnej ofloksacyny [A9]. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że rozpuszczalność ofloksacyny po skompleksowaniu HP- β -CD wzrosła 3,7 razy w stosunku do samej OFL. Określono też trwałość badanych kompleksów duloksetyny, bupropionu, klomipraminy, ofloksacyny i trazodonu z odpowiednimi cyklodekstrynami w temperaturze 25°C [A1,A2,A5-A7,A9]. Przeprowadzono pomiary spektroskopowe lub spektrofluorymetryczne samych substancji aktywnych i ich kompleksów inkluzyjnych. W oparciu o uzyskane wyniki, stwierdzono, że analizowane kompleksy inkluzyjne DUL- β -CD, BUP-HP- β -CD, BUP-HP- γ -CD, CLOM- β -CD, CLOM-HP- β -CD, OFL-HP- β -CD, TRD-HP- β -CD są trwałe w czasie odpowiednio 5, 15, 15, 30, 30, 30 i 100 dni w temperaturze pokojowej, natomiast same substancje aktywne bez obecności cyklodekstryny jedynie kilka godzin [A1,A2,A5-A7,A9]. Spośród badanych kompleksów najtrwalszy okazał się TRD-HP- β -CD. Trwałość kompleksu TRD-HP- β -CD może zapobiegać konkurencyjnej reakcji kompleksowania leku i wymianie skompleksowanego przez cyklodekstrynę trazodonu na inne molekuly znajdujące się w krwiobiegu. Wyniki przeprowadzonych badań opublikowano w pracy [A1].

β -, γ -cyklodekstryny i ich pochodne zastosowano do opracowania procedur, które mogą umożliwić szersze wykorzystanie tych metod do badania wybranych leków psychotropowych i antybiotyków fluorochinolowych w różnych próbkach farmaceutycznych i biologicznych. Opracowane przez mnie fluorymetryczne metody oznaczania leków psychotropowych z grupy pochodnych tienylopropanaminy i piperazyny charakteryzują się wyższą czułością, lepszą selektywnością, niższą granicą wykrywalności niż szereg innych metod literaturowych. Substancję aktywną duloksetynę można oznaczać opracowaną metodą fluorymetryczną z zastosowaniem β -cyklodekstryny w zakresie stężeń odpowiednio 18,4 ng/ml-3,5 μ g/ml. Zyprazydon z grupy pochodnych piperazyny, stosowany jako nowej generacji atypowy lek przeciwpsychotyczny jest słabo rozpuszczalny w wodzie, co ogranicza jego biodostępność, zastosowanie i oznaczanie. Wykorzystanie β -cyklodekstryny do kompleksowania zyprazydonu wpływa na wzrost jego rozpuszczalności i możliwości oznaczania opracowaną metodą fluorymetryczną w zakresie stężeń 0,5 ng/ml-100 ng/ml. Wyniki dotyczące kompleksowania duloksetyny i zyprazydonu β -CD opublikowano w pracach [A6, A8]. Fakt tworzenia kompleksów inkluzyjnych między badanymi substancjami leczniczymi a cyklodekstrynami, charakteryzujących się zwiększoną rozpuszczalnością w wodzie substancji leczniczej, może być wykorzystany przez przemysł farmaceutyczny do opracowania technologii nowych i łatwych do podania pacjentom form leku badanych substancji leczniczych.

Tematyka przedłożonych publikacji naukowych [A1-A9] wpisuje się w aktualny nurt badań prowadzonych nad jakością substancji leczniczych związanych z zapewnieniem bezpiecznej, efektywnej i skutecznej terapii lekiem psychotropowym i antybiotykiem fluorochinolowym.

Badanie nowych kompleksów inkluzyjnych substancji leczniczych środków psychotropowych i antybiotyków fluorochinolowych z cyklodekstrynami

Na rynku obecnie są dostępne różne produkty farmaceutyczne z wykorzystaniem cyklodekstryn [A3,40-43]. Niestety w przypadku leków psychotropowych i antybiotyków fluorochinolowych niewiele jest preparatów z dodatkiem tych substancji. Wyzwaniem dla przemysłu farmaceutycznego może być produkcja nowych preparatów handlowych tych środków z zastosowaniem cyklodekstryn. Preparaty te są nowocześniejsze jeśli chodzi o postać farmaceutyczną, zapewnienie korzystniejszego działania terapeutycznego oraz bezpieczeństwa ich stosowania [A3,40].

Obecnie aktywnie uczestniczę w pracach nad badaniami połączeń inkluzyjnych cyklodekstryn i substancji leczniczych leków psychotropowych, przede wszystkim przeciwdepresyjnych i przeciwpsychotycznych oraz antybiotyków fluorochinolowych z możliwością ich wprowadzenia do praktyki farmaceutycznej. Szczegółowe wyniki badań dotyczące kompleksów inkluzyjnych leków przeciwdepresyjnych - klomipraminy, trazodonu, bupropionu, duloksetyny, leku przeciwpsychotycznego - zyprazydonu oraz antybiotyku ofloksacyny z wykorzystaniem β -cyklodekstryny (β -CD), hydroksypropylo- β -cyklodekstryny (HP- β -CD) i hydroksypropylo- γ -cyklodekstryny (HP- γ -CD) opublikowane zostały w czasopismach o zasięgu międzynarodowym - *Carbohydrate Polymers*, *Analytical Letters*, *Journal of Molecular Liquids*, *Indian Journal of Chemistry*, *Journal of Molecular Structure*, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* [A1,A2,A5-A9].

Należy podkreślić, iż przeprowadzenie kompleksowej charakterystyki badanych połączeń inkluzyjnych jest niezbędne w związku z potrzebą uzyskania pełnego obrazu inkluzji substancji aktywnej leku do wnęki cyklodekstryny, by określić jej przydatność w projektowaniu preparatów farmaceutycznych nowej generacji bezpiecznych dla pacjentów. Badania te wykonałam dzięki zastosowaniu metod spektroskopowych NMR, FT-IR, UV/VIS i fluorymetrycznych.

Kontynuując badania nad możliwością wykorzystania kompleksów inkluzyjnych w analizie jakości leków psychotropowych i antybiotyków, otrzymano połączenia klomipraminy z β -CD i HP- β -CD, trazodonu z HP- β -CD, bupropionu z HP- β -CD i HP- γ -CD, duloksetyny z β -CD, zyprazydonu z β -CD oraz ofloksacyny z HP- β -CD. Badania procesu kompleksowania

inkluzyjnego kломipraminy, trazodonu, bupropionu i ofloksacyny z β -cyklodekstryną, hydroksypropylo- β -cyklodekstryną i hydroksypropylo- γ -cyklodekstryną w fazie ciekłej prowadzono metodami spektroskopowymi. Kompleksowanie inkluzyjne duloksetyny i zyprazydonu β -cyklodekstryną w fazie ciekłej analizowano metodami fluorymetrycznymi. Istotnym elementem prowadzonych badań było ustalenie optymalnych warunków otrzymywania wszystkich analizowanych kompleksów. W tym celu zbadano wpływ pH, stężenie i rodzaj dodanego buforu. Cyklodekstryny są nietrwale przy bardzo niskich wartościach pH. Dlatego też unikano stosowania roztworów mocnych kwasów w badanych układach. Tworzenie się kompleksów inkluzyjnych kломipraminy z β -CD i HP- β -CD, trazodonu z HP- β -CD oraz bupropionu z HP- β -CD i HP- γ -CD zbadano w roztworach o zmiennym pH w zakresie 1-8, zaś tworzenie się kompleksu ofloksacyny z HP- β -CD - w zakresie pH 2-9. Maksymalną absorbancję dla kompleksów CLOM- β -CD, CLOM-HP- β -CD, TRD-HP- β -CD, BUP-HP- β -CD i BUP-HP- γ -CD zaobserwowano przy pH wynoszącym 5, zaś dla kompleksu OFL-HP- β -CD przy pH równym 4. Tworzenie się kompleksów duloksetyny i zyprazydonu z β -CD analizowano w zakresie pH odpowiednio 2-10 i 4-8. Maksimum fluorescencji dla kompleksów DUL- β -CD i ZIP- β -CD zarejestrowano odpowiednio przy pH równym 6,4 oraz w zakresie 5-7.

