



Poznań, 25.06.2022

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Mariki Ewy Turek pt. Wykorzystanie bioluminescencyjnych bakterii *A. fischeri* w badaniach ekotoksyczności ksenobiotyków jonowych i niejonowych

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Mariki Ewy Turek powstała w Instytucie Chemii Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego im. Jana Długosza w Częstochowie pod promotorstwem prof. dr. hab. Piotra Bałczewskiego i promotorstwem pomocniczym dr Ewy Różyckiej-Sokołowskiej.

Doktorantka postawiła sobie za cel rozprawy doktorskiej ocenę ekotoksykologiczną ksenobiotyków jonowych i niejonowych przy wykorzystaniu bakterii *A. fischeri* oraz opracowanie modeli QSAR pozwalających na przewidywanie ekotoksyczności tych związków przy zastosowaniu odpowiednich deskryptorów.

Cel ten był realizowany poprzez opracowanie metodyki umożliwiającej zbadanie słabo rozpuszczalnych związków niejonowych przy wykorzystaniu testu Microtox®; przeprowadzenie badań ekotoksykologicznych pojedynczych związków niejonowych oraz mieszanin wieloskładnikowych, a także całych formułacji farmaceutycznych; zidentyfikowanie oddziaływań antagonistycznych/synergistycznych występujących w badanych mieszaninach; przeprowadzenie badań ekotoksykologicznych amoniowych cieczy jonowych o potencjalnym działaniu herbicydowym; wyznaczenie deskryptorów elektronowych, termodynamicznych i strukturalnych dla amoniowych cieczy jonowych oraz antagonisty receptora angiotensyny II i analogów bifenylowych; a na końcu ocena zależności pomiędzy aktywnością wobec bakterii, a strukturą chemiczną z wykorzystaniem

technik statystycznych. Wyszczególnione cele cząstkowe wskazują, jak obszerna jest tematyka rozprawy doktorskiej.

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską stwierdzam, że postawiony cel został osiągnięty.

Mgr Marika Turek zawarła treść swoich badań w rozprawie doktorskiej liczącej 188 stron. Rozprawa składa się z części literaturowej, badań własnych, części eksperymentalnej, dorobku naukowego, zestawienia cytowanej literatury, spisu tabel, schematów i rysunków. Doktorantka na początku monografii na dwóch stronach zamieściła wykaz stosowanych skrótów.

W części literaturowej omówiła ksenobiotyki jonowe i niejonowe w środowisku, bakterie *A. fischeri* w badaniach ekotoksyczności ksenobiotyków oraz metody QSAR w ocenie ryzyka środowiska. Ta część pracy zajmuje 41 stron, co stanowi prawie 22% całej objętości monografii. Poruszane zagadnienia zapoznają czytelnika z tematyką rozprawy doktorskiej.

Do tej części mam następujące uwagi:

- Jak rozumieć serię amoniowych cieczy jonowych złożonych z różnej liczby kationów didecyldimetyloamoniowych (od 1 do 3) cytowaną na 30 stronie?
- Na str. 16 wymienione są nieorganiczne aniony cieczy jonowych, a wśród nich aniony: chlorkowy i bromkowy. Aniony te decydują o właściwościach czwartorzędowych soli (wysoka higroskopijność, temperatury topnienia często powyżej 100°C, łatwość do dysocjacji), dlatego czwartorzędowe chlorki czy bromki amoniowe są nazywane prekursorami cieczy jonowych. Natomiast przypisanie anionów  $PF_6^-$  i  $BF_4^-$  do anionów organicznych jest błędem.
- Jak rozumieć stwierdzenie zamieszczone na str. 16 – ciecze jonowe, jako substancje jonowe, charakteryzują się dobrą rozpuszczalnością w wodzie?

Najobszerniejszy rozdział monografii, zajmujący 38%, dotyczy badań własnych. Wydzielone zostały dwa podrozdziały. Pierwszy dotyczy użycia bakterii *A. fischeri* i testu Microtox w badaniach ekotoksyczności ksenobiotyków, a drugi opisu metod QSAR w ocenie ryzyka środowiskowego.

