



Gdańsk, 2024-05-27

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pana mgr. Jakuba Maculewicza
wykonanej w Katedrze Analizy Środowiska Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego
pod kierunkiem Pani dr hab. inż. Anny Białk-Bielińskiej, prof. UG

Postępowanie w sprawie nadania stopnia doktora nauk chemicznych prowadzi Rada Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego według posiadanych uprawnień oraz wymaganych procedur i przepisów.

Zgromadzony przez Pana mgr. Jakuba Maculewicza dorobek publikacyjny będący podstawą cyklu pracy doktorskiej włącza siedem prac pełnotekstowych (przy czym cztery publikacje są pracami oryginalnymi). Rozprawa doktorska obejmuje dorobek publikacyjny przedstawiony jako spójny tematycznie zbiór artykułów opublikowanych w punktowanych czasopismach naukowych z IF. Cykl obejmuje publikacje przygotowane przez zespoły badaczy liczące 4-7 współautorów i zamieszczone w czasopismach o uznaniu międzynarodowym z sumarycznym IF = 62. Według bazy *Web of Science* publikacje budujące cykl pracy doktorskiej posiadają na dzień 27.05.2024 r. 91 niezależnych cytowań.

Cykl publikacji Pana mgr. Jakuba Maculewicza, składający się z opisanego powyżej zbioru artykułów, został zatytułowany: „Biokoncentracja związków chemicznych obdarzonych ładunkiem – analityka, ocena metodami *in vitro* oraz *in vivo*”. W przypadku sześciu publikacji Doktorant jest pierwszym autorem, w jednej (opublikowanej w *Science of the Total Environment* w 2021 r.) jest drugim autorem. Spójny pod względem tematycznym charakter zbioru artykułów wraz z dołączonymi oświadczeniami współautorów, potwierdzają wiodącą rolę Pana mgr. Jakuba Maculewicza w realizacji, założonej przez Promotora pracy doktorskiej Panią dr hab. inż. Annę Białk-Bielińską, prof. UG, koncepcji badawczej, wykonaniu prac

analitycznych i interpretacyjnych, oraz podczas przygotowania publikacji.

Zadania badawcze przedstawione w cyklu publikacji są właściwie sformułowane oraz systematycznie realizowane. Badania posiadają także wyraźną wartość poznawczą wnosząc wkład w rozwój nowoczesnej chemii analitycznej i analityki środowiskowej. Metodologia bazuje na sprawnie przeprowadzanej analizie z użyciem nowoczesnych technik analitycznych, włączających wykorzystanie zaawansowanych strategii analizy chemicznej, jak i metod przetwarzania danych. Cykl publikacji można podzielić na dwie części, w pierwszym rzędzie w część teoretycznej bazując na cennych, już obecnie wysoko cytowanych i bardzo wartościowych poznawczo publikacjach przeglądowych dotyczących szczegółowej charakterystyki zjawiska bioakumulacji, biokoncentracji i biomagnifikacji [publikacja P1 w *Science of the Total Environment* z 2020 r.] oraz ryzyka środowiskowego związanego z tymi zjawiskami i płynącego ze strony cieczy jonowych [publikacja P2 w *Journal of Hazardous Materials* z 2022 r.] i produktów transformacji leków [publikacja w *Science of the Total Environment* z 2022 r.]. W drugim rzędzie zaprezentowano wyniki prac oryginalnych: i) dotyczące oznaczania wybranych kationów cieczy jonowych [publikacja P4 w *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes* z 2024 r.]; ii) oceny powinowactwa do struktur biologicznych cieczy jonowych [publikacja P4 w *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes* z 2024 r.] oraz produktów transformacji leków określonych metodami *in vitro* [publikacja P5 w *Science of the Total Environment* z 2021 r.]; iii) oznaczania kationów alkilimidazoliowych cieczy jonowych [publikacja P6 w *Talanta* z 2023 r.] oraz iv) oceny biokoncentracji kationów alkilimidazoliowych cieczy jonowych w tkankach małży *Mytilus trossulus* [publikacja P7 w *Science of the Total Environment* z 2023 r.].