Analizowano również wpływ różnych buforów - Tris-HCl, H_3BO_3 -KCl-NaOH, Brittona-Robinsona, KH_2PO_4 -NaOH na warunki reakcji kompleksowania inkluzyjnego w badanych układach. Optymalne wyniki kompleksowania uzyskano stosując bufor Brittona-Robinsona.

Uzyskane wyniki z przeprowadzonych badań dowodzą, że tworzenie się kompleksów inkluzyjnych TRD-HP- β -CD, CLOM- β -CD i CLOM-HP- β -CD, BUP-HP- β -CD i BUP-HP- γ -CD, DUL- β -CD, ZIP- β -CD oraz OFL-HP- β -CD zależy również od stężenia cyklodekstryn. Analizowano wpływ stężenia β -CD, HP- β -CD, γ -CD i HP- γ -CD w badanych układach. Optymalne stężenie cyklodekstryn dobierano wykorzystując maksymalną absorbancję lub fluorescencję podczas tworzenia się kompleksów. Wyniki opublikowano w pracach [A1,A2,A5-A9].

Ważnym etapem badań było określenie stałych kompleksowania charakteryzujących dane układy. Stałe te wyznaczono stosując metodę Benesi-Hildebrand. Wartości tych stałych dla układów TRD-HP- β -CD, CLOM- β -CD, CLOM-HP- β -CD, BUP-HP- β -CD, BUP-HP- γ -CD, DUL- β -CD, ZIP- β -CD i OFL-HP- β -CD wynoszą odpowiednio $9,63 \times 10^3$, $9,42 \times 10^3$, $9,58 \times 10^3$, $4,30 \times 10^3$, $3,50 \times 10^3$, $5,83 \times 10^3$, $1,49 \times 10^3$ i $1,30 \times 10^3$ l/mol. Otrzymano kompleksy o różnych wartościach stałych kompleksowania. Kompleksy inkluzyjne ZIP- β -CD i OFL-HP- β -CD charakteryzują się niezbyt wysokimi wartościami stałych kompleksowania, jednak w przypadku potencjalnych leków jest to korzystne, gdyż mogą stosunkowo łatwo być uwalniane w

organizmie pacjenta. Ponadto wykazano, że stała trwałości kompleksu, jaki tworzy bupropion z hydroksypropylo- β -cyklodekstryną [A5] może być z powodzeniem zmieniana poprzez użycie innej pochodnej cyklodekstryny - hydroksypropylo- γ -cyklodekstryny [A7]. Kontrola stałej trwałości kompleksu jest szczególnie istotna w przypadku nośników leków i pozwala na dobranie optymalnej pochodnej cyklodekstryny do warunków podawania leku. Pozwala również na planowanie ilości uwalnianego leku oraz czasu jego uwalniania. Wyznaczanie poszczególnych stałych kompleksowania charakteryzujących badane układy przedstawiono w publikacjach [A1,A2, A5-A9].

Przy określaniu stechiometrii analizowanych kompleksów, wyznaczono stosunek molowy reagentów metodą zmian ciągłych Joba oraz potwierdzono metodą Scatchard i Benesi-Hildebrand. W oparciu o uzyskane dane stwierdzono, że stosunek molowy TRD:HP- β -CD, CLOM: β -CD i CLOM:HP- β -CD, BUP:HP- β -CD i BUP:HP- γ -CD, DUL: β -CD, ZIP: β -CD oraz OFL:HP- β -CD w analizowanych kompleksach wynosi 1:1.

Istotnym celem badań było przeprowadzenie charakterystyki supramolekularnej struktury analizowanych kompleksów z zastosowaniem różnych metod spektroskopowych – FT-IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, 2DNMR. W procesach inkluzji molekularnej czynniki strukturalne odgrywają istotną rolę, bowiem większość badanych procesów musi być oparta o dogłębną znajomość struktury składników i tworzonych kompleksów. Wykonano widma absorpcyjne UV/VIS, widma w podczerwieni FT-IR, magnetycznego rezonansu jądrowego NMR oraz widma fluorescencyjne, które potwierdziły tworzenie się połączeń inkluzyjnych. Widma absorpcyjne UV/VIS wykonano dla CLOM, TRD, BUP, DUL oraz kompleksów CLOM- β -CD, CLOM-HP- β -CD, TRD-HP- β -CD, BUP-HP- β -CD i BUP-HP- γ -CD, DUL- β -CD i OFL-HP- β -CD w zakresie spektralnym 200-400 nm. W rejestrowanym zakresie spektralnym absorbancja β -CD, HP- β -CD, HP- γ -CD wynosi zero. Absorbancja kompleksów inkluzyjnych CLOM- β -CD, CLOM-HP- β -CD, TRD-HP- β -CD, BUP-HP- β -CD i BUP-HP- γ -CD, DUL- β -CD oraz OFL-HP- β -CD jest wyższa niż absorbancja samej substancji aktywnej nie związanej z cyklodekstryną w kompleks. Długości fali, przy których obserwuje się maksimum absorpcji dla badanych kompleksów i samej substancji aktywnej są najczęściej takie same lub nieznacznie się różnią (~5 nm).

W przypadku badania DUL, ZIP i ich kompleksów z β -CD zastosowano bardziej czułą metodę fluorymetryczną. Zastosowanie spektroskopii UV/VIS w badaniach kompleksów DUL- β -CD i ZIP- β -CD nie dostarczyło odpowiednich wyników potwierdzających ich tworzenie. Widma fluorescencyjne DUL, ZIP, β -CD i kompleksów DUL- β -CD, ZIP- β -CD wykonano w zakresie 300-500 nm. W oparciu o uzyskane wyniki stwierdzono, że natężenie fluorescencji

kompleksów inkluzyjnych DUL- β -CD, ZIP- β -CD w stosunku do samej substancji aktywnej DUL czy ZIP znacząco wzrasta. Położenie maksimum emisji dla kompleksu inkluzyjnego i samej substancji aktywnej jest takie samo lub nieznacznie się różni (~ 5 nm).

Otrzymane dane fluorescencyjne i UV/VIS przedstawione w publikacjach [A1,A2,A5-A9] potwierdziły tworzenie się kompleksów inkluzyjnych CLOM- β -CD, CLOM-HP- β -CD, TRD-HP- β -CD, BUP-HP- β -CD, BUP-HP- γ -CD, DUL- β -CD, ZIP- β -CD i OFL-HP- β -CD.

W celu uzyskania bardziej szczegółowych informacji dotyczących struktury analizowanych kompleksów TRD-HP- β -CD, BUP-HP- β -CD, BUP-HP- γ -CD i OFL-HP- β -CD oraz mechanizmu tworzenia się tych połączeń zastosowano metodę spektroskopową w podczerwieni FT-IR. Badania spektroskopowe FT-IR zostały przeprowadzone w zakresie spektralnym $4000-400$ cm^{-1} . Pastyłki wszystkich analizowanych substancji sporządzono z czystym spektralnie KBr. Wykonano i zinterpretowano widma FT-IR hydroksypropylo- β -cyklodekstryny, hydroksypropylo- γ -cyklodekstryny, substancji aktywnych trazodonu, bupropionu i ofloksacyny oraz ich połączeń z cyklodekstrynami. Widma tych związków są bogate w pasma, stąd dokładna ich analiza jest trudna.

W oparciu o analizę uzyskanych wyników stwierdzono, że w widmie FT-IR kompleksu inkluzyjnego BUP-HP- γ -CD pasmo drgań rozciągających C-Cl występujące w zakresie $1134-1080$ cm^{-1} w widmie BUP zanika. Ponadto pasmo drgań rozciągających grupy C=O obserwowane przy 1694 cm^{-1} , w widmie FT-IR kompleksu nie zanika. Na podstawie szczegółowej analizy widm FT-IR dotyczących BUP, HP- γ -CD i kompleksu BUP-HP- γ -CD przedstawionych w publikacji [A7] można było wnioskować, iż fragment molekuly BUP zawierający pierścień benzenowy z podstawnikiem -Cl wnika do wnęki HP- γ -CD.