Doktorantka wykonała solidną pracę eksperymentalną uzyskując bogaty materiał, który został szczegółowo opisany. Przedmiotem badań były amoniowe ciecze jonowe oraz antagonisty receptora angiotensyny II i ich formułacje farmaceutyczne wraz z substancjami pomocniczymi zarówno pojedynczo, jak i w mieszaninie. Wybór związków był przemyślany i dobrze udokumentowany. Jestem pod wrażeniem zaprojektowania amoniowych cieczy jonowych i syntezowania wielu analogów najpopularniejszego totalnego

herbicydu – glifosatu. Są wśród nich chiralne i achiralne amoniowe ciecze jonowe, zawierające heteroatomy, atomy chloru i fluoru. Ich cechą wspólną jest czwartorzędowy atom azotu, a ładunek ujemny jest zlokalizowany na atomie tlenu.

Udowodniono, że syntezowane chiralne i achiralne czwartorzędowe sole amoniowe są całkowicie nietoksyczne dla bakterii *A. fischeri*. Wykazanie, że (*R*)-enancjomery są znacznie bardziej toksyczne niż analogiczne (*S*)-enancjomery jest zgodne z badaniami wykonanymi w mojej grupie badawczej. Odnotowaliśmy różnice w aktywności biologicznej w odróżnieniu do aktywności powierzchniowej, która nie jest wrażliwa na formy optyczne.

Badania ekotoksyczności z użyciem protokołu 81.9 Basic Test pozwoliły ustalić toksyczność amoniowych cieczy jonowych. Doktoranta opracowane wyniki badań ekotoksyczności i porównała z danymi literaturowymi dla kwasów chlorofenoksyoctowych i chlorofenoli, co jest cenną informacją przy projektowaniu nowych herbicydów.

Badania ekotoksyczności leków były możliwe przez opracowanie przez mgr Turek modyfikacji standardowego protokołu Microtox®. Zmodyfikowany test pozwolił na rzetelną ocenę ekotoksykologiczną słabo rozpuszczalnych farmaceutycznych substancji czynnych, zarówno w badaniach pojedynczych związków, jak i mieszanin. Do badań zostały wybrane najczęściej zażywane w Polsce leki z grupy ARBs (całe tabletki, jak i poszczególne substancje pomocnicze).

Zebrany i omówiony bogaty materiał doświadczalny pozwolił zawioskować, że problem bezpieczeństwa środowiskowego, związanego z substancjami pomocniczymi stosowanymi w farmacji, powinien zostać dokładnie przeanalizowany, szczególnie ze względu na fakt występowania interakcji między substancjami pomocniczymi a substancjami czynnymi. Jednocześnie wykazano dużą ekotoksyczność niektórych substancji pomocniczych stosowanych w komercyjnych formułacjach farmaceutycznych oraz istnienie szeregu efektów antagonistycznych i synergistycznych w badanych mieszaninach.

Wartościową częścią pracy jest próba korelacji pomiędzy budową badanych związków a ekotoksycznością. W przypadku amoniowych cieczy jonowych opracowano model QSAR przeznaczony do projektowania związków jonowych o małej toksyczności wobec organizmów wodnych, a dla leków na wczesną ocenę ryzyka środowiska związaną z obecnością ich w ekosystemie.

W ramach wykonanych obliczeń opracowano modele QSAR pozwalające na skorelowanie toksyczności wobec bakterii *A. fischeri* uwzględniające takie deskryptory, jak: moment dipolowy, energia termiczna i polaryzowalność w przypadku amoniowych cieczy jonowych, a dla antagonistów receptora angiotensyny II takie deskryptory, jak: energia wibracyjna punktu zerowego, refrakcja molowa, przerwa energetyczna oraz objętość molowa.

Według mojej wiedzy ta część obliczeniowa jest wykonana poprawnie. Wyniki tych obliczeń zostały opublikowane w wiodących czasopismach z tej tematyki.

