



UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W
POZNANIU

KATEDRA I ZAKŁAD FARMACJI FIZYCZNEJ I FARMAKOKINETYKI

Adres: ul. Rokietnicka 3
60-806 Poznań
mkaraz@ump.edu.pl

tel. (61) 641-83-65

Poznań 2022-03-11

RECENZJA

pracy doktorskiej wykonanej przez mgr farmacji Martę Janczurę

pt: „Molekularnie drukowane sorbenty w oznaczaniu wybranych związków biogennych”

Wybór odpowiedniej metody izolacji substancji biogennej z matrycy odgrywa kluczową rolę w procesie przygotowania próbek do oznaczeń z użyciem metod analitycznych. Jest to związane z koniecznością dokładnego i precyzyjnego oznaczenia stężeń wyizolowanych analitów w obecności szeregu związków interferujących obecnych w próbkach rzeczywistych, co w konsekwencji ma wpływ na przebieg i wyniki dalszych badań. Obecnie wybór odpowiedniej metody izolacji substancji biogennych z matrycy uzależniony jest nie tylko od właściwości fizykochemicznych izolowanych związków, lecz także od prostej procedury, niskich kosztów oraz przyjazności dla środowiska. Praca doktorska mgr Marty Janczury wykonana pod kierunkiem dr. hab. Piotra Lulińskiego oraz dr Moniki Sobiech w Zakładzie Chemii Organicznej Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, dotycząca wykorzystania selektywnych sorbentów w procesie ekstrakcji do fazy stałej (SPE) wybranych biomolekuł wpisuje się doskonale w nowoczesny nurt badań mających na celu specyficzną i selektywną izolację badanej substancji ze złożonych próbek rzeczywistych, przy jednoczesnym zmniejszeniu kosztów oznaczeń i szkodliwego wpływu na środowisko przez mniejsze zużycie rozpuszczalników organicznych.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska liczy 159 numerowanych stron i zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz stosowanych skrótów, teoretyczne wprowadzenie do badanej tematyki, artykuły będące integralną częścią rozprawy wraz z komentarzem oraz podsumowanie i wnioski. Co bardzo cenne, dołączono

także informacje o dorobku naukowym Autorki, uwzględniające spis publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, publikacji spoza cyklu oraz prezentacji konferencyjnych. Wyniki przeprowadzonych przez mgr Janczurę badań udokumentowano w czterech spójnych tematycznie publikacjach, wśród których jedna ma charakter pracy pogładowej, a trzy to prace oryginalne opublikowane w międzynarodowych czasopismach, posiadających wysokie współczynniki oddziaływania *Impact Factor* 3,623 – 5,923. Elementem łączącym wszystkie publikacje są molekularnie drukowane sorbenty (MIPs) i ich wykorzystanie do oznaczania wybranych związków biogennych w matrycy biologicznej i spożywczej. Do rozprawy dołączono oświadczenia Doktorantki oraz współautorów opublikowanych manuskryptów. Wynika z nich, że udział p. mgr Marty Janczury w przygotowaniu tych prac był znaczący (30–55%) i obejmował realizację szeregu zadań badawczych, a także udział w interpretacji wyników i przygotowaniu manuskryptów.

Wybór tematu pracy i cele badawcze zostały jasno sprecyzowane w rozdziale trzecim. Doktorantka postawiła sobie ambitne zadanie przeprowadzenia szeregu badań obejmujących nie tylko zaprojektowanie i syntezę polimerów oraz analizę ich właściwości morfologicznych i fizykochemicznych, lecz także sprawdzenie użyteczności tych polimerów jako materiałów sorpcyjnych w technice SPE i ich wykorzystanie w metodyce oznaczania modelowych związków biogennych (kwasu 4-hydroksy-3-nitrofenylooctowego - NHPA i tyraminy) w próbkach rzeczywistych. Tak szeroki zakres badań świadczy o bardzo dobrej znajomości różnych technik analitycznych i umiejętności ich wykorzystania do założonych celów badawczych.