Analiza danych spektroskopowych FT-IR dotycząca TRD, HP- β -CD i kompleksu TRD-HP- β -CD zebrana w publikacji [A1] dostarcza informacji, iż pasmo drgań rozciągających wiązania C-Cl występujące przy 1099 cm^{-1} w widmie TRD, w widmie kompleksu inkluzyjnego zanika. Ponadto w widmie FT-IR kompleksu TRD-HP- β -CD zachowane jest pasmo przy 1705 cm^{-1} odpowiadające drganiom rozciągającym grupy C=O. Pasma obserwowane przy 2464 cm^{-1} odpowiadające drganiom rozciągającym III rzędowej grupy aminowej =N- występuje zarówno w widmie FT-IR kompleksu TRD-HP- β -CD jak i samego TRD. Na podstawie uzyskanych szczegółowych danych FT-IR dotyczących TRD, HP- β -CD i kompleksu TRD-HP- β -CD przedstawionych w publikacji [A1] można sugerować, iż do wnęki cyklodekstryny inkluduje fragment molekuly TRD, pierścień benzenowy z podstawnikiem -Cl.

Z analizy widm spektroskopowych FT-IR dotyczących OFL, HP- β -CD i kompleksu OFL-HP- β -CD zawartych w publikacji [A9] można zaobserwować wzrost intensywności pasma

drzań rozciągających grupy C=O występującego przy 1716 cm⁻¹ w widmie kompleksu w stosunku do jego intensywności w widmie samej ofloksacyny. W widmie FT-IR ofloksacyny występują pasma charakterystyczne dla drzań grupy C=O, COOH, >N-CH₃, -CH₃, szkieletu aromatycznego. Drgania pochodzące od grup -CH₃ ofloksacyny występujące przy 1457 i 1408 cm⁻¹ są zachowane w widmie FT-IR kompleksu. Wskazuje to na fakt, iż grupy -CH₃ nie uczestniczą w tworzeniu kompleksu OFL-HP-β-CD. Ponadto pasma odpowiadające drzaniom -F, N-CH₃, C-O-O są zachowane w widmie FT-IR kompleksu. Zaobserwowano również niewielkie przesunięcia pasm drzań rozciągających grup -OH cyklodekstryny w stronę niższych liczb falowych – przesunięcie batochromowe. Świadczy to o słabym oddziaływaniu pomiędzy karbonylową grupą ofloksacyny a grupami -OH pochodzącymi od HP-β-CD. W oparciu o otrzymane szczegółowe wyniki badań spektroskopowych FT-IR dotyczące OFL, HP-β-CD i kompleksu OFL-HP-β-CD [A9] można wnioskować, iż do wnęki cyklodekstryny inkluduje fragment molekuly OFL zawierający pierścień aromatyczny z grupą C=O.

Przykładowe wartości liczb falowych pasm bupropionu, hydroksypropylo-γ-cyklodekstryny i kompleksu inkluzyjnego BUP-HP-γ-CD w widmach FT-IR przedstawiono w tabeli 1 i publikacji [A7].

Tabela 1. Wartości liczb falowych (cm⁻¹) pasm BUP, HP-γ-CD i kompleksu inkluzyjnego BUP-HP-γ-CD w widmach FT-IR

Pasma (cm ⁻¹)		
BUP	HP-γ-CD	kompleks inkluzyjny BUP-HP-γ-CD
3070: ν (C-H) z pierścienia aromatycznego	3403: ν (O-H)	3403: ν (O-H)
2980 to 2854: ν (C-H) od CH ₂	2928: ν (C-H)	2936: ν (C-H)
1694: ν (C=O)	1420: δ (C-H) od CH ₂	1694: ν (C=O)
1551:ν(C=C) z pierścienia aromatycznego	1375: δ (C-H) od CH ₂ ; δ O-H	1594: ν (C=C) z pierścienia aromatycznego
1457,1430,1405 i 1384: δ (C-H) od CH ₃	1334: δ (C-C-H), δ (C-O-H),δ (H-C-H)	1334: δ (C-C-H), δ (C-O-H),δ (H-C-H)
1134 i 1080: ν (C-Cl)	1154 i 1084: ν (C-O), ν (C-C), δ (C-O-C)	1156 i 1083: ν (C-O), ν (C-C), δ (C-O-C)
800,780,752, 739, 706 I 672: δ (C-H) z pierścienia aromatycznego	1031: δ (O-C-H),δ (C-C-H), δ (C-C-O)	1031: δ (O-C-H),δ (C-C-H), δ (C-C-O)
	943: drgania szkieletowe od wiązania α-1,4	943: drgania szkieletowe od wiązania α-1,4
	853: δ (C-C-H), ν (C-O), ν (C-C)	739: δ (C-H) z pierścienia aromatycznego

Symbolem „ν” oznaczono pasma drzań rozciągających, „δ”-pasma drzań deformacyjnych

Wyniki badań spektroskopowych FT-IR dotyczące kompleksów TRD-HP-β-CD, BUP-HP-β-CD, BUP-HP-γ-CD, OFL-HP-β-CD zestawiono w publikacjach [A1,A5,A7, A9].

W celu potwierdzenia charakteru inkluzyjnego badanych połączeń pochodnych dibenzoazepiny, triazolopirydyny i fenyloetyloaminy z β -cyklodekstryną, hydroksypropylo- β -cyklodekstryną i hydroksypropylo- γ -cyklodekstryną wykonano badania ^1H NMR i ^{13}C NMR [A1,A2,A5,A7]. Na podstawie wartości przesunięć chemicznych zidentyfikowano poszczególne sygnały badanych związków i kompleksów inkluzyjnych.

Przykładowe wartości przesunięć chemicznych sygnałów pochodzących od protonów i atomów węgla w widmach ^1H i ^{13}C NMR trazodonu i jego kompleksu inkluzyjnego TRD-HP- β -CD zebrano w tabeli 2 i publikacji [A1].

Tabela 2. Przesunięcia chemiczne (ppm) w widmach NMR trazodonu i jego kompleksu inkluzyjnego TRD-HP- β -CD.

Nr H/C	TRD		Kompleks inkluzyjny TRD-HP- β -CD (1:1)		$\Delta\delta$	
	^1H NMR	^{13}C CNMR	^1H NMR	^{13}C NMR	^1H NMR	^{13}C NMR
1	7,73	123,15	7,72	123,16	-0,01	0,01
2	6,72	112,53	6,67	112,51	-0,05	-0,02
3	7,30	132,26	7,26	132,24	-0,04	-0,02
4	7,16	114,19	7,13	114,20	-0,03	0,01
5	-	142,90	-	142,90	-	-
6	-	149,02	-	149,04	-	0,02
7	4,09	42,90	4,06	42,99	-0,03	-0,01
8	2,27	23,02	2,23	23,03	-0,04	-0,01
9	3,21	53,95	3,18	53,96	-0,03	0,01
10	3,37	51,46	3,36	51,49	-0,01	0,03
11	3,39	46,35	3,38	46,50	-0,01	0,15
12	-	150,24	-	150,50	-	0,26
13	6,98	116,79	6,94	116,83	-0,04	0,04
14	-	134,54	-	134,53	-	-0,01
15	6,91	121,37	6,88	121,26	-0,03	-0,11
16	7,22	130,68	7,20	130,69	-0,02	0,01
17	6,89	115,31	6,86	115,23	-0,03	-0,08

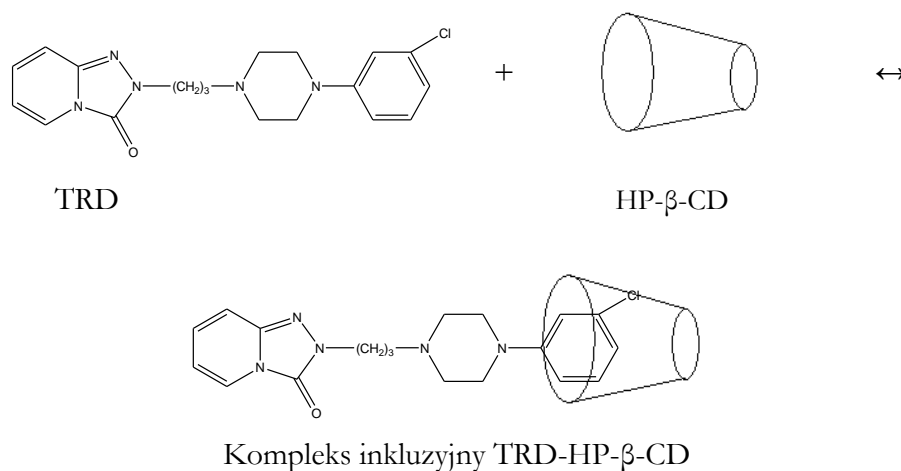
Z otrzymanych danych ^1H i ^{13}C NMR dotyczących TRD, HP- γ -CD i kompleksu TRD-HP- β -CD można wnioskować, dla których atomów wodoru i atomów węgla obserwuje się

największe przesunięcia chemiczne (ppm). W oparciu o zaobserwowane zmiany w wartościach przesunięć chemicznych można sugerować, że tworzy się kompleks inkluzyjny TRD-HP- β -CD [A1].