Koncentrując się na części eksperymentalnej pracy doktorskiej, Doktorant w pierwszym etapie prac badawczych uzyskał interesujące wyniki dotyczące powinowactwa cieczy jonowych do fosfolipidów błonowych. W celu lepszego poznania różnic w powinowactwie różnych cieczy jonowych, przeanalizowano 27 cieczy jonowych dokonując pośrednio przez to oceny potencjału do ich biokoncentracji. Wykorzystując testy *in vitro* (ang. *solid-support lipid membranes*, SSLMs), a następnie badania *in silico* (COSMOmic), Doktorant słusznie doszedł do wyciągnięcia wniosków potwierdzających, że w przypadku testowanych cieczy jonowych, większy potencjał do biokoncentracji posiadają kationy z długimi łańcuchami alkilowymi, ale także aniony zawierające układy perfluorowane. Porównanie wyników eksperymentalnych z modelem COSMOmic potwierdziło, że to narzędzie obliczeniowe może

być również przydatne we wstępnym wskazywaniu związków chemicznych o dużym potencjale do biokoncentracji. Całość rozważań przyjęto aktualnie (w 2024 r.) do druku w *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes* (IF = 3,4). Kluczowymi dla dalszych rozważań w tej części badawczej były także próby oceny potencjału biokoncentracji odnotowane dla produktów transformacji wybranych leków. W badaniach wykorzystano komercyjnie dostępne zestawy odczynnikowe (TRANSIL dla AGP, HSA oraz MA) potwierdzając założenie o niewielkim powinowactwie tych analitów do błon komórkowych. Za szczególnie wartościowe na tym etapie badań uważam przedstawioną, złożoną koncepcję badawczą popartą wynikami eksperymentalnymi i stosowną dyskusję wskazującą, że w procesach metabolicznych produkty transformacji wybranych leków mogą odgrywać rolę dodatkowe grupy funkcyjne o charakterze polarnym, które ograniczają potencjał do biokoncentracji. Uzyskane przez Pana mgr. Jakuba Maculewicza wyniki w tej części badań opublikowano w *Science of the Total Environment* (IF = 10,8) w 2021 r.

Bardzo dobre kwalifikacje analityczne Pana mgr. Jakuba Maculewicza znalazły wyraz w drugim etapie prac badawczych. Podjęto się próby zaproponowania metody ekstrakcji i oznaczania mieszaniny kationów alkiloimidazoliowych cieczy jonowych w tkankach małży *Mytilus trossulus*. Wydajną ekstrakcję uzyskano dzięki zastosowaniu oryginalnej i zoptymalizowanej metody opartej na ekstrakcji wspomagananej mikrofalami (ang. *microwave-assisted extraction*, MAE). Podkreślenia wymaga fakt samodzielnego przygotowania odpowiednio zaprojektowanych, złożonych eksperymentów, a wyniki badań opublikowano w *Talanta* (IF = 6,6) w 2023 r. Zwieńczeniem rozważań cyklu publikacyjnego i jednocześnie drugą publikacją dotyczącą badań na temat oznaczania mieszaniny kationów alkiloimidazoliowych cieczy jonowych w tkankach małży *Mytilus trossulus* jest praca potwierdzająca skuteczność analityczną powyższego rozwiązania. W wyniku przeprowadzonej analizy, uzyskano dużą powtarzalność procesu ekstrakcji, wysoki stopień oczyszczenia próbki, a także kompatybilność z nowoczesnym instrumentarium analityczno-separacyjnym. Wyrażam uznanie dla krytycznej interpretacji wyników sugerujących na podstawie przeprowadzonych badań *in vivo* z wykorzystaniem modelu biologicznego opartego na małży *Mytilus trossulus*, że kationy alkiloimidazoliowe cieczy jonowych o relatywnie długich łańcuchach bocznych mogą ulegać większej biokoncentracji w tkankach bezkręgowców morskich. Ocena efektów badań poparta analizą wybranych analitów doprowadziła do wartościowych, ale prawdopodobnie wciąż wymagających ostrożnej interpretacji wyników, wskazujących na potencjalne zagrożenie dla środowiska morskiego ze

strony cieczy jonowych, uwzględniając potrzebę także dla pogłębionych rozważań dotyczących np. wpływu stopnia zasolenia wody morskiej na zjawisko biokoncentracji. Wyniki badań opublikowano w *Science of the Total Environment* (IF = 9,8) w 2023 r.

