



UNIwersYTET  
MIKOŁAJA KOPERNIKA  
W TORUNIU  
Wydział Farmaceutyczny  
Collegium Medicum w Bydgoszczy

**Prof. dr hab. Michał Piotr Marszałł**

**KATEDRA CHEMII LEKÓW**  
ul. Dr Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz,  
tel. +48 52 585 35 32, fax. +48 52 585 35 29  
e- mail: mmars@cm.umk.pl

Bydgoszcz, dn. 16.06.2023 r.

### Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Natalii Treder

*„Wpływ cieczy jonowych na efektywność metod chromatograficznych stosowanych do oznaczania leków cytostatycznych”*

wykonanej pod kierunkiem promotora dr hab. Aliny Plenis,

na Wydziale Farmaceutycznym

Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Ciecze jonowe ze względu na specyficzne właściwości fizyczne i chemiczne są od wielu lat w centrum zainteresowania w różnych obszarach chemii. O ile cały czas toczą się na ich temat dyskusje dotyczące spełnienia postulatów „zielonej chemii”, faktem jest ich coraz większe zastosowanie jako alternatywa dla lotnych rozpuszczalników organicznych szczególnie w technologii chemicznej związków organicznych. Ostatnie dwie dekady to również podjęcie prób zastosowania cieczy jonowych w technikach separacyjnych, w tym głównie chromatografii i elektroforezie jak również w procedurach przygotowania próbek do analizy. W tym obszarze także podejmuje się kroki mające na celu modyfikację technik analitycznych odpowiadające znacznej redukcji zużycia elewentów – rozpuszczalników. Powyższa tematyka wpisuje się w badania zrealizowane przez panią mgr Natalię Treder w Katedrze i Zakładzie Chemii Leków a obecnie w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej, Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w ramach rozprawy doktorskiej, której promotorem jest Pani dr hab. Alina Plenis.

Rozprawa doktorska stanowi cykl 4 publikacji (w tym jedna przeglądowa) o łącznym współczynniku IF wynoszącym 22, w których doktorantka jest główną autorką. Cykl publikacji został poprzedzony opisem liczącym 55 stron, który zawiera m. in. dorobek naukowy mgr Natalii Treder, wykaz skrótów, wstęp i cel pracy oraz omówienie załączonych publikacji.

Cykl otwiera praca przeglądowa w czasopiśmie (*Molecules*, 2020), która podsumowuje doniesienia naukowe dotyczące zastosowania cieczy jonowych w różnych technikach separacyjnych, w tym również w przygotowaniu próbek do analizy. Doktorantka słusznie zwróciła uwagę na fakt dużego zróżnicowania cieczy jonowych, stąd istotne znaczenie miało wprowadzenie ich klasyfikacji z uwagi na właściwości chemiczne, fizyczne i biologiczne oraz strukturę. Obszerny przegląd literatury pod tym kątem pozwolił nakreślić kierunek dalszych badań.

W kolejnej publikacji (*Journal of Chromatography A*, 2021), doktorantka rozpoczęła badania nad doбором odpowiednich warunków procesu chromatograficznego analizowanych cytostatyków. W tym celu porównała wpływ dodatku różnych cieczy jonowych jako dodatków do fazy ruchomej na różne parametry: czas retencji, kształt piku, sprawność kolumny i in. Ciekawą częścią publikacji jest zbadanie i propozycja wyjaśnienia mechanizmów separacyjnych pomiędzy powierzchnią oktadecylokrzemionkowej fazy stacjonarnej w obecności cieczy jonowych o zróżnicowanym kationie i anionie. W literaturze naukowej od ponad dwóch dekad trwa dyskusja na temat wpływu i wyjaśnienia mechanizmu działania ww. cieczy na m.in. separację chromatograficzną i elektroforetyczną, różnicując jednocześnie wpływ kationu i anionu. Doktorantka w oryginalny sposób interpretuje specyficzne oddziaływania zgodnie z założeniami szeregu Hofmeistera co w przyszłości może ułatwić predykcję procesu chromatograficznego wybranych leków. Analizując ww. publikację nasuwają się pytania:

- doktorantka wytypowała 17 różnych cieczy jonowych do badań, które były dostępne komercyjnie. Czy ww. ciecze charakteryzowały się względnie wysoką czystością?

- modyfikacja fazy ruchomej polegała na dodaniu wybranej cieczy jonowej do wodnego składnika fazy (str 25). Czy w związku z tym, dodatek cieczy zawierających kation 1-octylo-3-metyloimidazoliowy nie stanowił problemu pod kątem rozpuszczalności?