Szczegółowa analiza widm ^1H NMR i ^{13}C NMR dotycząca CLOM, TRD, BUP, β -CD, HP- β -CD, HP- γ -CD oraz kompleksów CLOM- β -CD, CLOM-HP- β -CD, TRD-HP- β -CD, BUP-HP- β -CD i BUP-HP- γ -CD potwierdza tworzenie się badanych kompleksów inkluzyjnych. Uzyskane wyniki umożliwiają głębszą analizę tworzących się połączeń inkluzyjnych [A1,A2,A5,A7].

W celu określenia sposobu inkluzji molekuly trazodonu, klomipraminy i bupropionu we wnęce cyklodekstryny zastosowano również technikę 2D NMR. Wyniki tych badań i ich analiza prezentowane są w moich publikacjach [A1, A2, A5].

W oparciu o kompleksowe wyniki badań spektroskopowych magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H , ^{13}C NMR i 2D NMR (COSY, HSQC, ROESY) oraz w podczerwieni FT-IR, określono sposób orientacji molekuly „gościa” we wnęce molekuly „gospodarza”-cyklodekstryny. Stwierdzono, że cząsteczki badanych związków aktywnych lokują się na różną głębokość we wnękach cyklodekstryn. Wywnioskowano, że do wnęki hydroksypropylo- β -cyklodekstryny inkluduje fragment molekuly trazodonu zawierający pierścień benzenowy z podstawnikiem $-\text{Cl}$ [A1]. Kompleks bupropionu z hydroksypropylo- β -cyklodekstryną tworzy się w wyniku inkluzji do wnęki cyklodekstryny fragmentu molekuly bupropionu zawierającego pierścień benzenowy [A5]. Połączenie klomipraminy z β -cyklodekstryną lub hydroksypropylo- β -cyklodekstryną realizowane jest wskutek inkluzji do wnęki CD pierścienia benzenowego bez podstawnika $-\text{Cl}$ [A2]. Przykładowy schemat tworzenia kompleksu inkluzyjnego trazodonu z hydroksypropylo- β -cyklodekstryną przedstawia rysunek poniżej



Do badania morfologii struktury zyprazydonu ZIP, β -CD i kompleksu inkluzyjnego ZIP- β -CD wykorzystano skaningowy mikroskop elektronowy SEM. Wyniki przedstawiono w publikacji [A8]. Na zdjęciach SEM zaobserwowano nieregularne struktury kryształów ZIP i formy sferyczne charakterystyczne dla β -CD. Zdjęcie SEM kompleksu ZIP- β -CD pokazuje zmiany obrazu morfologicznego jego struktury. Zaobserwowano mniej form sferycznych β -CD i struktur charakterystycznych dla samego ZIP. Występujące zmiany morfologiczne mogą sugerować o oddziaływaniu między molekułami ZIP i β -CD. Struktura kompleksu inkluzyjnego obrazowana za pomocą SEM jest inna niż samego ZIP i β -CD. Uzyskane dane skaningowej mikroskopii elektronowej pozwalają wnioskować, iż tworzy się kompleks w wyniku inkluzji ZIP do wnęki β -CD.

Badanie struktury kompleksów inkluzyjnych i wyjaśnianie mechanizmów inkluzji molekuly związku czynnego we wnęce cyklodekstryny przyczynia się do głębszego poznania procesów regulujących te zjawiska. Umożliwia to monitorowanie właściwości fizykochemicznych i terapeutycznych nowoczesnych preparatów z wykorzystaniem cyklodekstryn, również z pożytkiem dla społeczeństwa i cywilizacji. W badaniach tych stosowano chemikalia i rozpuszczalniki o niskiej agresywności oraz ograniczonym szkodliwym działaniu na człowieka, dlatego też nie przyczynią się one do pogorszenia stanu środowiska naturalnego.

Istotnym osiągnięciem prowadzonych badań jest również określenie zależności pomiędzy strukturą cząsteczki a jej działaniem biologicznym (QSAR). W tym celu wyznaczono wartości współczynnika podziału (P) substancji aktywnej w układzie oktanol-woda, który najlepiej odwzorowuje układ faz polarnych i niepolarnych w ustroju biologicznym. Jest to układ zawierający oktanol nasycony wodą i wodę nasyconą oktanołem. Takie rozpuszczalniki mogą służyć za model płynów ustrojowych czy komórek skóry człowieka. Badania przeprowadzono dla trazodonu i bupropionu oraz ich kompleksów inkluzyjnych z hydroksypropylo- β -cyklodekstryną. W oparciu o uzyskane dane wyznaczono współczynniki P dla samego trazodonu i jego kompleksu inkluzyjnego z HP- β -CD oraz dla bupropionu i jego kompleksu BUP-HP- β -CD. Wartości $\log P$ dla TRD (gość) i kompleksu TRD-HP- β -CD wynoszą odpowiednio 0,87 i 0,48. $\log P$ dla BUP i kompleksu BUP-HP- β -CD przyjmuje wartości odpowiednio 0,82 i 0,39. W oparciu o uzyskane wyniki stwierdzono, że hydrofobowość samego trazodonu i bupropionu jest dość niska. Właściwość ta ulega modyfikacji w wyniku kompleksowania z hydroksypropylo- β -cyklodekstryną. Względną hydrofobowość TRD i BUP wyznaczono w wyniku ich kompleksowania HP- β -CD i przedstawiono równaniem $\Delta \log P = \log P$ (gość) - $\log P$ (kompleks). $\Delta \log P$ wynosi 0,39 dla TRD i 0,43 dla BUP. W wyniku enkapsulacji trazodonu i bupropionu przy użyciu HP- β -CD, ich właściwości hydrofobowe, a tym samym i biodostępność wzrosły.

Z przeprowadzonych badań można wnioskować, że cyklodekstryny poprawiają rozpuszczalność substancji farmakologicznie czynnych leku psychotropowego z grupy pochodnych triazolopirydyny i fenyloetyloaminy. Zwiększenie rozpuszczalności substancji leczniczej oraz zdolność do przenikania przez błony biologiczne, może przyczynić się do obniżenia dawki leku. Tym samym można oczekiwać zwiększenia skuteczności i bezpieczeństwa stosowania preparatów farmaceutycznych niektórych środków psychotropowych z grupy pochodnych triazolopirydyny i fenyloetyloaminy.

Przeprowadzone badania prezentowane w pracach [A1-A9] wskazują na możliwości zastosowania cyklodekstryn w procesie przygotowania leków zawierających pochodne dibenzoazepiny, triazolopirydyny, fenyloetyloaminy, piperazyny, tienylopropanaminy i fluorochinolonu. Uzyskane wyniki dotyczące właściwości fizykochemicznych analizowanych kompleksów inkluzyjnych, ich supramolekularnej struktury, mechanizmów reakcji kompleksowania substancji aktywnych z cyklodekstrynami i ich pochodnymi mogą przyczynić się również do stworzenia podstaw do rozwoju nowych systemów nośnych leków psychotropowych z badanych grup i antybiotyków fluorochinolowych. Obecność cyklodekstryn wpływa na wzrost rozpuszczalności i stabilności badanych związków aktywnych, co może przyczynić się do wzrostu ich biodostępności.