W rozdziale czwartym, będącym teoretycznym wprowadzeniem w podjętą tematykę badań, Doktorantka przedstawiła zagadnienia dotyczące etapów, mechanizmów i problemów związanych z syntezą MIPs. Opisała charakterystykę i działanie farmakologiczne wybranych modelowych związków biogennych, metody ich oznaczania w różnych matrycach oraz znaczenie kliniczne monitorowania ich stężeń zarówno w matrycy biologicznej, jak i spożywczej. Doktorantka trafnie wykorzystała przedstawione powyżej zagadnienia teoretyczne do podkreślenia zasadności przeprowadzonych w ramach ocenianej rozprawy doktorskiej badań. Rozdział ten zawiera również omówienie metodyki stosowanej w poszczególnych etapach pracy z uwzględnieniem procesów syntezy badanych materiałów sorpcyjnych, analizy fizykochemicznej, czy oceny stężeń badanych związków w próbkach rzeczywistych. Należy tutaj podkreślić, że do realizacji części badawczej Doktorantka wykorzystwała wiele nowoczesnych i różnorodnych technik analitycznych (m.in. LC-MS/MS, skaningową i transmisyjną mikroskopię elektronową,

mikroskopię sił atomowych, spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera, spektroskopię fluorescencyjną, czy spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego w ciele stałym).

Pierwsza praca ujęta w rozprawie doktorskiej to publikacja pogładowa, w której Doktorantka przedstawiła wyniki przeglądu piśmiennictwa dotyczącego różnych technik stosowanych w syntezie i analizie MIPs. Praca ta stanowi bogate kompendium wiedzy na temat różnorodnych możliwości zastosowania MIPs jako sorbentów w metodach analitycznych przeznaczonych do analizy próbek klinicznych, spożywczych i środowiskowych. Dowodzi również tego, że MIPs zyskują coraz większą popularność i uznanie jako użyteczne narzędzie do izolacji substancji ze złożonych matryc. Co bardzo cenne, Autorka zwróciła uwagę na pewne ograniczenia MIPs i konieczność optymalizacji procesów ich syntezy, a także wskazała kierunki przyszłych badań nad tym typem materiałów sorpcyjnych. Informacje zawarte w publikacji P-1 zostały częściowo przedstawione w rozdziale czwartym. Szkoda jednak, że publikacja ta nie została omówiona szerzej w rozdziale 5, razem z innymi pracami wchodzącymi w skład cyklu, ponieważ zebrane przez Autorkę dane literaturowe, i wyciągnięte na ich podstawie wnioski są bardzo interesujące i zwracają uwagę na celowość podjętych badań, których rezultatem są prace oryginalne.

Kolejne dwie publikacje to prace badawcze, dotyczące optymalizacji syntezy MIPs drukowanych NHPA, analiza otrzymanego materiału sorpcyjnego i zastosowanie go w procesie SPE badanego analitu z moczu. W pracach tych omówiono wyznaczone dla uzyskanych polimerów wyniki analizy adsorpcji NHPA i dokonano ich charakterystyki fizykochemicznej potwierdzającej strukturę, morfologię i skład materiału. Zdolność otrzymanych polimerów jako sorbentów do ekstrakcji NHPA potwierdzono z wykorzystaniem modelowej próbki sztucznego moczu oraz próbki rzeczywistej moczu ludzkiego. Jednak nie do końca wiadomo, jakiej próbki moczu ludzkiego użyto, gdyż w opisie publikacji P-3 na str. 41 podano, iż oznaczono NHPA w moczu dziesięcioletniego chłopca ze zdiagnozowanym zespołem Aspergera, natomiast takiej informacji nie znalazłam w samej publikacji. W zamian za to, na str. 8441 publikacji P-3 jest informacja, że mocz pochodził od zdrowego ochotnika płci żeńskiej. Nie ma też informacji czy badania z wykorzystaniem materiału biologicznego, jakim niewątpliwie są próbki moczu ludzkiego, uzyskały zgodę komisji bioetycznej. Wg mnie bardzo ważnym osiągnięciem tej części badań było potwierdzenie możliwości zastosowania zaprojektowanego sorbentu do analizy konwersji HPA do NHPA w badaniach mechanizmu tego procesu. Jak zauważa Doktorantka, ze względu na to, że HPA jest metabolitem tyraminy obecnej w wielu