- ponowna analiza chromatograficzna HPLC („nastryk”), szczególnie kiedy porównuje się różne dodatki do fazy ruchomej o nie do końca poznanym mechanizmie, powinna być poprzedzona odpowiednim czasem kondycjonowanie kolumny chromatograficznej. Czy

doktorantka zauważyła konieczność dłuższego kondycjonowania kolumny i czy widoczny był spadek sprawności kolumny po dłuższym stosowaniu ww. modyfikatorów fazy ruchomej?

Otrzymane wyniki doktorantka wykorzystała do dalszych etapów badań, które zostały opisane w czasopiśmie *Microchemical Journal* (2022). Doktorantka przeprowadziła badania porównawcze obserwując znacznie większą retencję antybiotyków antracyklinowych w przypadku użycia kolumny z wypełnieniem fenyłowym oraz pentafluorofenyłowym. Biorąc pod uwagę powyższe słusznie zauważyła, że badane fazy stacjonarne stanowią cenną alternatywę w przypadku problemów separacyjnych na fazach alkilowych. Wiąże się to niestety z koniecznością użycia fazy ruchomej o większej sile elucji - rozpuszczalnika organicznego. Przeprowadzone badania z użyciem różnych cieczy jonowych wykazały ich silny wpływ na zmianę retencji analizowanych związków. Ciekawe wnioski dotyczą zaproponowania klasyfikacji anionów i kationów cieczy jonowych pod kątem zmian w retencji analizowanych związków. Doktorantka słusznie na koniec wnioskuje, że zastosowanie układu chromatograficznego opartego na rzadziej stosowanej fazie fenyłowej (lub pochodnej) oraz dodatkiem cieczy jonowej może rozszerzyć jej potencjał aplikacyjny.

W czwartej publikacji (*Analytical Chemistry*, 2022) opisuje wykorzystanie cieczy jonowych w magnetycznej ekstrakcji do fazy stałej (MSPE). Poprzez wybranie odpowiedniej metody otrzymania rdzeni magnetycznych następnie powlekania i ich funkcjonalizacji, doktorantka uzyskała układ pozwalający na osiągnięcie o wysokiej wydajności ekstrakcji epirubicyny z osocza. Podobnie jak w poprzednich publikacjach udowodniła wpływ cieczy jonowych powlekających rdzenie na wydajność procesu ekstrakcji. Do krytycznych parametrów wpływających na jego efektywność zalicza się: długość łańcucha alkilowego na kationach oraz ilość podstawników w jego strukturze. Po lekturze publikacji nr 4 nasuwają się pytania:

- ponieważ rdzenie magnetyczne pokrywane były cieczami jonowymi na zasadzie adsorpcji- czy w związku z tym można ocenić trwałość takich połączeń/układu? Proces desorpcji/elucji epirubicyny zachodził pod wpływem acetonitrylu – czy traktowanie rozpuszczalnikiem organicznym pozwala na wielokrotne użycie tego samego układu do ponownej ekstrakcji?

Reasumując wnioski, doktorantce w opublikowanych pracach udało się potwierdzić duży potencjał cieczy jonowych jako modyfikatorów usprawniających proces chromatograficzny oraz ekstrakcyjny wybranej grupy leków cytostatycznych. Zapoznając się z

lekturą dysertacji z całą stanowczością stwierdzam, iż doktorantka umiejętnie wykorzystała zaoferowany jej potencjał naukowy oraz infrastrukturę naukową jednostki. W swojej pracy oprócz metod chromatograficznych, korzystała z analiz wykorzystujących m.in. termograwimetrię, dyfrakcję rentgenowską czy też transmisyjną mikroskopię elektronową a z uzyskanych wyników poprawnie wyciągała wnioski co zostało potwierdzone ich publikacją w międzynarodowych czasopismach naukowych. Moją uwagę zwraca brak załączonych oświadczeń wkładu współautorów publikacji przedstawionych jako cykl w rozprawie. Jednak nie stanowi to problemu w całościowej ocenie i wkładzie doktorantki w powstanie rozprawy doktorskiej, gdyż opis udziału współautorów w powstaniu poszczególnych publikacji został w nich opisany zgodnie z wymogiem ww. czasopism. Natomiast jej pierwsze autorstwo we wszystkich czterech publikacjach włączonych do cyklu świadczy o jej wiodącej roli w ich powstaniu.

W mojej ocenie praca doktorska mgr Natalii Treder spełnia wymagania stawiane przez obowiązujące przepisy i tym samym wnoszę o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego celem uzyskania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne. Z uwagi na wysoki poziom rozprawy doktorskiej potwierdzony publikacją jej wyników w czterech czasopismach o łącznym współczynniku IF= 22 wnoszę o jej wyróżnienie.

Kierownik  
Katedry Chemii Leków  
  
prof. dr hab. Michał Marszał