Zastosowanie cyklodekstryn do udoskonalenia procedur badania jakości wybranych leków przeciwdepresyjnych, przeciwpsychotycznych oraz antybiotyków fluorochinolowych metodami spektroskopowymi i fluorymetrycznymi, może być dobrym rozwiązaniem zaproponowanym przeze mnie w publikacjach [A1-A9]. Kompleksy inkluzyjne substancji aktywnych tych leków z β -, γ - cyklodekstrynami i ich pochodnymi zostały użyte do opracowania fluorymetrycznych i spektroskopowych metod oznaczania badanych związków czynnych. Z przeprowadzonych przeze mnie badań wynika, że opracowane metody z zastosowaniem cyklodekstryn są czułe, precyzyjne i dokładne. Przykładowe zakresy liniowości oznaczania TRD, CLOM i DUL cyklodekstrynami wynoszą odpowiednio 5-30 $\mu\text{g/ml}$, 17,6-70 $\mu\text{g/ml}$ i 18,4ng/ml-3,5 $\mu\text{g/ml}$, współczynniki korelacji 0,9998, 0,9997 i 0,9998, a granice wykrywalności są równe 0,27 $\mu\text{g/ml}$, 2,04 $\mu\text{g/ml}$ i 6,71 ng/ml. Stwierdzono, że substancja aktywna trazodonu, kłomipraminy, bupropionu, duloksetyny, zyprazydonu i ofloksacyny w obecności zastosowanych cyklodekstryn jest stabilna od kilku do kilkudziesięciu dni. Ponadto czułość metod oznaczania trazodonu i bupropionu z wykorzystaniem HP- β -CD [A1,A5], wyrażona za pomocą molowego współczynnika absorpcji (ϵ) jest wyższa niż metod oznaczania samej substancji aktywnej. Wartości współczynników ϵ wynoszą odpowiednio $1,28 \cdot 10^4$ i $1,18 \cdot 10^4$ L mol⁻¹ cm⁻¹ dla metod opartych na kompleksach TRD-HP- β -CD i BUP-HP- β -CD, zaś dla metod oznaczania samego

TRD i BUP - $8,2 \cdot 10^3$ i $7,86 \cdot 10^3$ L mol⁻¹ cm⁻¹. Procedury oznaczania substancji leczniczych badanych leków psychotropowych i antybiotyków fluorochinolowych z zastosowaniem cyklodekstryn mogą być konkurencyjne w stosunku do metod proponowanych przez Farmakopeę Europejską [1], co zostało udokumentowane w publikacjach [A1-A9].

Z uwagi na moje obecne zainteresowania teoretyczne i praktyczne różnymi układami cyklodekstrynowymi, prowadziłam studia teoretyczne i przeglądowe na temat najnowszych badań i zastosowań cyklodekstryn w chemii supramolekularnej. W wyniku tych studiów powstała praca przeglądowa „*Cyclodextrins, structures, properties useful for treating diseases and revitalizing body systems*” [A3] omawiająca najnowsze osiągnięcia w zastosowaniu cyklodekstryn w budowie różnych układów supramolekularnych - kompleksów inkluzyjnych, agregatów, rotaksanów, polirotaksanów i innych połączeń, metod stosowanych w tych badaniach oraz wykorzystania tych układów w medycynie i farmacji. Spośród wymienionych układów na uwagę zasługują rotaksany i polirotaksany.

Rotaksany stanowią układy supramolekularne, które obecnie są szeroko badane w różnych ośrodkach naukowych na świecie ze względu na możliwe zastosowania w otrzymywaniu maszyn i przełączników molekularnych. Do syntezy rotaksanów są często wykorzystywane cyklodekstryny ze względu na ich makrocykliczną budowę. Typowa synteza rotaxanu przebiega następująco: cząsteczka monopodstawionej α -cyklodekstryny (α -CD) zostaje wprowadzona na pasujący do jej wnęki łańcuch difenyloacetyleny i następnie zablokowana przy pomocy dwóch dużych grup blokujących. W zależności od rodzaju podstawnika -R można zaobserwować zmianę w rotacji podstawionej α -CD w stosunku do łańcucha przechodzącego przez jej wnętrze. Właściwości rotaksanów mogą być również wykorzystane do budowy sensorów stosowanych w badaniach środowiskowych i biologicznych [A3].

Polirotaksany podobnie jak rotaksany, wykorzystujące w swojej strukturze cząsteczki cyklodekstryn są intensywnie badane z uwagi na ich możliwe zastosowania. Polirotaksany otrzymujemy w wyniku zastosowania długiego łańcucha polimerowego, takiego jak PEG (glikol polietylenu), PEO (tlenek polietylenu), PNIPA (poly(N-izopropylakryloamid) jako nici, po której mogą przemieszczać się cząsteczki cyklodekstryn. Ze względu na specyficzną budowę polirotaksany mogą znaleźć zastosowanie jako przełączniki cząsteczkowe, izolowane kable molekularne czy „sprytne” materiały (ang.: smart materials). W zakresie badań biomedycznych polirotaksany mogą w najbliższej przyszłości stanowić obiecujące materiały supramolekularne. Różne doniesienia literaturowe dotyczą możliwych zastosowań polirotaksanów jako przenośników leków w szczególności w celowanej terapii przeciwnowotworowej i terapiach genowych.

5E. Podsumowanie najważniejszych osiągnięć badawczych w cyklu prac habilitacyjnych

Wyniki moich badań [A1-A9] opublikowane w latach 2008-2015 udostępniono szerokiej grupie badaczy w kraju i na świecie. Badania dotyczyły procesów kompleksowania inkluzyjnego cyklodekstryn z substancjami aktywnymi leków psychotropowych z grupy pochodnych dibenzoazepiny, triazolopirydyny, fenyloetyloaminy, piperazyny i tienylopropanaminy oraz antybiotyku fluorochinolowego. Wyniki badań szczegółowo omówione w każdej publikacji, dostarczyły szeregu ważnych informacji dotyczących warunków przebiegu reakcji kompleksowania inkluzyjnego, projektowania kompleksów cyklodekstrynowych o określonych masach molowych oraz właściwościach fizykochemicznych i określonej strukturze. Umożliwiło to rozszerzenie zakresu badań naukowych na znalezienie zastosowań dla otrzymanych kompleksów. Badania te rozszerzają w istotny sposób wiedzę na temat kompleksów β - i γ -cyklodekstryn ze związkami biologicznie aktywnymi wybranych leków psychotropowych i antybiotyków fluorochinolowych. Zastosowanie cyklodekstryn znacznie poprawia jakość substancji aktywnej leku, zwiększa jej trwałość i odporność na działanie różnych destabilizujących czynników. Znaczący wzrost intensywności sygnału od substancji aktywnej leku w obecności cyklodekstryny może być podstawą przy opracowywaniu bardzo czułych fluorymetrycznych metod ich oznaczania. Metody te mogą być konkurencyjne w stosunku do innych metod literaturowych. Wszystkie prace [A1,A2,A5-A9] były prowadzone pod kątem ich praktycznej użyteczności w produkcji preparatów farmaceutycznych nowej generacji badanych leków psychotropowych i antybiotyków z zastosowaniem odpowiednio dobranych cyklodekstryn.

Wyniki przedstawione w publikacjach [A1-A9] stanowią nowe, cenne informacje, które mogą przyczynić się do rozwoju w dziedzinie związanej z badaniami kompleksów inkluzyjnych cyklodekstryna-lek psychotropowy oraz cyklodekstryna-antybiotyk fluorochinolowy metodami spektroskopowymi i tym samym rozwoju cywilizacyjnego w tym obszarze.

Najważniejsze osiągnięcia prowadzonych prac naukowych:

1. Uzyskano dotychczas nieopisane w światowej literaturze naukowej kompleksy inkluzyjne cyklodekstryn z substancjami aktywnymi - kломipraminą, trazodonem, bupropionem, duloksetyną, zyprazydonem i ofloksacyną oraz zbadano wybrane właściwości fizykochemiczne. Otrzymano kompleksy TRD-HP- β -CD, CLOM- β -CD, CLOM-HP- β -CD, BUP-HP- β -CD, BUP-HP- γ -CD, DUL- β -CD i OFL-HP- β -CD o określonym składzie stechiometrycznym 1:1. Stwierdzono, że badane kompleksy charakteryzują się dużą trwałością w czasie od kilku do

kilkudziesięciu dni w temperaturze pokojowej, natomiast same substancje aktywne nie skompleksowane są trwale jedynie kilka godzin.

