



UNIWERSYTET M E D Y C Z N Y  
w LUBLINIE

WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY

Katedra Chemii

Zakład Chemii Fizycznej

ul. Chodźki 4a, 20-093 LUBLIN

telefon: + 48 81 535 73 77 / centrex: 3377 / fax: + 48 81 756 48 30

Lublin, dnia 17 czerwca 2023 r.

### Recenzja

**rozprawy doktorskiej P. mgr farm. Natalii Treder – doktorantki**  
**w Katedry i Zakładu Chemii Analitycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego**  
**– p.t. "Wpływ cieczy jonowych na efektywność metod chromatograficznych stosowanych do**  
**oznaczania leków cytostatycznych"**

Oceniana praca pochodzi z gdańskiego ośrodka naukowego, o uznanej międzynarodowej renomie, dzięki naukowcom, którzy wnieśli ogromny wkład w rozwój chemii analitycznej i wychowali znakomitych następców z powodzeniem kontynuujących ich dzieło. Dlatego w mojej opinii poziom naukowy tej rozprawy jest wysoki, co potwierdza w pełni jej lektura. Na pracę tę składa się cykl czterech publikacji opublikowanych w latach 2020-2022 w czasopismach z listy *Journal Citation Reports*, z których pierwsza to manuskrypt przeglądowy, a trzy kolejne to publikacje badawcze.

Prace te zostały opublikowane w międzynarodowych czasopismach o uznanym poziomie naukowym, o czym mogą świadczyć sumaryczne, naukometryczne parametry tych prac, a mianowicie: impact factor (IF) równy 22,00 oraz punktacja Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN) równa 450,00. Manuskrypt przeglądowy ukazał się w *Molecules*, natomiast prace badawcze w *Journal of Chromatography A*, *Microchemical Journal* oraz w *Analytical Chemistry*.

Wszystkie prace są zredagowane w języku angielskim, co może sprzyjać ich akceptacji przez światową społeczność naukową. I wreszcie nie ulega wątpliwości, że opublikowanie w relatywnie krótkim okresie czasu trzech doświadczalnych prac z dziedziny chromatografii w renomowanych wydawnictwach takich jak *Elsevier* i *ACS Publications* dowodzi bardzo dużego wkładu pracy, czasu i naukowych umiejętności Doktorantki omówionych dokładniej poniżej.

Na uwagę zasługuje fakt, że Pani mgr farm. Natalia Treder we wszystkich czterech publikacjach włączonych do cyklu doktorskiego jest pierwszym autorem. W rozprawie doktorskiej nie zostały jednak zamieszczone oświadczenia o deklarowanym udziale Doktorantki i współautorów w realizacji poszczególnych publikacji, co w moim przekonaniu jest konieczne do rzetelnej i wiarygodnej oceny zaangażowania każdego z autorów w powstanie manuskryptów.

We wstępie do rozprawy zostały opisane podstawowe zagadnienia dotyczące właściwości cieczy jonowych i ich zastosowania do przygotowania próbek w materiale biologicznym oraz analizy leków. W sposób zwięzły zostały omówione właściwości fizykochemiczne cieczy jonowych mające wpływ na ich możliwości aplikacyjne w chemii analitycznej. Rozważając etap przygotowania próbek Doktorantka we wstępie opisała klasyczne metody ekstrakcji m.in. ekstrakcję ciecz-ciecz i ekstrakcję do fazy stałej. Podkreśliła w opisie, że obecnie coraz częściej są stosowane techniki mikroekstrakcyjne takie jak: dyspersyjna mikroekstrakcja w układzie ciecz-ciecz oraz mikroekstrakcja do fazy stałej. Opisała ich zalety w odniesieniu do metod uznawanych za klasyczne jak i ich wady. Pani mgr farm. Natalia Treder we wstępie wymieniła również inne techniki ekstrakcji m.in. mikroekstrakcję do pojedynczej kropli, mikroekstrakcję poprzez membranę do fazy ciekłej, magnetyczną ekstrakcję do fazy stałej oraz ekstrakcję z zastosowaniem wirującego elementu sorpcyjnego.

We wstępie odniosła się również do jednego z najbardziej popularnych układów faz w wysokosprawnej chromatografii cieczowej - odwróconego układu faz (RP-LC). Opisała sposoby blokowania wolnych grup silanolowych występujących na powierzchni niepolarnych faz stacjonarnych. A także niektóre ze sposobów optymalizacji faz wchodzących w skład układu chromatograficznego.

