



Gdańsk, 2024-09-13

Opinia
na temat kandydatury Pani mgr Jadwigi Musiał
do stopnia doktora nauk chemicznych

Postępowanie w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne prowadzi Rada Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu według posiadanych uprawnień oraz wymaganych procedur i przepisów.

Zgromadzony przez Panią mgr Jadwigę Musiał dorobek publikacyjny będący podstawą cyklu pracy doktorskiej włącza pięć publikacji (jedną pracę przeglądową, trzy prace oryginalne oraz jedno zgłoszenie patentowe). Rozprawa doktorska obejmuje dorobek publikacyjny przedstawiony jako spójny tematycznie zbiór publikacji opublikowanych (lub będących w trakcie recenzji) w punktowanych czasopismach naukowych z IF (wyłączając polskie zgłoszenie patentowe). Cykl obejmuje publikacje przygotowane przez zespoły badaczy liczące 3-7 współautorów w czasopismach o uznaniu międzynarodowym z sumarycznym IF = 20,356. Praca powstała w wyniku realizacji programu „Doktorat wdrożeniowy” w ramach zatrudnienia w Instytucie Genetyki Sądowej w Bydgoszczy, a badania były współfinansowane ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach projektu w Programie Operacyjnym Inteligentny Rozwój (POIR.01.01.01-00-0023/16) pt. „Opracowanie innowacyjnego testu Next Generation Drug Clear Test (NGDC Test) do wykrywania tzw. dopalaczy we włosach, krwi i moczu”.

Cykl publikacji Pani mgr Jadwigi Musiał, składający się ze spójnego tematycznie zbioru artykułów, został zatytułowany: „Nowe podejście w izolowaniu i identyfikacji związków psychoaktywnych (dopalaczy) w materiale biologicznym”. W dwóch publikacjach

Doktorantka jest pierwszym autorem. Spójny pod względem tematycznym charakter zbioru artykułów wraz z dołączonymi oświadczeniami współautorów, potwierdzają wiodącą rolę Pani mgr Jadwigi Musiał w realizacji, założonej – przez Promotora pracy doktorskiej Panią prof. dr hab. Renatę Gadzałę-Kopciuch z Katedry Chemii Środowiska i Bioanalitik Wydziału Chemii UMK w Toruniu z aktywnym wsparciem opiekuna naukowego z Instytutu Genetyki Sądowej w Bydgoszczy, Pana dr. n. med. Jakuba Czarnego – koncepcji badawczej, wykonaniu prac analitycznych i interpretacyjnych, oraz podczas przygotowania publikacji.

Zadania badawcze przedstawione w cyklu publikacji są właściwie sformułowane oraz systematycznie realizowane. Badania te posiadają także wartość poznawczą wnosząc wkład w rozwój nowoczesnej analityki chemicznej i toksykologii. Metodologia bazuje przy tym na sprawnie przeprowadzanej analizie z użyciem nowoczesnych technik analitycznych włączających wykorzystanie zaawansowanych strategii analizy biomedycznej i analityki chemicznej. Cykl publikacji został podzielony na dwie części dotyczące w pierwszym rzędzie szczegółowego przeglądu literatury, gdzie opisano problem nadużywania substancji psychoaktywnych należących do różnorodnych grup chemicznych oraz wzrost zainteresowania substancjami psychoaktywnymi, z podkreśleniem istotności praktycznej powstających metabolitów, które także powodować mogą wiele skutków ubocznych, co czyni je równie niebezpiecznymi dla zdrowia i życia już w niskich stężeniach. Opisane w pracy przeglądowej metody analityczne posłużyły jako wstęp do dalszych badań eksperymentalnych z użyciem matryc biologicznych (krew, mocz i włosy). Przygotowany przegląd literaturowy pozwolił na skuteczne podjęcie prac badawczych opisanych w kolejnych publikacjach stanowiących podstawę niniejszej rozprawy doktorskiej. W drugim rzędzie zaprezentowano wyniki badań dotyczących opracowania procedur analitycznych pozwalających na oznaczenie jak największej liczby substancji psychoaktywnych, leków i ich metabolitów w toku jednego postępowania analitycznego i w krótkim czasie w wyżej wymienionych matrycach biologicznych koncentrując się przy tym na: 1) opracowaniu efektywnych metod izolowania i rozdzielania wybranych analitów oraz 2) weryfikacji metodyki postępowania analitycznego w badaniach międzylaboratoryjnych wraz z wdrożeniem opracowanych metodyk analitycznych do rutynowych analiz w Instytucie Genetyki Sądowej w Bydgoszczy (co stanowi podstawę niniejszego doktoratu wdrożeniowego).