2. Wyznaczono stałe kompleksowania charakteryzujące badane układy. Kontrola stałej trwałości pozwala na dobranie optymalnej pochodnej cyklodekstryny do warunków podawania leku, co jest bardzo istotne w przypadku nośników leków. Najwyższe wartości stałych uzyskano dla układów TRD-HP- β -CD, CLOM- β -CD, CLOM-HP- β -CD. Stwierdzono, że wartość stałej kompleksowania klomipraminy przy użyciu HP- β -CD jest wyższa niż w przypadku stosowania β -CD. Ponadto wykazano, że stała trwałości kompleksu bupropionu z hydroksypropylo- β -cyklodekstryną może być z powodzeniem zmieniana poprzez zastosowanie innej pochodnej cyklodekstryny – hydroksypropylo- γ -cyklodekstryny.

3. Badania spektroskopowe FT-IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR i 2D NMR dostarczyły istotnych informacji na temat struktury kompleksów TRD-HP- β -CD, CLOM- β -CD, CLOM-HP- β -CD i BUP-HP- β -CD. Stwierdzono, że molekuly badanych związków aktywnych lokują się na różną głębokość we wnękach cyklodekstryn. Użycie metod 2D NMR pozwoliło określić sposób orientacji molekuly „gościa” we wnęce zastosowanej cyklodekstryny – molekuly „gospodarza”.

4. Zaproponowano mechanizm kompleksowania inkluzyjnego badanych substancji aktywnych z wybranymi cyklodekstrydami.

5. Zastosowano otrzymane kompleksy inkluzyjne do opracowania nowych, czułych spektroskopowych i fluorymetrycznych metod oznaczania badanych związków aktywnych na poziomie $\mu\text{g/ml}$ i ng/ml w próbkach.

Bardzo ważnym kierunkiem prac naukowych możliwym do podjęcia w najbliższej przyszłości jest zbadanie zastosowania cyklodekstryn do opracowania procedur leczniczego stosowania innych leków.

BIBLIOGRAFIA

1. Farmakopea Europejska VIII, Council of Europe, Strasbourg 2014.
2. Hallam C., Bewley- Taylor D., R., Mapping the world drug problem: Science and politics in the United Nations drug control system. *Int. J. Drug Policy* 21, 1 (2010).
3. Goedken A. M., Urmie J. M., Farris K. B., Doucette W. R., Impact of cost sharing on prescription drugs used by medicare beneficiaries. *Res. Soc. Administr. Pharm.* 6, 100 (2010).
4. Zając M., Jelińska A., Muszalska I., Nogowska M., Stanisław B., Ocena jakości substancji

- leczyńszych i preparatów farmaceutycznych według wymagań farmakopealnych i ICH. Wyd. Kontekst, Poznań 2000.
5. Konieczka P., Namieśnik J., Zygmunt B., Bulska E., Świtaj- Zawadka A., Kremer E., Naganowska-Nowak A., Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2007.
 6. Pawlaczyk J., Zając M., Walidacja metod analizy chemicznej. Dział Wydawnictw AM, Poznań 2001.
 7. Wieniawski W., Międzynarodowa Konferencja Harmonizacji Wymagań dla Leków (ICH) i jej wpływ na Farmakopeę Europejską. Farm. Pol. 58, 851 (2002)
 8. Farmakopea Polska VIII, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa 2009.
 9. Ahuja S., Impurities evaluation of pharmaceuticals. Marcel Dekker, New York 1998.
 10. European Pharmacopoeia Commission, Note, PA/PH/SG (95), 92 (1995).
 11. Liu S., Kokot S., Will G., Photochemistry and chemometrics - An overview. J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Reviews 10, 159 (2009).
 12. Komsta L., Maurin J.K., Recognition of active ingredients in tablets by chemometric processing of X-ray diffractometric data. Talanta 82, 850 (2010).
 13. Markopoulou C.K., Malliou E.T., Koundourellis J.E. Application of two chemometric methods for the determination of imipramine, amitriptyline and perphenazine in content uniformity and drug dissolution studies. J. Pharm. Biomed. Anal. 37, 249 (2005).
 14. Roggo Y., Degardin K., Margot P., Identification of pharmaceutical tablets by Raman spectroscopy and chemometrics. Talanta 81, 988 (2010).
 15. Li H., Liang Y., Xu Q., Support vector machines and its applications in chemistry. Chemomet. Intell. Lab. Syst. 95, 188 (2009).
 16. Nishimura, T., Kometani T., Nakae T., Takii H., Okada S., Cyclic α -1,4-glucan formation by bacterial α -amylases. J. Ferment. Bioengineering, 81, 26 (1996).
 17. Avci A., Donmez S., A novel thermophilic anaerobic bacteria producing cyclodextrin glycosyltransferase. Process Biochem. 44, 36 (2009).
 18. Bouchal F., Skiba M., Chaffai N., Hallouard F., Fatmi S., Lahiani-Skiba M., Fast dissolving cyclodextrin complex of *piroxicam* in solid dispersion Part I: Influence of β -CD and HP β -CD on the dissolution rate of *piroxicam*. Int. J. Pharm. 478, 625 (2015).
 19. Zimmer L., Czarnecki W., Cyklodekstryny- zastosowania do otrzymywania nowych postaci leku. Farm. Pol. 57, 1015 (2001).
 20. Tafazzoli M., Ghiasi M., Structure and conformation of α -, β -, γ - cyclodextrin in solution: Theoretical approaches and experimental validation. Carboh. Polym. 78, 10 (2009).

21. Buranaboripan W., Lang W., Motomura E., Sakairi N., Preparation and characterization of polymeric host molecules, β -cyclodextrin linked chitosan derivatives having different linkers. *Int. J. Biol. Macrom.* 69, 27 (2014).
22. Wesolowski M., Kosecka E., Cyklodekstryny - właściwości i zastosowanie w farmacji. *Farm. Pol.* 57, 1003 (2001).
23. Song L.X., Bai L., Xu X. M., He J., Pan S. Z., Inclusion complexation, encapsulation interaction and inclusion number in cyclodextrin chemistry. *Coord. Chem. Rev.* 253, 1276 (2009).
24. Ogren S.O., The behavioural pharmacology of typical and atypical antipsychotic drugs. W: Csernansky J.G. (red.). *Antipsychotics*, Springer, Berlin - Tokio 1996.
25. Bonomo R.A., The new fluoroquinolone antibiotics. *Clin. Microb. Newslet.* 20, 197 (1998).
26. Huskamp H. A., Pharmaceutical cost management and access to psychotropic drugs: The U.S. context. *Int. J. Law Psych.* 28, 484 (2008).
27. Bonetto Ch., Nose M., Barbui C., Generating psychotropic drug exposure data from computer - based medical records. *Comp. Methods Prog. Biomed.* 83, 120 (2006).
28. Zhoua S., Ouyang J., et al. Chiral separation of four fluoroquinolone compounds using capillary electrophoresis with hydroxypropyl- β -cyclodextrin as chiral selector. *J. Chromatogr. A* 1130, 296 (2006).
29. Ilomaki J., Korhonen M.J., Enlund H., Hartzema A.G., Kauhanen J., Risk drinking behavior among psychotropic drugs users in an aging Finnish population: The FinDrink study. *Alcohol* 42, 261 (2008).
30. Kobayashi H., Endo T., Ogawa N., Nagase H., Iwata M., Ueda H., Evaluation of the interaction between β -cyclodextrin and psychotropic drugs by surface plasmon resonance assay with a Biacore system. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 54, 258 (2011).
31. Thatiparti T.R., Shoffstall A. J., Recum H.A., Cyclodextrin - based device coating for affinity - based of antibiotics. *Biomaterials* 31, 2335 (2010).
32. Schloss P., Henn F.A., New insights into the mechanism of antidepressant therapy. *Pharm. Therapeutics* 102, 47 (2004).
33. Moya- Ortega M.D., Alvarez- Lorenzo C., Sigurdsson H.H., Concheiro A., Loftsson T., γ -Cyclodextrin hydrogels and semi-interpenetrating networks for sustained delivery of dexamethanose. *Carboh. Polym.* 80, 900 (2010).
34. Misiuk W., Govil J.N., Cyclodextrins, structures, properties useful for treating diseases and revitalizing body systems, *Recent Progr. Med. Plants, Drug Plants III*, vol. 29, 159-181. Eds. J.N.Govil & V.K. Singh, Studium Press LLC, USA 2010.