Na zakończenie wykazała możliwości stosowania cieczy jonowych podczas etapu przygotowania próbek jak i optymalizacji składu faz ruchomych w chromatografii w odwróconym układzie faz do analizy leków cytostatycznych.

Powyższe teoretyczne rozważania są związane bezpośrednio z omówionymi kolejno: celami pracy doktorskiej, stosowanymi materiałami i metodami oraz uzyskanymi wynikami i ich dyskusją. Ten ostatni podrozdział zawiera charakterystykę wszystkich trzech prac eksperymentalnych rozprawy z podaniem nazw badanych leków oraz ich pochodzenia, zastosowanej techniki chromatograficznej, stosowanych faz stacjonarnych i ruchomych i ich ewentualnych modyfikacji. Podane i przedyskutowane zostały szczegółowo uzyskane wyniki a także możliwości ich praktycznego wykorzystania.

W pierwszej pracy z cyklu doktorskiego Doktorantka opisała aktualne możliwości aplikacyjne dotyczące stosowania cieczy jonowych do oznaczania substancji leczniczych w

- próbkach biologicznych i środowiskowych. Opisała zastosowanie cieczy jonowych w procedurach ekstrakcji jak i analizie chromatograficznej.

W drugiej publikacji (pierwszej badawczej) włączonej do cyklu opisała zastosowanie cieczy jonowych jako dodatków do faz ruchomych, które umożliwiły optymalizację układów chromatograficznych, m.in. zakresów retencji, symetrii pików, sprawności układów chromatograficznych i selektywności rozdzielania analitów. Podczas wykonywania eksperymentów Doktorantka słusznie wyciągnęła wnioski, że największy wpływ na retencję leków cytostatycznych odgrywał charakter fizykochemiczny anionu cieczy jonowej. Natomiast kation cieczy jonowej wpływał istotnie na retencję wówczas, gdy anion posiadał właściwości kosmotropowe. Zbadała także wpływ stężenia cieczy jonowej na retencję badanych analitów. Badania Doktorantki potwierdziły, że składniki faz ruchomych zawierających cieczy jonowe i bufor fosforanowy lub kwas mrówkowy wpływały w różny sposób na retencję analitów. A także wykazała, że aniony chaotropowe cieczy jonowych tworzą z kationami antracyklin pary jonowe. Stwierdziła, że w przypadku anionów chaotropowych (np. [PF6]) dochodzi do tworzenia par jonowych pomiędzy anionami IL a dodatnio naładowanymi analitami, co sprawia, iż powstałe pary jonowe mogą silniej oddziaływać z ligandami fazy stacjonarnej; bądź aniony IL bezpośrednio oddziaływają z ligandami fazy stacjonarnej. Następstwem jest tworzenie ujemnie naładowanej strefy nad powierzchnią fazy stacjonarnej i przyciąganie dodatnio naładowanych analitów.

W trzeciej pracy cyklu kontynuowano badania nad zastosowaniem ILs jako modyfikatorów faz ruchomych. Doktorantka przede wszystkim opisała mechanizmy zachodzące na powierzchni fenylowych faz stacjonarnych. Podczas opisywania wyników, wyciągnęła następujące wnioski: oddziaływania typu  $\pi$ - $\pi$  na fazach stacjonarnych z ugrupowaniem fenylowym sprawiają, że efekt ILs dla tego rodzaju faz stacjonarnych był silniejszy niż dla kolumn wypełnionych fazami alkilowymi; obecność atomów fluoru w fazie pentafluorofenyłowej powodowała dodatkowe interakcje z kationami ILs i w konsekwencji większe zmiany w retencji analitów niż w przypadku faz fenyłowych; wpływ ILs na fenyłowe fazy stacjonarne powodował także zmiany w wartościach pozostałych parametrów chromatograficznych i podsumowując stwierdziła, że te parametry zależą od charakteru fizykochemicznego IL jak i rodzaju użytej fazy stacjonarnej.

W czwartej pracy cyklu opisała wykorzystanie ILs podczas etapu przygotowania próbek z zastosowaniem ekstrakcji typu MSPE, w których ILs zostały użyte jako materiały powlekające magnetyczne sorbenty NPs. Kluczową kwestią dla osiągnięcia wysokiej wydajności ekstrakcji wybranego analitu (epirubicyny) z próbek osocza była odpowiednia funkcjonalizacja NPs determinująca ich pojemność sorpcyjną. Na podstawie eksperymentów, wykazała że: ILs mogą być stosowane do powlekania NPs, najkorzystniej jeśli ich struktury są oparte na kationach z

długimi łańcuchami alkilowymi; podczas optymalizacji procedury z udziałem ILs należy brać pod uwagę nie tylko długość łańcucha alkilowego kationu IL ale także ilość podstawników obecnych w jego strukturze; sposób mieszania roztworu reakcyjnego, rodzaj zasady strącającej NPs lub aktywację powierzchni magnetycznych rdzeni za pomocą 0,1 M HCl przed funkcjonalizacją wpływają na ostateczny profil fizykochemicznych właściwości przygotowanych sorbentów.