Za najważniejsze osiągnięcia recenzowanej pracy uważam:

- zaplanowanie, syntezy i zidentyfikowanie amoniowych cieczy jonowych pochodnych glifosatu i określenie ich ekotoksyczności,
- opracowanie protokołu Microtox, który pozwolił na rzetelną ocenę ekotoksykologiczną słabo rozpuszczalnych farmaceutycznych substancji,
- wykorzystanie zmodyfikowanego protokołu Microtox do rzetelnej oceny ekotoksykologicznej słabo rozpuszczalnych pojedynczych, jak i mieszanin farmaceutycznych substancji,
- opracowanie modeli QSAR obejmujących toksyczności wobec bakterii *A. fischeri* dla amoniowych cieczy jonowych oraz antagonistów receptora angiotensyny II,
- powiększenie bazy danych ekotoksyczności amoniowych cieczy jonowych i leków.

Cytowane piśmiennictwo zostało zestawione w oddzielnym rozdziale zatytułowanym *Literatura*. Łącznie cytowane są 300 pozycje w sposób profesjonalny. Wybór publikacji jest uzasadniony.

Użyte w monografii nazewnictwo związków chemicznych jest zgodne z obowiązującymi kryteriami, jedynie pojawił się dwutlenek krzemu zamiast ditlenek krzemu, siarczan zamiast siarczan(VI), a nazwa chemiczna MCPA na str. 14 i 63 nie jest poprawna, natomiast poprawna w tabeli 13 na str. 73.

Przedmiot rozprawy doktorskiej jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego, o czym świadczy opublikowanie wyników w topowych czasopismach: *Medicinal Chemistry*, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, *Chemosphere*, *Ecotoxicology and Environmental Safety* (dwukrotnie), *Journal of Hazardous Materials* (dwukrotnie), *Potential*, *Molecular Pharmaceutics* i *Green Chemistry*. Łącznie jest 9 prac wieloautorskich, jednak Doktorantka jest pierwszym autorem w siedmiu z nich, a autorem korespondencyjnym w trzech. Ten wybitny dorobek naukowy uzupełniają dwa międzynarodowe zgłoszenia patentowe.

Doktorantka udowodniła, że potrafi planować eksperymenty, budować stanowiska badawcze i współpracować ze specjalistami z różnych dziedzin, a więc samodzielnie prowadzić prace naukowe.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest oryginalnym osiągnięciem badawczym, o znaczeniu zarówno podstawowym, jak i aplikacyjnym. Rozprawa spełnia wymagania ustawy w sprawie warunków i trybu przeprowadzania przewodów doktorskich i habilitacyjnych, wobec czego przedstawiam Radzie ds. Nadawania Stopni Naukowych i Stopni w Zakresie Sztuki Uniwersytetu Humanistycznego im. Jana Długosza w Częstochowie wniosek o dopuszczenie mgr Mariki Ewy Turek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy recenzowanej pracy, umiejętne zaprojektowanie i wykonanie obszernych badań oraz opublikowanie wyników badań w dziewięciu publikacjach w wiodących czasopismach naukowych takich jak: *Medicinal Chemistry*, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, *Chemosphere*, *Ecotoxicology and Environmental Safety* (dwukrotnie), *Journal of Hazardous Materials* (dwukrotnie), *Molecular Pharmaceutics* i *Green Chemistry* stawiam wniosek o wyróżnienie pracy doktorskiej. Doktorantów, którzy posiadają tak znaczący dorobek naukowy jest niewielu. Dodatkowo dorobek Doktorantki uzupełniają dwa międzynarodowe zgłoszenie patentowe.

Mgr Marika Ewa Turek wykonała pracę doktorską o znaczeniu zarówno podstawowym, jak i aplikacyjnym. Zamieściła informację o możliwości praktycznego zastosowania uzyskanych wyników badań w pracy doktorskiej.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Julian Turek', is written in a cursive style.