35. Cano J., Rodriguez A., Aicart E., Temperature effect on the complex formation between tricyclic antidepressant drugs and hydroxypropyl- β -cyclodextrin in water. *J. Incl. Phenom. Macrocyc. Chem.* 59, 279 (2007).
36. Mascagni P., Bottoni G., Complexes of paroxetine with cyclodextrins or cyclodextrin derivatives. Patent WO 01/02393 (1999).
37. De Sousa F. B., Leite Denadai A.M., Lula I.S., Lopes J. F., Dos Santos H.F., De Almeida W. B., Sinisterra R.D., Supramolecular complex of fluoxetine with β -cyclodextrin: An experimental and theoretical study. *Int. J. Pharm.* 353, 160 (2008).
38. Geczy J., Bruhwylar J., Scuvee- Moreau J., Seutin V. et al., The inclusion of fluoxetine into γ -cyclodextrin increases its bioavailability: behavioural, electrophysiological and pharmacokinetics studies. *Psychopharmac.* 151, 328 (2000).
39. Chao J.B., Zhang B. T., Preparation and study on the solid inclusion complex of cloxacillin sodium with β -cyclodextrin. *Spectrochim. Acta A* 68, 109 (2007).
40. Cal K., Centkowska K., Use of cyclodextrins in topical formulations: Practical aspects. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 68, 467 (2008).
41. Li N., Zhang Y-H., Wu Y-N., Xiong X-L., Zhang Y-H., Inclusion complex of trimethoprim with β -cyclodextrin. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 39,824 (2005).
42. Loftsson T., Duchene D., Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int. J. Pharm.* 329, 1 (2007).
43. Dodziuk H., Cyclodextrins and their complexes. WILEY-VCH Verlag, Weinheim 2006.

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

Od momentu podjęcia pracy w Zakładzie Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Instytutu Chemii Wydziału Biologiczno-Chemicznego Uniwersytetu w Białymstoku w 1980 r. rozpoczęłam działalność naukowo-badawczą. Prowadziłam wówczas badania naukowe dotyczące analitycznego wykorzystania grupy związków organicznych - pochodnych fenotiazyny z podstawnikami w pozycji 2 i 10. Zajęłam się opracowywaniem metod oznaczania pochodnych fenotiazyny stosowanych w medycynie jako leki psychotropowe. Zapoznanie się z metodami oznaczania tych związków z zastosowaniem najnowszych technik analitycznych umożliwił mi roczny staż naukowy na Uniwersytecie im. Karola w Pradze w latach 1987-88. Przeprowadziłam szereg badań utleniania samej fenotiazyny i jej wybranych pochodnych stosując różne techniki

spektroskopowe UV/VIS, ASA, NMR oraz chromatograficzne GC, HPLC. Część badań stała się przedmiotem mojej rozprawy doktorskiej. W roku 1990 decyzją Rady Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego uzyskałam stopień doktora nauk farmaceutycznych, na podstawie obronionej rozprawy doktorskiej pt. „Reakcje niektórych pochodnych fenotiazyny z jonami tytanu (IV), niobu (V), wanadu (V) i ich analityczne wykorzystanie”, wykonanej pod kierunkiem dr hab. Mikołaja Tarasiewicza.

Wyniki wszystkich moich badań zostały opublikowane w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym oraz były prezentowane na krajowych i zagranicznych konferencjach oraz zjazdach naukowych. Mój dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje 75 doniesień naukowych - 32 prace oryginalne, 8 prac poglądowych, 35 streszczeń z prezentowanych doniesień na konferencjach krajowych i zagranicznych. W moim dorobku jest autorstwo 2 rozdziałów w dwóch książkach.

Sumaryczny *impact factor* zgodnie z rokiem opublikowania moich prac naukowych wynosi 32,95, w tym po uzyskaniu stopnia doktora 31,71. Za wszystkie osiągnięcia naukowe otrzymałam 710 punktów MNiSW. Liczba cytowań publikacji według bazy *Web of Science* wynosi 261. W 29 publikacjach naukowych jestem pierwszym autorem. Indeks Hirscha według bazy *Web of Science* równa się 9.

Począwszy od 1980 roku prezentowałam wyniki swoich badań na Dorocznych Zjazdach Naukowych Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Zjazdach Naukowych Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, II Multidyscyplinarnej Konferencji Nauki o Leku, Sympozjum: „Żywność-Lek-Zdrowie”, Konferencji „Współczesne metody analizy leków, narkotyków, trucizn i używek”, III Konferencji „Związki biologicznie czynne - aktywność, struktura, synteza”. Ponadto rezultaty mojej pracy naukowej były przedstawiane na konferencjach międzynarodowych - 9th European Conference of Analytical Chemistry (1996), 6th International Symposium on Kinetics in Analytical Chemistry (1998), XIX Slovak - Czech Spectroscopic Conference (2008).

Uczestniczyłam również w konferencjach naukowych, takich jak VII Polska Konferencja Chemii Analitycznej - *Analityka w rozwoju cywilizacji* (Toruń 2005), *3rd International Forum on Innovative Technologies for Medicine* (Białystok 2009), „*W kierunku aplikacyjności - wyposażenie Centrum Syntezy i Analizy BioNanoTechno Uniwersytetu w Białymstoku*” (Białystok 2014).

Po uzyskaniu stopnia doktora w 1990 r. prowadziłam badania dotyczące związków biologicznie aktywnych z grupy pochodnych tioksantenu, dibenzoazepiny, dibenzooksepiny i dibenzocykloheptadienu z wykorzystaniem metod spektroskopowych, chromatograficznych

HPLC i TLC oraz modelowania molekularnego. Celem tych badań było opracowanie i udoskonalenie metod spektroskopowych stosowanych do analizy wybranych związków w aspekcie możliwości:

- oznaczenia zawartości substancji aktywnej również w obecności jej produktu rozkładu,
- badania czystości, trwałości związku czynnego i jego połączeń jonowo-asocjacyjnych, inkluzyjnych oraz produktów utlenienia,
- identyfikacji zanieczyszczeń substancji aktywnej, produktów rozkładu i ich oznaczania,
- automatyzacji metod oznaczania niektórych substancji aktywnych.

Opracowane przeze mnie manualne spektroskopowe metody oznaczania związków aktywnych niektórych leków zostały zautomatyzowane. Zastosowałam w tym celu technikę przepływowo-wstrzykową FIA. Technika ta dzięki zaletom - krótki czas oznaczania, małe zużycie odczynników, mikro ilości oznaczanej próbki, możliwość miniaturyzacji została zastosowana do automatyzacji i prowadzenia oznaczeń seryjnych wybranych pochodnych fenotiazyny. Opracowane przeze mnie metody FIA umożliwiły oznaczenie w ciągu 1 godz. 80 próbek promazyny i tiorydazyny oraz 35 próbek perazyny. Wyniki badań zostały opublikowane w czasopiśmie krajowych i zagranicznych.

Spis publikacji po doktoracie (poza pracami będącymi przedmiotem habilitacji)

1. Misiuk W., Tarasiewicz M., Spectrophotometric determination of promethazine and diethazine hydrochlorides with ammonium metavanadate. *Pharmazje* 48, 66-67 (1993).
2. Misiuk W., Tarasiewicz M., Application of thiocyanate complex of niobium(V) in spectrophotometric investigations of promazine hydrochloride in pure form and in pharmaceutical preparations. *Acta Pol. Pharm.* 52, 373-378 (1995).
3. Misiuk W., Tarasiewicz M., Spectrophotometric determination of perazine and thioridazine in pharmaceutical preparations. *Pharmazje* 51, 62 (1996).
4. Misiuk W., Tarasiewicz M., Application of thiocyanate complex of titanium(IV) in extractive - spectrophotometric determination of some phenothiazines. *Acta Pol. Pharm.* 54, 115-118 (1997).
5. Karpińska J., Misiuk W., Puzanowska-Tarasiewicz H., Flow injection spectrophotometric determination of promazine hydrochloride and thioridazine hydrochloride. *Indian J. Chem.* 37A, 1135- 1139 (1998).
6. Misiuk W., Tarasiewicz M., Application of thiocyanate complex of titanium(IV) to the extractive spectrophotometric determination of amitriptyline hydrochloride. *Anal. Lett.* 31, 1197- 1207 (1998).