Podsumowując, mogę stwierdzić, że przeprowadzony przez Doktorantkę cykl badań naukowych umożliwił dostarczenie nowych danych na temat wpływu ILs na efektywność metod chromatograficznych i technik ekstrakcji, co znacznie poszerzyło i usystematyzowało dotychczasową wiedzę w obszarze ich aplikacji w naukach farmaceutycznych.

Warto dodać, że przegląd prac w pełni potwierdza ich dobre opracowanie teoretyczne i doświadczalne oraz trafną ilustrację wywodów materiałami tabelarycznymi i graficznymi.

Przedstawione powyżej krótkie omówienie ocenianego cyklu publikacji oraz inne elementy naukowego życiorysu Autorki pozwalają na wyciągnięcie wniosku o znaczącym (w tak młodym wieku) dorobku naukowym i bardzo prawidłowym rozwoju kariery naukowej i tylko życzyć można jej kontynuacji oraz dalszych osiągnięć naukowych, do których Doktorantka wydaje się szczególnie predestynowana.

Biorąc powyższe pod uwagę, zgłaszam wniosek do Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o wyróżnienie ocenianej rozprawy, ponieważ moim zdaniem:

- reprezentuje bardzo wysoki poziom pod względem znaczenia, jakości i zakresu zawartych w niej badań;
- ma istotne walory poznawcze oraz możliwości wykorzystania jej wyników;
- wyniki zostały opublikowane w międzynarodowych czasopismach z listy filadelfijskiej, o uznanej renomie naukowej;
- we wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem.

Chyba teraz jest miejsce na omówienie drobnych edytorskich uchybień lub niejasności zawartych w opisie cyklu publikacji:

Na str. 26 Doktorantka napisała „Wpływ dodatku ILs na przebieg rozdzielen chromatograficznych oceniono na podstawie zmiany 26 wartości następujących parametrów chromatograficznych: czas retencji ( $t_R$ ), pole powierzchni piku ( $A$ ), liczba pól teoretycznych ( $NA$ ) oraz współczynnik asymetrii piku ( $T_f$ ), które wyznaczono dla wybranych antracyklin.”

Proszę o wyjaśnienie czy jest to współczynnik asymetrii piku czy też współczynnik ogonowania piku. A także:

- na str. 11 jest: „(...) ponieważ leki są często przyjmowane przez pacjentów (...)” powinno być „(...) ponieważ leki są często przyjmowane przez pacjentów (...);

- na str. 13 jest „(...) efektywność rozdzieleń chromatograficznych (...)”  
korzystniej byłoby użyć sformułowania „(...) selektywność rozdzielenia składników mieszanin (...)”;

- na str. 14 jest „Innym rozwiązaniem problemów separacyjnych w chromatografii może być zmiana składu fazy stacjonarnej (...)”

powinno być „Innym rozwiązaniem problemów separacyjnych w chromatografii może być zmiana rodzaju zastosowanej fazy stacjonarnej (...)”;

na str. 15 jest „(...) kontynuacja badań w zakresie modyfikacji przebiegu rozdzieleń chromatograficznych cytostatyków (...)”

powinno być: „(...) kontynuacja badań w zakresie modyfikacji przebiegu rozdzieleń chromatograficznych cytostatyków (...)”;


na str. 30 jest „W niniejszym badaniu wpływ ILs na fenyłowe fazy stacjonarne (...)”

powinno być „W niniejszym badaniu wpływ ILs na retencję analitów na fenyłowych fazach stacjonarnych”.

**Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi wystarczającą, merytoryczną podstawę do ubiegania się przez Panią mgr farm. Natalię Treder o stopień doktora nauk farmaceutycznych. Podsumowując niniejszą ocenę jestem głęboko przekonany, że rozprawa doktorska P. mgr farm. Natalii Treder i jej dorobek naukowy są na wysokim poziomie i spełniają ustawowe wymogi „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (tekst jednolity Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.) i dlatego wnoszę wniosek do Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego oraz powołanej przez nią Komisji Doktorskiej o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Lublin, 17 czerwca 2023 r.

Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
Zakład Chemii Fizycznej



Prof. dr hab. Tomasz Tuzimski  
Prof. dr hab. Tomasz Tuzimski