produktach spożywczych, proces ten może stanowić ważny problem kliniczny ze względu na wzrost NHPA w moczu. Ta ważna obserwacja była podstawą do podjęcia badań opisanych w publikacji P-4, które obejmowały skonstruowanie magnetycznego molekularnie drukowanego sorbentu do oznaczania tyraminy w próbkach spożywczych i wykorzystanie go w metodyce oznaczania tego związku metodą LC-MS/MS. Warto zauważyć, że opracowana i zwalidowana przez Doktorantkę metoda oznaczania tyraminy w piwie jest nowatorska i oryginalna i nie została wcześniej opisana w literaturze.

Do rozprawy dołączono bibliografię, obejmującą 74 pozycje, głównie w postaci publikacji zagranicznych z kilku ostatnich lat i źródeł internetowych, które zostały dobrze dobrane i w sposób wyczerpujący wyjaśniają podstawy teoretyczne podjętych badań.

Praca napisana jest poprawnie pod względem stylistycznym i gramatycznym. Zastosowane metody badawcze są nowoczesne i zostały trafnie dobrane do rodzaju zadań badawczych i wyznaczonego celu. Wyniki badań przedstawiono w publikacjach nią objętych w postaci przejrzystych tabel i rycin. Zostały one poprawnie zinterpretowane i skomentowane w odniesieniu do danych literaturowych.

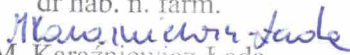
Po zapoznaniu się z przedstawioną do recenzji rozprawą, nasunęły mi się dodatkowe uwagi i pytania:

1. W wykazie skrótów na str. 9 błędnie rozwinięto skrót „GC-MS” jako elektroforeza kapilarna sprzężona ze spektrometrią mas”. Powinno być: „chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas”.
2. Stwierdzenie ze str. 23 „Proces SPE jest bardzo często używany w analizie związków biogennych w celu ich oznaczania za pomocą metod analitycznych” jest nieprecyzyjne i wg mnie powinno brzmieć: „Proces SPE jest bardzo często używany w analizie związków biogennych w celu ich izolacji z matrycy w procesie przygotowania próbek przeznaczonych do oznaczania za pomocą metod analitycznych”
3. Na str. 32 zamiast: „Międzynarodowa Konfederacja ds. Harmonizacji” powinno być: „Międzynarodowa Rada Harmonizacji Wymagań Technicznych dla Rejestracji Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi”.
4. W publikacji P-2, do ekstrakcji NHPA z próbki sztucznego moczu przy użyciu zaprojektowanego sorbentu wykorzystano roztwór analitu o stężeniu 150 µg/l. Czym kierowano się wybierając to stężenie? Czy sprawdzono stopień adsorpcji NHPA z próbek o innych stężeniach analitu?

Przedstawione uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej pracy, która jest ambitna i nowatorska, a zawarte w niej dane i sposób analizy świadczą o dużej wiedzy i umiejętnościach Doktorantki, nie tylko w zakresie prowadzenia badań z wykorzystaniem różnorodnych metod analitycznych, ale także analizy uzyskanych wyników.

Podsumowując, recenzowana praca jest oryginalna i dostarcza wielu wartościowych danych dotyczących możliwości zastosowania zaawansowanych materiałów sorpcyjnych w procesach przygotowania próbki do analizy. Stanowi ona twórczy wkład Doktorantki w rozwój nowoczesnych metod analitycznych z użyciem wysoko selektywnych i specyficznych technik izolacji analitów z matrycy biologicznej i spożywczej. Rozprawa doktorska spełnia kryteria określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789). W związku z powyższym wnioskuję o dopuszczenie mgr Marty Janczury do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dodatkowo, proponuję wyróżnić przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską ze względu na wysoki aplikacyjny charakter przeprowadzonych badań. O ich wartości świadczy również fakt, że zostały opublikowane w specjalistycznych czasopismach z bazy JCR o sumarycznym współczynniku oddziaływania $IF = 18,048$ i punktacji $MNiSW = 180$.

dr hab. n. farm.

M. Karażniewicz-Łada