



UNIwersYTET
WARSAWski

Wydział Chemii



Warszawa, 14.02.19

dr hab. Magdalena Biesaga

Wydział Chemii

Recenzja rozprawy doktorskiej **magister inżynier Marty Zezuli**
pt „**Opracowanie metod określenia profilu zanieczyszczeń wybranych prostaglandyn**”

Rozprawa doktorska mgr inż. Marty Zezuli napisana pod kierunkiem prof. dr hab. Katarzyny Kozak i dr hab. Wiolety Maruszek, dotyczy problematyki analizy śladowych zanieczyszczeń w trakcie produkcji nowych leków. Problematyka podjęta w ramach pracy doktorskiej jest istotna dla kontroli składu nowych leków zawierających pochodne prostaglandyn oraz identyfikację zanieczyszczeń powstających w procesie produkcji jak również w procesie starzenia. Obecność tych zanieczyszczeń może obniżać działanie substancji aktywnej, bądź powodować niekorzystne działania uboczne na organizm pacjenta.

Rozprawa została przedstawiona na 137 stronach i składa się z części literaturowej (30 stron), części eksperymentalnej zawierającej wyniki badań własnych wraz z ich interpretacją (107 stron). Końcowa część manuskryptu zawiera wnioski (2 strony) i zbiór cytowanej literatury - 130 pozycji. Rozprawa zawiera również, umieszczony na początku, wykaz niektórych skrótów stosowanych w rozprawie.

Autorka postawiła sobie za cel opracowanie nowych procedur analitycznych wybranych pochodnych prostaglandyn będących aktywnymi substancjami leczniczymi (API) z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją UV-VIS oraz z detekcją mas. Spektrometr mas był wykorzystywany przede wszystkim do identyfikacji zanieczyszczeń



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Chemii



powstających podczas produkcji lub testów starzeniowych tych związków. Tematyka pracy podjęta przez p. mgr inż. Martę Zezulę jest aktualna i otrzymane wyniki powinny mieć duże znaczenie praktyczne.

W pierwszym rozdziale części literaturowej rozprawy doktorantka bardzo skrótowo omówiła zagadnienia dotyczące zastosowania prostaglandyn w okulistyce i kosmetyce. Przedstawione zostały schematy syntezy analogów prostaglandyn oraz schematy reakcji powstawania różnych zanieczyszczeń. Następny rozdział poświęcony jest opisowi metod analitycznych stosowanych do oznaczania czystości wybranych analogów prostaglandyn oraz ich metabolitów. Autorka zebrała różne opisane w literaturze metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej w Tabelach I.3.1.1, I.3.2.1, I.3.3.1 jednakże w pracy zabrakło komentarza do przedstawionych metod. Nie zostały w żaden sposób porównane i w konsekwencji czytający nie wie dlaczego wobec tak licznych już opracowanych metod konieczne jest opracowanie nowych co jest celem głównym celem rozprawy.

Następny rozdział dotyczy opracowania i walidacji metody chromatograficznej. W tej części brakuje większej ilości odniesień do istniejących już metod chromatograficznych dotyczących oznaczania prostaglandyn. Zamiast tego można znaleźć bardzo zdawkowe informacje o wypełnieniach faz stacjonarnych i rodzajach eluentów stosowanych w HPLC. Rysunki II.3.1.2 i II.3.1.3 nie mają cytowań do oryginalnych źródeł, co nie powinno się zdarzyć w rozprawie naukowej. Na stronie 21 przedstawione są wzory dotyczące obliczeń rozdzielczości, współczynnika retencji k (a nie jak mylnie zaznacza Doktorantka k') oraz liczby pól teoretycznych N . Niestety w przedstawionych wzorach błędnie określona jest szerokość pików. We wzorze na rozdzielczość szerokość pików jest mierzona w połowie wysokości, a we wzorze na liczbę pól teoretycznych przy podstawie, a nie tak jak zrobiła to Doktorantka.

W następnym rozdziale Autorka definiuje już cel rozprawy. Jest to o tyle zaskakujące, że nie zostały omówione ograniczenia dotychczasowo używanych metod. W związku z czym nie wyjaśnione zostało dlaczego istnieje konieczność opracowania nowych metod. Mimo tych ewidentnych braków cel pracy jest jasno i dobrze zdefiniowany.

W rozdziale IV została opisana wykorzystana aparatura, kolumny i odczynniki stosowane w badaniach własnych.