7. Misiuk W., Spectrophotometric determination of desipramine using ammonium peroxodisulfate and the titanium(IV) thiocyanate complex. *J. Trace Microprobe Techn.* 17, 425-431 (1999).
8. Misiuk W., Extractive-spectrophotometric determination of nortriptyline hydrochloride. *Acta Pol. Pharm.* 56, 271-274 (1999).
9. Tarasiewicz M., Puzanowska-Tarasiewicz H., Misiuk W., Kojło A., Grudniewska A., Starczewska B., Analytical applications of the reactions of 2- and 10-disubstituted phenothiazines with some metal ions. *Chem. Anal. (Warsaw)* 44, 137-155 (1999).
10. Misiuk W., Spectrophotometry assay of imipramine and desipramine using ammonium metavanadate and its application to pharmaceutical preparations. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 22, 189-196 (2000).
11. Misiuk W., Extractive spectrophotometric determination of chlorprothixene hydrochloride. *Anal. Lett.* 33, 1281-1291 (2000).
12. Karpińska J., Kojło A., Misiuk W., Starczewska B., Puzanowska-Tarasiewicz H., Application of phenothiazine derivatives as reagents in kinetic-catalytic determination of some d-electron elements. *J. Trace Microprobe Techn.* 18, 369-379 (2000).
15. Kojło A., Karpińska J., Kuźmicka L., Misiuk W., Puzanowska-Tarasiewicz H., Tarasiewicz M., Analytical study of the reaction of phenothiazines with some oxidants, metal ions and organic substances. *J. Trace Microprobe Techn.* 19, 45-70 (2001).
16. Misiuk W., Kleszczewska E., Karpińska J., Spectrophotometric determination of imipramine hydrochloride using ammonium peroxodisulfate and niobium(V) thiocyanate complex. *Anal. Lett.* 34, 201-209 (2001).
17. Misiuk W., Kleszczewska E., Application of ammonium peroxodisulfate and metavanadate for spectrophotometric determination of prothipendyl hydrochloride. *Acta Pol. Pharm.* 58, 87-92 (2001).
18. Misiuk W., Kuźmicka L., Mielech K., Puzanowska-Tarasiewicz H., Examination of iron(III) and hexacyanoferrate(III) ions as reagents for the spectrophotometric determination of promazine and perazine. *Acta Pol. Pharm.* 58, 421-426 (2001).
19. Misiuk W., Puzanowska-Tarasiewicz H., Spectrophotometric determination of some antidepressant drugs. *Anal. Lett.* 35, 1163-1170 (2002).
20. Misiuk W., Puzanowska-Tarasiewicz H., Kuźmicka L., Mielech K., Application of the reaction of promazine hydrochloride with chromium(VI) in volumetric and spectrophotometric analysis. *J. Trace Microprobe Techn.* 20, 305-316 (2002).
21. Misiuk W., Hałaburda P., Flow injection spectrophotometric determination of perazine.

J. Trace Microprobe Techn. 21, 95-102 (2003).

22. Misiuk W., Regulska E., Kuźmicka L., Puzanowska-Tarasiewicz H., Physicochemical and analytical properties of the complexes of palladium(II) and diethazine. *J. Trace Microprobe Techn. 21, 583-592 (2003).*
23. Misiuk W., Extractive spectrophotometric methods for the determination of doxepin hydrochloride in pharmaceutical preparations using titanium(IV) and iron(III) thiocyanate complexes. *Il Farmaco 60, 61-69 (2005).*
24. Misiuk W., Sensitive spectrophotometric methods for quantitative determination of chlorprothixene in pharmaceutical dosage form. *Pak. J. Pharm. Sci. 19, 87-94 (2006).*
25. Misiuk W., Tykocka A., Sensitive extractive spectrophotometric methods for the determination of nortriptyline hydrochloride in pharmaceutical formulations. *Chem. Pharm. Bull. 55, 1655-1661 (2007).*

W obecnie realizowanym projekcie naukowym prowadzę badania połączeń cyklodekstryn z różnymi grupami leków - przeciwpsychotycznymi oraz antybiotykami z grupy cefalosporyn. Wyznaczone zostały stałe kompleksowania inkluzyjnego oraz stechiometria badanych kompleksów. W celu optymalizacji procesu inkluzji badane są parametry termodynamiczne ΔG i ΔH . Do analizy kompleksów inkluzyjnych i określenia charakteru oddziaływań nie chemicznych zastosowano modelowanie molekularne (odpowiednie programy komputerowe i bazy danych). Badana jest również struktura supramolekularna otrzymanych kompleksów i morfologia powierzchni.

W ramach realizacji tematów badawczych aktywnie współpracuję naukowo z różnymi jednostkami Uniwersytetu w Białymstoku, takimi jak Zakład Produktów Naturalnych, Zakład Chemii Analitycznej, Zakład Chemii Środowiska, Centrum BioNanoTechno.

Poza współpracą z zespołem w Instytucie Chemii Uniwersytetu w Białymstoku badania realizowałam we współpracy z różnymi ośrodkami naukowymi w kraju i zagranicą, m. in. prof. Nemcova (Uniwersytet Karola w Pradze, Czechy), prof. Rychlovsky (Uniwersytet Karola w Pradze, Czechy), prof. Szakova (Czeski Uniwersytet Agrotechniczny w Pradze), prof. Govil (Naukowy Instytut Badań Agrotechnicznych, Indie), prof. Moniuszko-Jakoniuk (Uniwersytet Medyczny w Białymstoku).

Recenzowałam również publikacje w następujących czasopismach:

z listy filadelfijskiej:

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis (1), IF=2,829; Journal of AOAC International (12), IF=1,385; Carbohydrate Polymers (14), IF=3,916; Talanta (3), IF=3,511; Spectrochimica Acta A (2),

IF=2,129; *Journal of Hazardous Materials* (1), IF=4,331; *International Journal of Analytical Chemistry* (1), IF=0,904; *Analytical Biochemistry* (3), IF=2,305; *Analytical Letters* (1), IF=0,981; *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* (1), IF=1,426; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (1), IF=2,951; *Letters in Organic Chemistry* (1), IF=0,648; *Chemistry Central Journal* (4), IF=1,66; *Food Analytical Methods* (2), IF=1,802; *Drug Testing and Analysis* (1), IF=2,816; *Journal of Spectroscopy* (1), IF=0,831; *Arabian Journal of Chemistry* (2), IF=2,684;

oraz spoza listy filadelfijskiej:

Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly (1), *ISRN Analytical Chemistry* (6), *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* (1).

Ponadto recenzowałam wnioski Nr POIG.01.01.02-12-093/09 i Nr POIG.01.01.02-00-069/09 dotyczące projektów badawczych w ramach I osi priorytetowej Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka w Działaniu 1.1. „Wsparcie badań naukowych dla budowy gospodarki opartej na wiedzy”. Byłam również recenzentem wniosku WDN-POIG.0103.02-00-046/11/2012.

W trakcie pracy na Uniwersytecie w Białymstoku kilkakrotnie otrzymywałam za działalność naukową nagrody Rektora UwB.

Jestem również członkiem komitetów redakcyjnych i rad naukowych czasopism o zasięgu międzynarodowym:

“*Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*”,

„*ISRN Analytical Chemistry*”,

“*International Scholarly Research Notices*”,

„*International Journal of Pharma and Bioscience*” (IF = 5,121).

Ponadto jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Chemicznego i do 2004 r. byłam członkiem Polskiego Towarzystwa Toksykologicznego.

Wiesława Misiuk