W badaniach objętych zbiorem prac wchodzących w cykl pracy doktorskiej Pan mgr Jakub Maculewicz udowodnił bardzo dobre przygotowanie analityczne oraz w zakresie przetwarzania i interpretacji danych. Wykazał się umiejętnością racjonalnej, systematycznej realizacji założonych prac eksperymentalnych oraz sprawnością podczas przygotowania wyników badań do ich bezpośredniego opublikowania w piśmiennictwie specjalistycznym.

Wywiązując się z powierzonego obowiązku recenzenta, mam kilka pytań, które poddane dyskusji być może zaowocują perspektywicznie dalszym rozwinięciem opisywanej tematyki badawczej.

- 1) W pierwszym etapie prac badawczych, różne cieczy jonowe oznaczano z użyciem różnych warunków chromatograficznych, w tym także różnych kolumn chromatograficznych. Wskazuje na to np. Tabela S1 w *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes* z 2024 r. Czy można byłoby rozważyć w przeprowadzonych (lub przyszłych) badaniach unifikację metodologiczną dla wszystkich testowanych cieczy jonowych?
- 2) Ważność białek HSA i AGP w farmakokinetycznych badaniach powinowactwa leków jest niekwestionowana od lat w kontekście badania wiązania leków z białkami. Czy na podstawie przeprowadzonych doświadczeń z produktami transformacji leków przedstawionymi w *Science of the Total Environment* z 2021 r. można znaleźć ewentualną silniejszą korelację pomiędzy HSA vs. MA (powinowactwo błonowe, ang. *membrane affinity*) czy pomiędzy AGP vs. MA?
- 3) Ekstrakcja wspomagana mikrofalami (ang. *microwave-assisted extraction*, MAE) okazała się optymalną techniką ekstrakcji kationów alkilimidazoliowych cieczy jonowych w tkankach małży *Mytilus trossulus*. Pomimo wskazania szerokiego zakresu wyboru parametrów (do 150 stopni C i do 1200 W), zdecydowano się przetestować tylko dwie wartości temperatury (100 i 120 stopni C) oraz dwie wartości mocy (400 i 800 W) – Tabela 2 w *Talanta* z 2023 r. Decydujący najbardziej wydaje się ostatecznie odsetek użytego metanolu. Czy można jakoś wytłumaczyć ten efekt optymalizacyjny w racjonalny, chemiczny sposób?

- 4) Długołańcuchowe ciecze jonowe wykazują wysoki potencjał do biokoncentracji. Model zwierzęcy z użyciem małży *Mytilus trossulus* wykazał to w sposób jednoznaczny w ostatnim etapie badań. Najbardziej intrygujący w mojej opinii okazał się odwrotny efekt wzrostu zasolenia na biokoncentrację dwóch analizowanych cieczy jonowych. Jak słusznie zauważono – wymaga to dalszych badań. Czy mógłbym poprosić o przynajmniej zarys propozycji schematu takich badań, tak aby dowieść przyczyny obserwowanych różnic dla dwóch rozpatrywanych cieczy jonowej?

Podsumowując, zbiór publikacji przedstawiony przez Pana mgr. Jakuba Maculewicza ma rozpoznawalną pozycję naukową. Cykl prac Doktoranta posiada wyraźne elementy nowości naukowej w zakresie nowoczesnej analityki środowiskowej, chemii analitycznej i nauk separacyjnych. Praca doktorska swoją tematyką i zakresem materiału badawczego zasługuje na uwagę. Została ona dobrze zaprojektowana i wykonana, odzwierciedlając przy tym duży wkład pracy podczas opracowania danych pomiarowych. Biorąc powyższe pod uwagę, nie mam wątpliwości, że spełnione są wymagania, tak aby Rada Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego mogła podjąć uchwałę o dopuszczeniu Pana mgr. Jakuba Maculewicza do ostatniego etapu postępowania kwalifikacyjnego, czyli publicznej obrony. Ocenianą rozprawę proponuję równocześnie wyróżnić, ponieważ jestem przekonany, że, jak obecnie przedstawione, także i kolejne uzyskiwane wyniki badań będą publikowane w tak bardzo renomowanych, specjalistycznych czasopismach rangi międzynarodowej, jak to jest obecnie przedstawione w ocenianej pracy doktorskiej.

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej
prof. dr hab. Tomasz Bączek

Kierownik