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Chemii



Wyniki prac eksperymentalnych mgr inż. Marta Zezula przedstawiła w rozdziale V. Doktorantka opisując opracowane metody wyniki przedstawia w Tabelach i w postaci nałożonych na siebie chromatogramów. Szkoda, że porównując różne warunki rozdzielania Doktorantka nie posłużyła się porównaniem wcześniej zdefiniowanych parametrów np. liczby półek teoretycznych N czy współczynnikiem asymetrii piku A_s . Przedstawienie wykresów z takimi parametrami otrzymanymi dla różnych kolumn chromatograficznych i przy różnym składzie eluentu pokazałoby ogrom pracy eksperymentalnej, który niewątpliwie Doktorantka wykonała. Brak takich zależności bardzo obniża jakość pracy, bo lakoniczne stwierdzenia, że np. „dodatek kwasu fosforowego pozytywnie wpłynął na symetrię piku” (str. 40) co czytający może zauważyć tylko na podstawie chromatogramu jest mało przekonującym dowodem w pracy naukowej. W Tabeli V.1.1.2 po raz pierwszy pojawia się nigdzie wcześniej niezdefiniowany parametr RRT. Należałoby jednak najpierw wyjaśnić co oznacza ten skrót, w jaki sposób się go wyznacza i dlaczego ten parametr jest stosowany zamiast współczynnika retencji. W Tabeli V.1.2.1 umieszczone są wyniki czystości analizowanych próbek LA-5. W tej Tabeli przedstawiony jest procentowy udział zanieczyszczeń oraz procentowa zawartość zanieczyszczeń nie zaś procentowa zawartość LA-5. Ponieważ w tekście Doktorantka nie komentuje zaprezentowanych wyników to czytający musi się domyślać o co chodziło Autorce. W następnym rozdziale p. mgr inż. Zezula opisuje wyniki badań identyfikacji zanieczyszczeń LA-5 przy wykorzystaniu LC/MS/MS. Przeprowadzone analizy pozwoliły na zidentyfikowanie 3 zanieczyszczeń. Jednakże Doktorantka używa niewłaściwego słownictwa takiego jak widma masowe zamiast widma mas oraz błędnie stosuje jednostkę dalton jako jednostkę stosunku masy do ładunku (m/z) zamiast prawidłowej jednostki tomson (Th).

Kolejne rozdziały pracy przedstawiają wyniki optymalizacji rozdzielania i identyfikacji zanieczyszczeń bimatoprostu i trawaprostu. Autorka wnioskując po dość lakonicznych opisach wykonała bardzo wiele eksperymentów. Jednak ich wyniki zostały przedstawione jedynie w postaci trzech chromatogramów. Podobnie jak w uwagach do poprzedniej części zabrakło porównania parametrów chromatograficznych w trakcie metody doboru właściwej kolumny i optymalizacji składu eluentu.



UNIwersYTET
WARSAWski

Wydział Chemii



Kolejna część pracy zawiera wyznaczenie parametrów walidacyjnych opracowanych procedur analitycznych. Przedstawiono w niej również wyniki badań degradacyjnych La-5, bimatoprostu, trawaprostu.

Rozprawa doktorska została podsumowana w ostatnim rozdziale. Opracowane przez Doktorantkę metody są dość uniwersalne i pozwalają oznaczać badane substancje aktywne w obecności zanieczyszczeń w procesie kontroli syntezy jak i w gotowych produktach leczniczych. Wnioski podobnie jak reszta pracy są bardzo lakoniczne co niestety obniża wartość przedstawionej do oceny pracy. Dodatkowo, w pracy brakuje informacji o publikacjach wyników badań Autorki chociaż w bazie Web of Science można znaleźć informację, że część badań wchodzących w skład niniejszej rozprawy została już opublikowana w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

Rozprawa jest napisana poprawnym językiem, aczkolwiek Doktorantka bardzo skrótowo opisała swoje wyniki przedstawiając je głównie w Tabelach i na rysunkach. Taki sposób opisania wyników bardzo obniża ogólną wartość pracy. Widać, że mgr Marta Zezula przeprowadziła bardzo wiele pomiarów, które pozwoliły jej na opracowanie ostatecznych metod i zrealizowanie głównego celu rozprawy.

Podsumowując chciałabym podkreślić, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska p. mgr inż. Marty Zezuli prezentuje, zwłaszcza jeśli chodzi o sposób opracowania wyników walidacji opracowanych metod oznaczania badanych związków z uwzględnieniem metod statystycznych, dobry poziom i wnosi niewątpliwy wkład do badań nad identyfikacją zanieczyszczeń w próbkach pochodnych prostaglandyn. Przedstawione wcześniej krytyczne uwagi i zastrzeżenia pozwolą, mam nadzieję, unikać Autorce w przyszłości podobnych niedociągnięć.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa p. mgr inż. Marty Zezuli spełnia wymagania ustawowe stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę o Stopniach i Tytułach Naukowych i wnoszę o dopuszczenie Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

MPieł