Doktorantka w pierwszym etapie prac badawczych skoncentrowała się na zastosowaniu metody z wykorzystaniem chromatografii cieczowej w połączeniu ze spektrometrem mas

(LC-MS). Celem tego badania było opracowanie metody analitycznej umożliwiającej oznaczenie jak największej liczby analitów zaliczanych do substancji psychoaktywnych/leków/ich metabolitów w próbkach włosów (przetestowano imponującą liczbę ponad 500 analitów), zakładając, aby opracowana metoda była nieskomplikowana i dawała możliwość łatwego dodania kolejnych analitów, których, jak słusznie zauważono w pracy, ciągle przybywa w handlu ulicznym. Za szczególnie wartościowe na tym etapie badań uważam przedstawioną koncepcję badawczą popartą wynikami eksperymentalnymi i stosowną dyskusję wskazującą, że opracowaną metodę można z powodzeniem zastosować do identyfikacji i oznaczania badanych związków w wybranych próbkach biologicznych włosów. Uzyskane przez Panią mgr Jadwigę Musiał wyniki pozwoliły nie tylko na racjonalną dyskusję na temat uwarunkowań analitycznych dla poszczególnych związków badanych, ale także na ocenę jakości dyskryminacyjnej opracowanej metody. Wyniki badań opublikowano w *Archives of Toxicology* (IF = 6,168). Ze względu na charakter zaproponowanej metodologii badawczej jest to oryginalne osiągnięcie naukowe, i słusznie, że Doktorantka (wspólnie z Promotorem i Opiekunem naukowym pracy doktorskiej) rozważyli wykorzystanie wypracowanej procedury w kontekście jej zastosowania w rutynowych analizach w Instytucie Genetyki Sądowej w Bydgoszczy. Niezależnie – pierwsza oryginalna praca cyklu rozprawy doktorskiej pozwoliła na właściwe zaplanowanie drugiego etapu pracy badawczej, czyli zaadoptowanie opracowanej procedury oznaczania badanych związków w wybranych próbkach biologicznych włosów do analiz, które mają być następnie realizowane w próbkach krwi. Opracowana procedura analityczna izolowania substancji psychoaktywnych z krwi (również przetestowano ogromną liczbę ponad 500 analitów) oraz ich oznaczania została także wprowadzona do rutynowych analiz w Instytucie Genetyki Sądowej w Bydgoszczy. Wyniki badań opublikowano w *Microchemical Journal* (IF = 5,304).

Bardzo dobre kwalifikacje analityczne Pani mgr Jadwigi Musiał znalazły wyraz także w drugim etapie badań. Podjęto się próby opracowania metodologii LC-MS oznaczania 465 substancji psychoaktywnych i ich metabolitów w próbkach moczu. Ciekawe, że biorąc pod uwagę wyniki otrzymane dla próbek krwi, w przypadku próbek moczu również zdecydowano się na zastosowanie przygotowania próbek z użyciem LLE. Podkreślenia wymaga fakt samodzielnego przygotowania odpowiednio zaprojektowanych eksperymentów wraz z ich szczegółową realizacją i interpretacją. Wyrażam uznanie dla krytycznej interpretacji wyników sugerujących możliwość zaproponowania i użycia metody podczas rutynowych analiz w Instytucie Genetyki Sądowej w Bydgoszczy. Ocena wyników doprowadziła do

wartościowych wyników, uwzględniając proces walidacji zgodnie z wytycznymi SWGTOX. Wyniki badań są w trakcie ich opublikowania w *Analytical Methods* (IF = 2,7).

Zwieńczeniem rozważań cyklu publikacyjnego, jednocześnie otwierając cykl rozprawy doktorskiej, jest praca przeglądowa wydana w *Critical Reviews in Toxicology* (IF = 6,184) opisująca szeroki problem społeczny oraz zagadnienia analityczne w obszarze tematyki związanej z substancjami psychoaktywnymi. Opisano metabolizm oraz możliwości identyfikacji tych związków w preparatach i materiale biologicznym. Jest to dobre wprowadzenie w dalsze prace badawcze dotyczące tzw. „dopalaczy”. Ogólnej charakterystyce pochodnych psychoaktywnych towarzyszą ciekawe i bardzo szczegółowe rozważania na temat metodologii ich oznaczeń analitycznych. Cennym, istotnym z punktu widzenia celów rozprawy doktorskiej, było scharakteryzowanie metod analitycznych służących podczas ekstrakcji i oznaczania pochodnych psychoaktywnych. Ostatecznym uzupełnieniem pracy doktorskiej jest polskie zgłoszenie patentowe na temat sposobu wykrywania rozważanych substancji psychoaktywnych.

W badaniach objętych zbiorem prac wchodzących w cykl pracy doktorskiej Pani mgr Jadwiga Musiał udowodniła dobre przygotowanie analityczne oraz w zakresie przetwarzania i interpretacji danych. Wykazała się umiejętnością racjonalnej, systematycznej realizacji założonych prac eksperymentalnych oraz sprawnością podczas przygotowania wyników badań do ich bezpośredniego opublikowania w piśmiennictwie specjalistycznym.

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

- 1) Oznaczano ponad 500 przeróżnych substancji psychoaktywnych, leków i ich metabolitów izolowanych z próbek krwi, moczu i włosów. W jaki sposób gromadzono tak dużą liczbę standardów, czy była do tego celu opracowana jakaś specjalna baza danych, jak technicznie radzono sobie z, zakładam, że bardzo różnymi, dostępnymi ilościami substancji, ile czasu i środków poświęcono, aby utrzymać taką kolekcję próbek substancji?
- 2) Wykaz skrótów jest także bardzo imponujący. Ale czy nazwy są z założenia po polsku czy po angielsku, nie mam co do tej spójności pełnej jasności?

- 3) W tekście rozprawy na str. 29 napisano, że: „W kolejnym etapie podjęto próby opracowania klasycznej metody ekstrakcji – LLE, co daje możliwość wyizolowania analitów w jednym toku analitycznym, co znacznie zmniejsza koszty przygotowania próbki. Umożliwia analizę znacznie większej liczby próbek w ciągu doby, a także zmniejsza potrzebną ilość materiału biologicznego do badań.”. Czy jest możliwym oszacowanie o ile zmniejszyły się koszty przygotowania próbek, ile więcej próbek można przeanalizować w ciągu doby i jak dużo mniej potrzeba materiału biologicznego do badań w porównaniu do ekstrakcji z użyciem SPE?
- 4) W tekście rozprawy także na str. 29 napisano, że: „W każdej serii analiz badano dwie próbki z dodatkiem badanych analitów o stężeniach 2 i 10 ng/ml...”. W jaki sposób dowiedziono, że takie akurat stężenia analitów są optymalne z praktycznego punktu widzenia?
- 5) W tekście rozprawy na str. 36 napisano, że: „Pierwszym etapem prac był dobór parametrów spektrometru mas dla każdego z analitów, w celu uzyskania możliwie najwyższej czułości dla identyfikowanych związków.” Ile czasu zabrało to zadanie badawcze biorąc pod uwagę tak znaczącą liczbę analitów?
- 6) W tekście rozprawy na str. 39 napisano, że: „Opracowaną metodę analizy próbek moczu wykorzystano podczas badań próbek pochodzących od kierowców. Badaniu poddano 70 próbek, jedynie w 18 z nich nie stwierdzono żadnego z analitów zawartych w opracowanej metodzie. W 21 próbkach wykryto paracetamol, który był najczęściej wykrywanym z analitów. Amfetamina została wykryta w 20 próbkach, GHB w 11 próbkach natomiast THCCOOH w 8. Natomiast w przypadku metamfetaminy i morfiny było to po 7 próbek, katyny, kodeiny i lidokainy po 5 próbek. Szczegółowe wyniki przeprowadzonych analiz przedstawiono w Tabeli 2.”
Bardzo ciekawe wyniki. Czy jest wiedza, jakie jest pochodzenie np. lidokainy (jako leku?) i katyny (jako bezpośredniej substancji psychoaktywnej?) w analizowanych próbkach?

Podsumowując, zbiór publikacji przedstawiony przez Panią mgr Jadwigę Musiał posiada wyraźne elementy nowości naukowej w zakresie nowoczesnej analityki, toksykologii i chemii analitycznej. Praca doktorska swoją tematyką i zakresem materiału badawczego zasługuje na uwagę. Została ona dobrze zaprojektowana i wykonana, odzwierciedlając przy tym duży wkład pracy eksperymentalnej podczas opracowania danych pomiarowych. Biorąc powyższe pod uwagę, nie mam wątpliwości, że spełnione są wymogi formalne, aby Rada Dyscypliny

Nauki Chemiczne Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu mogła podjąć uchwałę o dopuszczeniu Pani mgr Jadwigi Musiał do ostatniego etapu postępowania kwalifikacyjnego, czyli publicznej obrony.

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


Kierownik